

Libro de actas



Ingeniando la medicina del futuro

**CASEIB
2015
XXXIII**

Congreso Anual
de la Sociedad
Española de
Ingeniería
Biomédica



Madrid 4, 5 y 6 noviembre 2015



CASEIB
2 0 1 5
XXXIII

Congreso Anual
de la Sociedad
Española de
Ingeniería
Biomédica

LIBRO DE ACTAS



ETSIT



Madrid, 4, 5 y 6 de noviembre de 2015

Editores:

Gema García Sáez

Enrique J. Gómez Aguilera

M. Elena Hernando Pérez

Patricia Sánchez González

Diseño portada:

Goyo Guerrero

Título:

Libro de Actas del XXXIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería
Biomédica

Edita:

Comité Organizador del XXXIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería
Biomédica

ISBN: 978-84-608-3354-3

PREÁMBULO

Estimados participantes en CASEIB2015,

Es un honor para mí darles la bienvenida al XXXIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB2015) que se celebra los días 4, 5 y 6 de noviembre en la Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Telecomunicación de la Universidad Politécnica de Madrid (UPM), bajo el lema “Ingeniando la medicina del futuro”.

CASEIB2015 vuelve a ser el foro de referencia en España para el intercambio científico de conocimiento, experiencias y promoción de la I+D+i en Ingeniería Biomédica (IB). Un punto de encuentro de científicos, profesionales de la industria, ingenieros biomédicos y profesionales clínicos interesados en conocer, analizar y debatir el contexto actual de la investigación, la educación y la industria en esta disciplina.

Los trabajos recibidos son todos ellos de un alto nivel científico y se han organizado en sesiones temáticas de áreas relevantes de la IB, como son las Señales Biomédicas, Imágenes Médicas, Telemedicina, Bionstrumentación, Biomateriales, Simulación y Planificación Quirúrgica, Sistemas de ayuda a la decisión, Ingeniería de Neurorrehabilitación y Sistemas de Información Clínica.

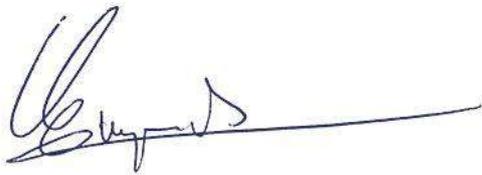
El congreso incluye dos ponencias invitadas de científicos reconocidos internacionalmente que abordan dos grandes retos científico-tecnológicos. La primera conferencia del Dr. Álvaro Pascual Leone de la Universidad de Harvard se centra en la estimulación cerebral no invasiva para la modulación de la plasticidad cerebral y el desarrollo de nuevos tratamientos en neuropsiquiatría. La segunda conferencia impartida por el Dr. Roman Hovorka de la Universidad de Cambridge presenta los últimos avances en el control metabólico de personas con diabetes mediante un páncreas artificial ambulatorio.

Las sesiones científicas se ven complementadas con dos mesas redondas que esperamos sean de gran interés para todos los asistentes. En la primera de ellas contamos con la participación de dos responsables de programas de financiación pública de la investigación en IB en el marco nacional y europeo. La segunda mesa redonda reúne a expertos profesionales de la industria de la tecnología médica que aportarán su visión sobre el papel de la Ingeniería Biomédica en el futuro de la medicina.

Más de 200 investigadores y profesionales participan en el congreso, provenientes de los grupos de investigación principales de IB en España y algunos grupos internacionales. Un hecho singular de esta edición de CASEIB es la alta participación de alumnos de IB de las nuevas titulaciones de Grado en Ingeniería Biomédica que

actualmente se imparten en el territorio español, así como de los másteres existentes en esta disciplina.

La ETSI de Telecomunicación de la UPM, con gran tradición en la formación y la investigación en IB, nos abre sus puertas y nos ofrece un marco idóneo para la compartición y creación de nuevo conocimiento científico y tecnológico en nuestra querida disciplina. Confiamos que los dos actos sociales contribuirán sin duda al éxito del congreso desde un contexto cultural y musical, enriquecido con la afectuosa acogida que la ciudad de Madrid siempre brinda a sus visitantes.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Enrique J. Gómez Aguilera', with a long horizontal line extending to the right.

Enrique J. Gómez Aguilera

Presidente de CASEIB2015 y Secretario General de la SEIB

ORGANIZACIÓN DEL CONGRESO

Presidente del Congreso

Enrique J. Gómez Aguilera

Presidente del Comité Científico

Raimon Jané Campos

COMITÉ ORGANIZADOR

Secretaria

M. Elena Hernando Pérez

Presidenta Comité Técnico

Patricia Sánchez González

Vocales

César Cáceres Taladriz

Pedro Moreno Sánchez

Paloma Chausa Fernández

Ignacio Oropesa García

Gema García Sáez

Julio Ignacio Piquero Cabañero

Álvaro Gutiérrez Martín

Borja Rodríguez Vila

José Manuel Iniesta Chamorro

Javier Solana Sánchez

Alumnos colaboradores

Sandra Escalona

Juana González

José Tapia

Rocío Espejo

Clara Madrigal

Elia Vallejo

Coral García

Andrea Sancho

Blanca Zufiria

COMITÉ CIENTÍFICO

Presidente

Raimon Jané Campos
Universidad Politécnica de Catalunya

Secretaria

Patricia Sánchez González
Universidad Politécnica de Madrid

Vocales

Begoña Acha Piñero
Universidad de Sevilla

Roberto Hornero Sánchez
Universidad de Valladolid

Mariano Alcañiz Raya
Universidad Politécnica de Valencia

Pablo Laguna Lasaoa
Universidad de Zaragoza

Sergio Arana Alonso
CEIT-TECNUN San Sebastián

M^a Jesús Ledesma Carbayo
Universidad Politécnica de Madrid

César Cáceres Taladriz
Universidad Rey Juan Carlos de Madrid

Julio Mayol Martínez
Hospital Clínico San Carlos de Madrid

Pere Caminal Magrans
Universidad Politécnica de Catalunya

Ceferino Maestu Unturbe
Universidad Politécnica de Madrid

Francisco del Pozo Guerrero
Universidad Politécnica de Madrid

Ramón Martínez Mañez
CIBER-BBN

Manuel Desco Menéndez
Universidad Carlos III de Madrid

José Millet Roig
Universidad Politécnica de Valencia

Javier García-Casado
Universidad Politécnica de Valencia

Carlos Montserrat Aranda
Universidad Politécnica de Valencia

Beatriz F. Giraldo Giraldo
Universidad Politécnica de Catalunya

José Luis Monteagudo Peña
Instituto de Salud Carlos III de Madrid

Enrique J. Gómez Aguilera
Universidad Politécnica de Madrid

Maite Mújika Garmendia
CEIT-TECNUN San Sebastián

Juan F. Guerrero Martínez
Universidad de Valencia

José Luis Pons Rovira
GBIO-CSIC

Carlos Hernández Salvador
Instituto de Salud Carlos III de Madrid

Jesús Poza Crespo
Universidad de Valladolid

M. Elena Hernando Pérez
Universidad Politécnica de Madrid

Javier Reina Tosina
Universidad de Sevilla

José Joaquín Rieta Ibáñez
Universidad Politécnica de Valencia

Laura M. Roa Romero
Universidad de Sevilla

Montserrat Robles Viejo
Universidad Politécnica de Valencia

Joaquín Roca Dorda
Universidad Politécnica de Cartagena

Isabel Román Martínez
Universidad de Sevilla

Francisco Javier Rosell Ferrer
Universidad Politécnica de Catalunya

Francisco Javier Saiz Rodríguez
Universidad Politécnica de Valencia

Josep Samitier Martí
Universidad Politécnica de Catalunya

Daniel Sánchez Morillo
Universidad de Cádiz

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

Andrés Santos Lleó
Universidad Politécnica de Madrid

Carmen Serrano Gotarredonda
Universidad de Sevilla

José María Tormos Muñoz
Institut Guttmann Badalona

Montserrat Vallverdu Ferrer
Universidad Politécnica de Catalunya

Juan José Vaquero
Universidad Carlos III de Madrid

ORGANIZADORES

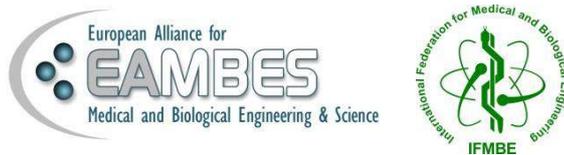
Grupo de Bioingeniería y Telemedicina
Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Telecomunicación
Universidad Politécnica de Madrid

Sociedad Española de Ingeniería Biomédica



SOCIEDADES INTERNACIONALES QUE AUSPICIAN EL CONGRESO

European Alliance for Medical and Biological Engineering & Science
International Federation for Medical and Biological Engineering



PATROCINADORES



COLABORADORES



ÍNDICE DE SESIONES CIENTÍFICAS

Miércoles 4 de Noviembre de 2015

Sesión X1: Imágenes Médicas 1

Multiresolution Reconstruction of Real-Time MRI with Motion Compensated Compressed Sensing. Application to Free-Breathing Cardiac MRI.....	2
Tissue and Label Modelling for Segmentation of Scar with Contour Correction in Cardiac DE-CMR Volumes.....	6
Cardiac Strain Assessment for Fibrotic Myocardial Tissue Detection in Left Ventricular Hypertrophic Cardiomyopathy.....	10
Detección y Clasificación de Tejidos Anómalos en Mamografías Digitales Mediante Redes Neuronales Convolucionales.....	14
Análisis de imágenes de resonancia magnética de difusión en próstata empleando los métodos de resolución multivariante de curvas.....	18
Segmentación de músculos mediante el uso de histogramas y maximización de flujo.....	22

Sesión X2: Señales Biomédicas 1

Caracterización de la actividad neuronal en enfermos de Alzheimer tras su participación en el programa de estimulación “Un, Dos, Tres... A recordar esta vez”	27
Caracterización de pacientes isquémicos y dilatados a partir de las señales ECG y de presión sanguínea.....	31
Predicción Preoperatoria a Largo Plazo del Éxito de la Ablación de Fibrilación Auricular Mediante Análisis Espectral del ECG.....	35
Detección Automática de las Ondas de Activación en Electrogramas de Fibrilación Auricular Mediante Transformada Wavelet Particularizada.....	39
Verificación sobre la Fidelidad de los Mapas de Fase para Representar Actividad Eléctrica en Fibrilación Auricular.....	43
Potenciales Evocados Auditivos en el Síndrome de Dravet. Otra aplicación de los potenciales evocados auditivos generados por tonos modulados en amplitud mediante chirps.....	47

Sesión X3: Simulación y Planificación Quirúrgica

Planificación de cirugía láser endoscópica para el tratamiento optimizado de tumores de colon.....	51
Evaluación de la carga de trabajo y la calidad quirúrgica en el uso de un novedoso instrumental robotizado en sutura laparoscópica intracorpórea.....	55
Endoscope tracking algorithm for minimally invasive surgeries.....	59
Diseño e implementación de un juego serio 3D para el entrenamiento del control del Bypass Cardiopulmonar.....	63

Diseño y desarrollo de modelos deformables personalizados para la planificación de intervenciones de cateterismo aórtico.....	67
Free-hand 3D reconstruction and tumor segmentation of Laparoscopic Ultrasounds for pancreatic MIS interventions.....	71

Sesión X4: Sistemas de Ayuda a la Decisión

Diseño y desarrollo de un módulo de informes para la ayuda a la toma de decisión en pacientes con Daño Cerebral Adquirido.....	76
Determinación del estado metabólico de pacientes con diabetes gestacional mediante autómatas finitos.....	80
Automatic Classification of Noonan and Cornelia de Lange Syndrome Patients Using Facial Keypoints.....	84
Evaluación de un protocolo de screening de apnea del sueño basado en el análisis automático de la oximetría no supervisada.....	88
Detección y clasificación de microcalcificaciones mediante redes neuronales convolucionales.....	92
Detección de tasa cardiaca en vídeo para un sistema biométrico de reconocimiento facial.....	96

Sesión X5: Telemedicina

Infraestructura de comunicaciones para la diseminación de información y alarmas en escenarios de monitorización de pacientes diabéticos.....	101
PERSSILAA platform: ICT architecture and semantic interoperability for older adults frailty prevention.....	105
Auditoría y mejoras en la seguridad de la aplicación Hospital VIHrtual: plataforma web responsive de telemedicina para el seguimiento de pacientes con VIH.....	109
Virtual Carer: Sistema de soporte adaptado a cuidadores informales de personas mayores.....	113
HAZLO: Plataforma de telesalud basada en tecnologías mhealth para el despliegue de programas personalizados de rehabilitación cardiaca Fase II.....	117
PREDIRCAM 2. Plataforma Tecnológica para la Prevención de la Diabetes Tipo 2 y el Riesgo CardioMetabólico.....	121

Sesión J1: Imágenes Médicas 2

Filtro temporal para optimizar la cuantificación de parámetros farmacocinéticos en estudios de perfusión sanguínea por resonancia magnética.....	126
Desarrollo de un sistema de escaneado 3D a partir de un dispositivo de holografía conoscópica.....	130
Setting up a C-arm for its use as a tomograph.....	134
Escala cuantitativa de radiodensidades y distancias aplicable a la artroplastia de rodilla y de cadera	138
Detección automática de landmarks para evaluación objetiva de la reconstrucción mamaria post-mastectomía.....	142
Continuous convex relaxation methodology applied to retroperitoneal tumors.....	146
Módulo de clasificación de estructuras anatómicas del cerebro basado en el análisis multiparamétrico de imágenes de resonancia magnética de la herramienta Cognivis.....	150
Sistema de digitalización de imágenes de microscopía mediante teléfono móvil para el telediagnóstico de tuberculosis.....	154

Sesión J2: Señales Biomédicas 2

Mecanismo de inicio de la fibrilación ventricular debido a alternancias cardíacas.....	159
Filtro de atenuación optimizada para la mejora de calidad en registros mfVEP.....	163
Caracterización de la Dinámica en la Eficiencia de la Red Neuronal en Esquizofrenia en Tarea Cognitiva Auditiva.....	167
Brain activity changes induced by open and closed eyes during low-g maneuvers.....	171
Comparing EEG background activity of epileptic patients and control subjects using spectral entropy and permutation-based statistical testing.....	175
Análisis de sonidos adventicios continuos en pacientes asmáticos mediante el espectro de Hilbert.....	179
Evaluation of sternocleidomastoid muscle activity by electromyography recorded with concentric ring electrodes.....	183
El Comienzo de la Fibrilación Auricular Paroxística es Predecible Estudiando la Variabilidad Temporal de la Onda P.....	187

Sesión J3: Ingeniería de Rehabilitación

<i>Mirall</i> , un ejemplo del uso de cuaterniones en el desarrollo de videojuegos serios de tele-rehabilitación.....	192
Contenidos Virtuales para Neurorehabilitación Funcional de la Extremidad Superior.....	196
Diseño y desarrollo de un sistema de evaluación de déficits atencionales en pacientes con DCA mediante técnicas de eye-tracking.....	200
PsychoLAB: A Psychophysics experimental setup to measure electrode discrimination in Nucleus (c) cochlear implant recipients.....	204
Valoración del control motor de la extremidad superior de sujetos con DCA basada en la automatización del test Fugl-Meyer en Neurorehabilitación funcional.....	208
Estudio de validación preclínica de un entorno de rehabilitación cognitiva basado en vídeo interactivo y eye-tracking.....	212

Sesión J4: Informática Biomédica y Sistemas de Información Clínica

Biomedical Multi-Scale Viewer (BiMS Viewer): visualizador interactivo de datos biomédicos.....	217
Un nuevo lenguaje de marcado para la visualización práctica de la información clínica normalizada.....	221
Definición de subconjuntos en SNOMED CT.....	224
Sistema de trazabilidad para embriones criopreservados (STEC): Pruebas preliminares de validación.....	228
Validación de un dispositivo móvil para el control de recursos y evaluación de la calidad asistencial a personas dependientes.....	232
Utilización de XML Schemas para el diseño de medicamentos individualizados en dermatología.....	236

Sesión J5: Competición alumnos GIB

Robotic development for blind people.....	241
Determining the Tertiary Structure of an Olfactory Receptor.....	245
Effects of Cell Culture Flexible Substrate on Cardiomyocytes.....	249
Characterization of the effect of a biopolymer in wound healing.....	253
Diseño e implementación de un sistema de medida del movimiento respiratorio para pacientes de otorrinolaringología.....	257
Diseño e implementación de un sistema automatizado para la detección de endotoxinas in situ.....	261
Medidas Lineales y No Lineales para la Detección de Somnolencia Diurna a partir de la Variabilidad del Ritmo Cardíaco.....	265

Estudio de la actividad cortical espontánea en ratones transgénicos con Alzheimer.....	269
Plasmid expression in stressed bacteria.....	273
Human Gait Characterization Using Kinect	277
Changes in the white matter of the cerebello-thalamo-cortical network in essential tremor.....	281
Cuantificación de enfisema pulmonar a partir de imágenes de TAC para la determinación de calcio coronario.....	285
Multi-scale mathematical model for GBM growth considering oxygen distribution and phenotype switching.....	289
Effect of in vitro mechanical stimulation on cardiac gene expression.....	293
MYOINO: click based on muscle contractions for people with Cerebral Palsy.....	297
Motion Range of the elbow flexo-extension using inertial technology and computer-based estimation.....	301

Sesión V1: Modelado

The Effect of Reference Electrode Position in Cochlear Implants	306
Simulación computacional del flujo de orina en un uréter con stent mediante Interacción Fluido-Estructura.....	310
Plasticidad en la Expresión Genética de la Función Cardíaca y su Regulación Nerviosa Inducida por el Entrenamiento en Atletas de Ultra-Trail.....	314
Autómata celular para el estudio de la propagación de la bacteria Escherichia Coli O25:H4-ST131 productor de BLEE en residencias de mayores	318
Towards a microfluidic nephron-on-chip for personalized illness evolution studies	322
Modelado predictivo de la estimulación neuronal óptica sobre redes neuronales en procesos neurodegenerativos	326

Sesión V2: Bioinstrumentación y Biomateriales

Regeneración ósea en fémur de conejo mediante el implante de una matriz bioactiva basada en recombinámeros de tipo elastina (ELRs)	331
Estudio computacional y validación experimental de la difusión del paclitaxel en arterias.....	334
Wireless Compact system with multi-ring Concentric Electrode for Clinically Friendly EHG Recording.....	338
Mimicking spleen's red pulp complex hydrodynamic behavior on-chip.....	342
The influence of assist gas type in fiber laser cutting of F562 35N LT cobalt-chromium alloy for coronary stents.....	345
Análisis de la precisión del medidor de diuresis automático FOM-200™	349

Sesión V3: Miscelánea

Simulador para el entrenamiento y la evaluación del conocimiento sobre la sintomatología, diagnóstico y tratamiento del asma	354
Dispositivos de Control Físicos para la Interacción con Contenidos Virtuales para Neurorrehabilitación Funcional de la Extremidad Superior.....	358
Electrospinning PCL nanofibers with ceramic nanoparticles for wound dressing.....	362
Implementación del estándar HL7 FHIR en un sistema de monitorización de oxígeno de bajo coste.....	366
Simulación y desarrollo de una plataforma microfluídica para estudios celulares dinámicos in vitro.....	370
Clasificación de fibrilación auricular mediante variaciones de fase de diferentes transformadas tiempo-frecuencia.....	374

ÍNDICE DE POSTERS

Sesión Posters 1

Inducción de la re-celularización con tejido endotelial de un vaso sanguíneo a partir de su matriz extracelular, utilizando células madre de médula ósea diferenciadas in vitro.....	379
Distribución geográfica y temática de la enseñanza de la Ingeniería Biomédica en España.....	383
Diagnóstico de patologías neurodegenerativas mediante procesado de imágenes de Resonancia Magnética: aplicación a la enfermedad de Alzheimer.....	387
Propuesta para caracterizar la resistencia de las articulaciones sometidas a tracción mediante modelo animal.....	391
Evaluation of attenuation correction in a small animal PET-CT scanner.....	394
Efectos de la configuración del electrodo multianular en registros del EEnG.....	398
Desarrollo y validación de un sistema de caracterización electrofisiológica cardiaca mediante mapeo óptico en un modelo de corazón aislado porcino.....	402
Localización de fuentes fibrilatorias mediante sistemas reducidos de cartografía eléctrica de superficie durante fibrilación auricular.....	406
Estudio comparativo de Núcleo Accumbens e Hipotálamo Lateral como Dianas de Estimulación Cerebral Profunda en el Tratamiento de la Obesidad.....	410
Optimización del protocolo de calibración para sistemas de posicionamiento ópticos multicámara.....	414
Herramientas de modelado para Bioingeniería, casos de estudio: a) Antena de relajometría por Resonancia Magnética, b) Bobina generadora de gradientes magnéticos.....	418
Diseño de un regulador no lineal por bloques para el sistema glucosa-insulina utilizando redes neuronales de alto orden.....	422
Rastreo de glaucoma basado en detección guiada por imágenes, análisis automático de imágenes y telemedicina.....	426

Sesión Posters 2

Controlling virtual scenarios for minimally invasive surgery training using the EVA Tracking System.....	431
Estudio de Evaluación de un entorno de rehabilitación cognitiva basado en tecnologías de vídeo interactivo y eye-tracking.....	435
Serious game for psychomotor skills training in minimally invasive surgery: Kheiron Training System.....	439
Efectos de la estimulación cerebral profunda en closed-loop.....	443

Herramienta de Aprendizaje sobre Pruebas de Respiración Espontánea en Pacientes Intoxicados con Compuestos Organofosforados.....	447
Diseño preliminar de una plataforma experimental basada en neuroestimulación para el análisis de la interacción cortico-muscular para rehabilitación de miembro inferior.....	451
CareCloud: Servicio de formación y coordinación de cuidadores informales de personas en situación de dependencia por una discapacidad de origen neurológico.....	455
Estudio de nuevos indicadores basados en el Vectocardiograma como marcadores diagnósticos en Cardiomiopatía Arritmogénica.....	459
Effects of Cell Culture Flexible Substrate on Cardiomyocytes.....	463
Multichannel quadrature coherent demodulator for a portable time-domain OCT device.....	467

Sesión Posters 3

Incorporación de tablets y smartphones en la adquisición de destrezas psicomotoras en cirugía de mínima invasión. Validación preliminar.....	472
Molecular Wires for the Improvement of DNA Electrochemical Sensors.....	476
Propuesta y validación de un transmisor IBC basado en acoplamiento galvánico para el análisis del canal corporal.....	480
Avances en el diagnóstico de la discapacidad auditiva: Técnica de la Audiometría por Microfónicos Cocleares.....	484
User requirements of online training course on ergonomics for spine minimally invasive surgery.....	487
Validación preliminar del módulo online del curso de formación en laparoscopia para enfermería.....	491
High Resolution 3D Microscopy of Developmental Neurogenesis in Chick Embryo Models.....	495
Localización de lesiones de mama en posición quirúrgica utilizando deformación laplaciana de mallas poligonales.....	499
Visual feedback facilitates intermanual transfer of the motor control of the dominant arm towards the nondominant arm.....	503

Imágenes Médicas 1

Miércoles 4 de Noviembre

Multiresolution Reconstruction of Real-Time MRI with Motion Compensated Compressed Sensing: Application to 2D Free-Breathing Cardiac MRI

J. Royuela-del-Val¹, M. Usman², L. Cordero-Grande², M. Martín-Fernández¹, F. Simmross-Wattenberg¹, C. Prieto² and C. Alberola-López²

¹ Laboratorio de Procesado de Imagen, Universidad de Valladolid, Valladolid, Spain, {jroyval, marcma, fedsim, caralb}@lpi.tel.uva.es

² Division of Imaging Sciences and Biomedical Engineering, King's College London, London, United Kingdom. {muhammad.usman, lucilio.cordero_grande, claudia.prieto}@kcl.ac.uk

Abstract

Real-Time (RT) MRI is a novel noninvasive imaging technique that allows the visualization of physiological processes with both good spatial and temporal resolutions. However, the reconstruction of images from highly undersampled data, needed to perform RT imaging, remains challenging. Recently, the combination of Compressed Sensing theory with motion compensation techniques has shown to achieve better results than previous methods. In this paper we describe a RT MRI algorithm based on the acquisition of the k -space data following a Golden Radial trajectory, Compressed Sensing reconstruction and a groupwise temporal registration algorithm for the estimation and compensation of the motion in the image, all this embedded within a temporal multiresolution scheme. We have applied the proposed method to the reconstruction of free-breathing acquisition of short axis views of a heart, achieving a temporal resolution of 25ms corresponding to an acceleration factor of 28.

1. Introduction

Real-Time MRI is basically limited by the short time available for data acquisition at the spatial and temporal resolutions required. MRI acceleration methods rely on the acquisition of less data and the redundancy naturally present in real images and the combination of data acquired by multiple coils (parallel imaging) is exploited to carry out the reconstruction [1]. Moreover, the development of the Compressed Sensing (CS) theory [2] has shown that when an image has a sparse representation in a certain domain, then it can be recovered from a small number of incoherent measurements, pushing forward the achievable acceleration factors.

However, moving parts of the image in dynamic sequences lead to abrupt intensity changes through time that reduce the sparsity of the signal in the transformed temporal domain [3]–[5]. Recently, motion estimation (ME) and motion compensation (MC) techniques have been successfully applied to dynamic MRI based on the assumption that, if the motion of the elements in an image can be described with fewer parameters than the intensity changes derived from that motion, the sparsity is expected to increase if these techniques are employed [5], [6]. The effect of MC in a dynamic image is illustrated in Figure 1.

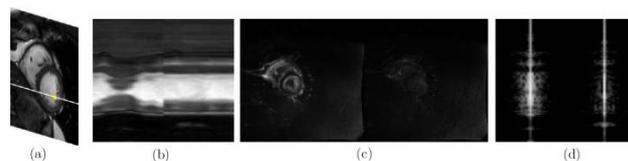


Figure 1. Group Wise Motion Estimation/Motion Compensation (GW ME/MC) on a short axis view of the heart. (a) initial frame of the sequence. (b) temporal evolution of one slice in (a) before (left) and after (right) MC. (c) Temporal Total Variation of the original and MC sequences. The remaining motion in the MC image is considerably reduced. (d) Absolute value of the temporal Fourier transform of the data in (b). After MC (right), most of the significant Fourier coefficients are concentrated along the DC line.

When applied to dynamic MRI reconstruction, ME and MC techniques lack the true dynamic image to estimate the motion information from. A common approach is to perform the ME step on an initial reconstruction of the images themselves which, however, may be corrupted by the undersampling artifacts that the initial reconstruction procedure could not correct. These artifacts hinder the estimation of the true motion present in the image to be reconstructed. Traditional ME/MC techniques consist in the registration of pairs of frames, either a moving and a reference frame [4], or pairs of consecutive frames [3]. Therefore, only information from two frames will be available to the ME/MC algorithm at each step, making it more sensitive to artifacts and noise in the image. In this work we resort to a previously proposed temporal groupwise (GW) registration procedure [7] for ME/MC which has shown to be more robust to artifacts than its pairwise counterparts and introduce a multiresolution approach in which finer temporal resolution reconstructions are obtained iteratively from coarser ones. In addition, the multiresolution scheme iteratively obtains both MEs and initial reconstructions from coarser to finer temporal resolutions, avoiding the need of estimating the motion directly from highly undersampled data and providing good initializations for the finer temporal resolution levels, what reduces the risk of convergence to a local minima.

To enable the application of a multi-resolution scheme, data is continuously acquired following radial trajectories

in the k-space in which the angular step between consecutive profiles is given by the Golden Ratio, according to [8]. This acquisition strategy allows us to retrospectively set up an arbitrary window length (i.e., temporal resolution) to select the data corresponding to each reconstructed frame.

2. Material and methods

2.1. Motion Compensated Compressed Sensing

The reconstruction of accelerated MRI data can be generally formulated as a common inversion problem

$$\mathbf{y} = \mathbf{E}\mathbf{m}$$

where \mathbf{y} stands for the acquired multi-coil k-t space data, \mathbf{m} represents the sequence of images to be reconstructed and the encoding operator \mathbf{E} comprises the multiplication by the coils sensitivity maps and the frame-by-frame undersampled spatial Fourier transform. Under the MC-CS framework, the reconstruction problem results [6]:

$$\min_{\mathbf{m}} \left\{ \frac{1}{2} \|\mathbf{y} - \mathbf{E}\mathbf{m}\|_2^2 + \lambda \|\Psi \mathcal{J}_{\theta} \mathbf{m}\|_1 \right\} \quad (1)$$

with Ψ a spatio-temporal sparsifying transform and λ a trade off parameter between fidelity to sampled data and sparsity promotion. \mathcal{J}_{θ} is a warping operator governed by the set of parameters θ comprised by the transformation and it is designed to compensate the motion in the image. Solving Eq. (1) involves a high computational cost [9]. To this end, we resort to the NESTA algorithm which has been applied successfully to related optimization problems [3], [7], [10].

2.2. Groupwise temporal registration for MC in Real-Time MRI

A key component of the ME/MC method is the usage of a GW dissimilarity metric that provides a unique global measure of the differences between the images that form the sequence. In the current implementation, a simple sum of squared differences metric (SSD) [11] is used. The registration procedure is then equivalent to the following optimization problem:

$$\min_{\theta} \left\{ \frac{1}{2} \|\mathcal{J}_{\theta} \mathbf{m} - \overline{\mathcal{J}_{\theta} \mathbf{m}}\|_2^2 + C(\mathcal{J}_{\theta}) \right\} \quad (2)$$

where $\overline{\mathcal{J}_{\theta} \mathbf{m}}$ stands for the temporal average of the registered sequence. $C(\mathcal{J}_{\theta})$ is a common regularization term based on a bending energy [12] extended also along the temporal dimension. As it can be seen in the formula, there is no need for a reference frame. The SSD relies on the assumption that the intensity of each pixel is conserved along time. Other metrics can be easily incorporated for different imaging modalities [13].

There is also a need for a deformation model. The GW registration algorithm applied for the ME/MC is based on a non-rigid 2D+t free form deformation (FFD) with cubic B-splines, which has been widely used in practice and has shown to be flexible enough to describe the motion and deformation of anatomical structures [12].

We have solved Eq. (3) by means of a nonlinear conjugate gradient algorithm with backtracking line search [14].

2.3. Multi-resolution reconstruction of Real-Time MR

As discussed in the introduction, a major difficulty is to achieve both good initial reconstructions and motion estimations from highly undersampled data. To this end, we propose a multi-resolution scheme in which coarser reconstructions serve as initialization of the finer ones. An initial, low temporal resolution sequence is obtained by a regular CS reconstruction equivalent to solving Eq. (1) with \mathcal{J}_{θ} set to the identity and Ψ a spatial wavelet transform. From the sequence obtained, motion is estimated with the GW registration algorithm. This way, a continuous 2D+t deformation field is obtained that transforms each of the frames to a common reference frame.

In order to provide a good initialization to the next resolution level, frames could be interpolated in a regular way by a weighted average of the surrounding available frames. However, at temporal instants with high inter-frame motion such straightforward interpolation can lead to corrupted images. To improve the quality of the interpolation, we make use of the motion information in the estimated deformation. Following the approach in [10], let $\mathbf{T}_{\theta}(\mathbf{x}, t)$ be the spatial transform, given by \mathcal{J}_{θ} , that maps the frame at time instant t to the common reference frame. For each new frame to be interpolated at instant t_j , we obtain the transformation $\mathbf{T}_{\theta}^{ij}(\mathbf{x})$ which aligns a (moving) frame at instant t_i to the frame at instant t_j (fixed image). This transform will be given by

$$\mathbf{T}_{\theta}^{ij}(\mathbf{x}) = \mathbf{T}_{\theta}(\mathbf{T}_{\theta}^{-1}(\mathbf{x}, t_j), t_i) \quad (3)$$

Therefore, to obtain $\mathbf{T}_{\theta}^{ij}(\mathbf{x})$ we need the inverse map $\mathbf{T}_{\theta}^{-1}(\mathbf{x}, t_j)$, which will exist only if $\mathbf{T}_{\theta}(\mathbf{x}, t_j)$ is invertible. Several extensions of the originally described B-splines registration method have been proposed to guarantee such a condition [15]. In our current implementation, the spatio-temporal regularization term and proper spacing on the grid of control points favor the condition. The inverse transform $\mathbf{T}_{\theta}^{-1}(\mathbf{x}, t)$ is therefore found numerically [11] for each t . The better quality of the proposed approach can be observed in Figure 2. The complete reconstruction scheme is illustrated in Figure 3.

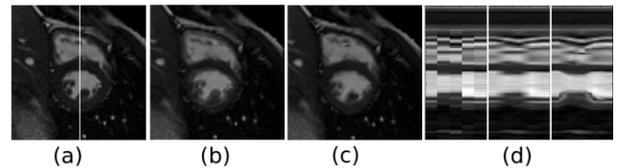


Figure 2. Sample frames of an original, low temporal resolution CINE sequence (a) and intermediate frames obtained by regular linear interpolation (b) and ME based interpolation (c). Doubled edges appear in (b), while are not present in (c). In (d), from left to right, temporal profiles corresponding to (a-c).

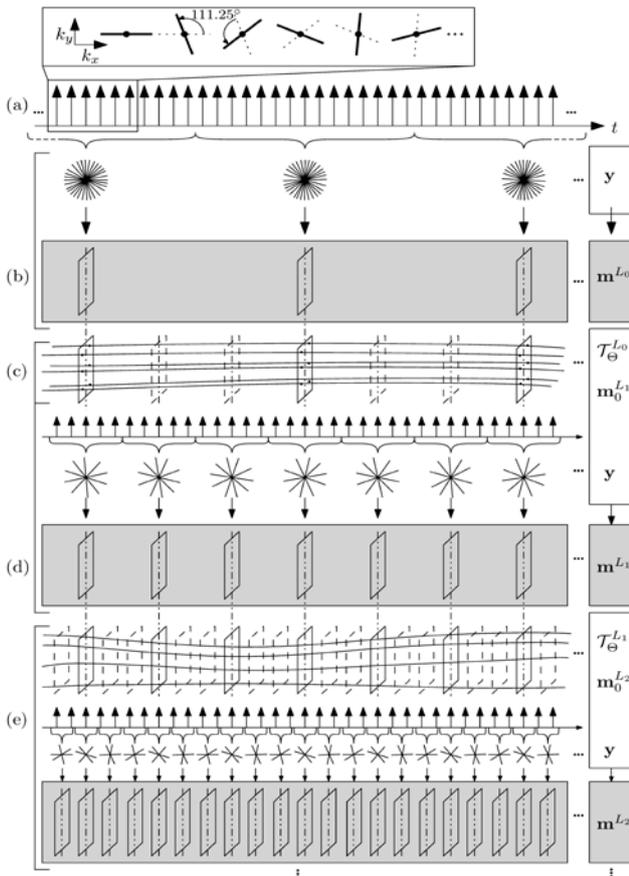


Figure 3. Diagram of the proposed temporal multi-resolution scheme. (a) Data is continuously and radially acquired with an angular step given by the golden ratio. (b) An initial, low temporal resolution reconstruction —resolution level L_0 — is obtained by solving Eq. (1) with \mathcal{T}_θ set to the identity. (c) Motion at the current resolution level is estimated by solving Eq. (3). The resulting operator, $\mathcal{T}_\theta^{L_0}$, is used to obtain the mapping transform given by the Eq. (3). Intermediate frames are interpolated to provide an initial reconstruction to the next resolution level, L_1 . (d) A MC-CS reconstruction is performed at resolution level L_1 by solving Eq. (1) with $\mathcal{T}_\theta = \mathcal{T}_\theta^{L_0}$ and with the initial guess $m_0^{L_1}$. (e) Steps (c) and (d) are repeated until the desired level of temporal resolution is reached.

2.4. Application to free breathing, Real-Time Cardiac MRI.

One healthy volunteer was scanned with a 32-element cardiac coil and a golden radial trajectory on a 1.5T Philips scanner. Other relevant scan parameters include: b-SSFP sequence, $TR/TE/\alpha = 2.9\text{ms}/1.44\text{ms}/60^\circ$, $FOV = 320 \times 320\text{mm}^2$, spatial resolution = $2 \times 2\text{mm}^2$, slice thickness = 8mm. Data from a single slice was continuously acquired for about 12 seconds.

Data was reconstructed following the scheme in Figure 3 with 81, 27 and 9 radial spokes of the k-space per frame, leading to temporal resolutions of 235, 78 and 26 ms and undersampling factors of 3, 9 and 28 with respect to fully sampled radial acquisitions, respectively. In order to test the effect of the proposed multiresolution scheme, data was also reconstructed by performing three iterations of the reconstruction algorithm (that is, reconstruction by solving Eq. (1) followed by the registration step in Eq. (3)) for the last resolution level.

Reconstructions were performed offline on a computing server with two Intel Xeon E5-2695 v3 CPU's @ 2.30 GHz and 64 GB of RAM using in-house software written in MATLAB (R2015a, The MathWorks, Natick, MA).

3. Results and Discussion

In Figure 4 the convergence behavior of the proposed scheme is analyzed. Plots of the cost function in Eq. (1) against time are provided for each resolution level, including the periods of time of the ME steps. At the coarser resolution level, only 19 frames are reconstructed, leveraging the computational cost with respect to the following levels. Moreover a low undersampling factor is involved (~ 3), facilitating the convergence of the optimization problem. In the same manner, time required for the registration step gets largely reduced when compared with the single resolution level experiment (bottom plot in Figure 4). Globally, the multiresolution approach halves the reconstruction time required to ~ 95 minutes in the current implementation. Absolute values of the cost function are not directly comparable between the two approaches given the different size of the sequences and λ parameters used.

Figure 5 compares results of both reconstructions by visual inspection of single frames at systolic and diastolic cardiac phases and temporal profiles of a line across the left and right ventricles. For the multiresolution scheme sharper edges and thinner details can be observed in the interior of the left ventricle while more homogeneous contrast is obtained inside the myocardium. Temporal profiles show unrealistic motion around end-systole for the single-resolution reconstruction that is not present in the multiresolution one. This could be explained by the complexity of estimating cardiac motion from the highly undersampled initial reconstruction, of poor quality. Severe motion estimation errors translate to the final solution, leading to this kind of motion artifacts. Both profiles show remaining striking artifacts around the apex related to the undersampling pattern.

4. Conclusions

We have presented a temporal multiresolution scheme for the ME/MC CS retrospective reconstruction of Real-Time MRI and shown its application to cardiac function imaging, obtaining a final temporal resolution of 26 ms and an acceleration factor of 28. When compared to an equivalent, single resolution approach, reconstruction time is considerably reduced and results show better image quality and more realistic motion behavior. Due to lack of a ground truth reference in real time imaging quantitative analysis of the proposed method is not possible. However, the accuracy of the proposed method can be assessed in evaluation of cardiac functional parameters such as ventricular volumes and ejection fraction. Future work will compare functional parameters that will be computed both from RT and standard segmented acquisitions.

The reconstruction times are long due to computational complexity of proposed framework. However, the framework is highly parallelizable and reconstruction

times can be drastically reduced by the use of modern platforms such as GPUs. Moreover, the multiresolution scheme can be extended to the spatial dimensions, further accelerating the intermediate reconstructions.

Acknowledgements

This work was partially supported by the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovacion and the Fondo Europeo de Desarrollo Regional under Research Grant TEC2013-44194 and Research Grant TEC2014-57428-R, the Spanish Junta de Castilla y Leon under Grant VA136U13 and by the Universidad de Valladolid-Banco de Santander grant program.

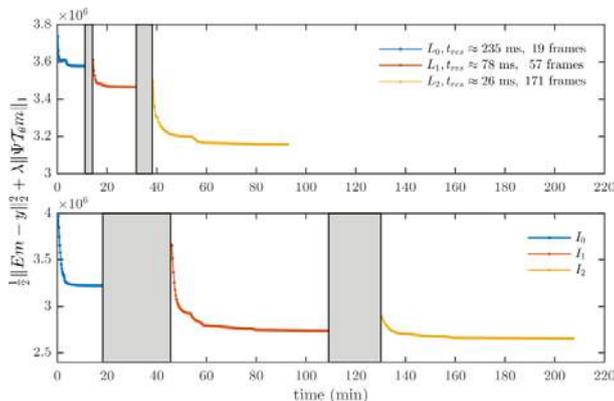


Figure 4. Convergence plots of the cost function in Eq. (1) for each level in the multiresolution scheme (top) and for each iteration in the single resolution level experiment (bottom). The same relative decrease in the objective function has been set as the stopping criterion in both cases. Gray areas correspond to groupwise temporal registration steps. Computational cost of the reconstruction and ME steps at coarser resolution levels is considerably reduced leading to faster convergence. In the single resolution experiment, the lack of a good initial reconstruction hinders the estimation of the motion leading to long registration times.

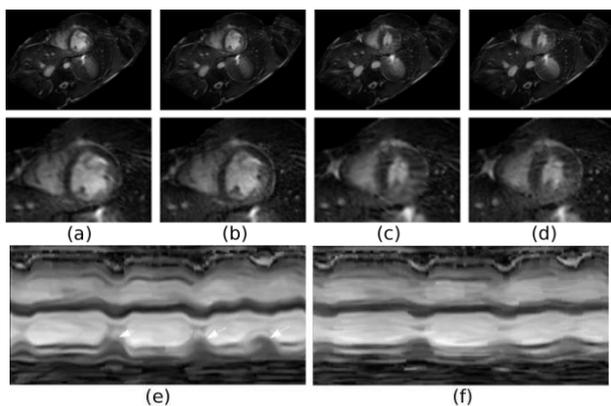


Figure 5. Sample frames at diastole (a-b) and systole (c-d) phases and temporal profiles (e, f) for the single resolution (a, c, e) and multiresolution (b, d, f) reconstructions. Sharper edges in the interior of the left ventricle can be depicted in (b) and (d). Temporal profile in (e) shows unrealistic motion of the myocardium at several cardiac phases (white arrows).

References

[1] Tsao J and Kozerke S. MRI temporal acceleration techniques, *J Magn Reson Im*, vol. 36, no. 3, 2012, pp. 543–560.

[2] Donoho D. Compressed sensing, *IEEE Trans Inf Theory*, vol. 52, no. 4, 2006, pp. 1289–1306.

[3] Asif MS, Hamilton L, Brummer M, and Romberg J. Motion-adaptive spatio-temporal regularization for accelerated dynamic MRI, *Magn Reson Med*, vol. 70, no. 3, 2013, pp. 800–812.

[4] Jung H and Ye JC. Motion estimated and compensated compressed sensing dynamic magnetic resonance imaging: What we can learn from video compression techniques, *Int J Imag Syst Tech*, vol. 20, no. 2, 2010, pp. 81–98.

[5] Prieto C, Batchelor PG, Hill DLG, Hajnal JV, Guarini M and Irazzavala P. Reconstruction of undersampled dynamic images by modeling the motion of object elements, *Magn Reson Med*, vol. 57, no. 5, 2007, pp. 939–49.

[6] Lingala SG, DiBella E, and Jacob M. Deformation corrected compressed sensing (DC-CS): a novel framework for accelerated dynamic MRI, *IEEE Trans Med Imag*, 2014, pp. 1–23.

[7] Royuela-del-Val J, Cordero-grande L, Simmross-Wattenberg F, Martín-Fernández M and Alberola-López Carlos. Non-Rigid Groupwise Registration for Motion Estimation and Compensation in Compressed Sensing Reconstruction of Breath-Hold Cardiac Cine MRI, *Magn Reson Med*, 2015.

[8] Winkelmann S, Schaeffter T, Koehler T, Eggers H, Doessel O. An Optimal Radial Profile Order Based on the Golden Ratio for Time-Resolved MRI, *IEEE Trans Med Imag*, vol. 26, no. 1, 2007, pp. 68–76.

[9] Zibulevsky M and Elad M. L1-L2 Optimization in Signal and Image Processing, *IEEE Signal Proc Mag*, vol. 27, no. 3, 2010, pp. 76–88.

[10] Becker S, Bobin J, and Candès EJ. NESTA: A Fast and Accurate First-Order Method for Sparse Recovery, *SIAM J Imaging Sci*, vol. 4, no. 1, 2011, pp. 1–39.

[12] Metz CT, Klein S, Schaap M, van Walsum T and Niessen WJ. Nonrigid registration of dynamic medical imaging data using nD + t B-splines and a groupwise optimization approach, *Med Image Anal*, vol. 15, no. 2, 2011, pp. 238–49.

[12] Rueckert D, Sonoda LI, Hayes C, Hill DLG, Leach MO, and Hawkes DJ. Nonrigid registration using free-form deformations: application to breast MR images, *IEEE Trans Med Imag*, vol. 18, no. 8, 1999, pp. 712–721.

[13] Cordero-Grande L, Merino-Caviedes S, Aja-Fernandez S and Alberola-Lopez C. Groupwise Elastic Registration by a New Sparsity-Promoting Metric: Application to the Alignment of Cardiac Magnetic Resonance Perfusion Images, *IEEE Trans Pattern Anal*, vol. 35, no. 11, 2013, pp. 2638–2650.

[14] Nocedal J and Wright S. Numerical Optimization. Springer Verlag, 1999, New York, USA.

[15] De Craene M, Piella G, Camara O, Duchateau N, Silva E, Doltra A, D'hooge J, Brugada J, Sitges M, and Frangi AF. Temporal diffeomorphic free-form deformation: Application to motion and strain estimation from 3D echocardiography, *Med Im Anal*, vol. 16, no. 2, pp. 427–450.

Tissue and Label Modelling for Segmentation of Scar with Contour Correction in Cardiac DE-CMR Volumes

S. Merino-Caviedes¹ L. Cordero-Grande^{1,2} M. T. Pérez Rodríguez³ M. T. Sevilla-Ruiz⁴
 A. Revilla-Orodea⁴ M. Martín-Fernández¹ C. Alberola-López¹

¹ Laboratorio de Procesado de Imagen, Universidad de Valladolid, Valladolid, Spain,
 {smercav,lcorgra}@lpi.tel.uva.es, {marcma,caralb}@tel.uva.es

² Centre for the Developing Brain and Department of Biomedical Engineering, King's College London, London, UK.

³ Dpto. de Matemática Aplicada, Universidad de Valladolid, Valladolid, Spain, terper@wmatem.eis.uva.es

⁴ Instituto de Ciencias del Corazón, Hospital Clínico Universitario, Valladolid, Spain.

Abstract

Most scar segmentation methods for cardiac DE-CMR images are constrained by a previous myocardial segmentation that provides borders for the scar identification. However, the automation of these methods rely on an existing myocardial segmentation from CINE-CMR that is registered to the DE-CMR volume; in this step, however, alignment errors are usually introduced and they carry over to the labeling operation. These errors typically remain unchanged after tissue labeling, so inconsistencies between the two (alignment and labeling) may exist. We explore this issue and present a method that, with the same inputs, identifies the healthy and scarred tissue and selectively corrects the endocardial and epicardial contours depending on the image edges, the estimated probabilistic distributions and the proximity to the aligned myocardial borders. For this, we model the posterior probability of each ROI label with a Bayesian approach that unifies the prior tissue probabilities and the myocardial labels. The maximum a posteriori criterion is used to compute a first DE-CMR label map, which is afterwards refined by a connected component analysis. Preliminary results show better accuracy for the endocardial and epicardial contours, and the segmented scar compares favorably with respect to state of the art methods.

1 Introduction

Delayed Enhancement (DE) Cardiac Magnetic Resonance (CMR) allows the identification of scarred tissue in the myocardium. This is relevant in the viability assessment of the myocardium in ischemic cardiopathy (IC) patients, where the transmural extent of the scar is key to predict the success of a reperfusion intervention [1, 2]. DE-CMR also allows to predict adverse cardiovascular events in Hypertrophic Cardiomyopathy (HCM) patients [3]. Therefore, the development of methods that accurately delineate these regions is of great interest.

Most of the current scar segmentation methods assume there is an available segmentation of the endocardial and epicardial contours, either manually delineated or automatically generated from an anatomical modality (usually

CINE-CMR) and aligned to the DE-CMR volume to be segmented. Then, the myocardial intensity values are classified into healthy or scarred tissue either by thresholding [4] or by means of a probabilistic approach [5]. More elaborate proposals include the use of advanced segmentation methods [6] or postprocessing the outcome to remove false scars arising from errors in the placement of the myocardial contours [7]. The latter, however, does not modify the placement of the myocardial borders. Since the myocardium is a thin structure, these errors can be significant in the computation of the scar transmuralilty.

We propose a segmentation method for DE-CMR images that allows the displacement of the CINE myocardial borders where the edges are clearly defined, while maintaining them where there is uncertainty about the myocardial border placement. Our approach is to use a Bayesian approach and the maximum a posteriori criterion with the segmentation labels posterior probability taking into account the probability of the anatomical labels. The computed maximum a posteriori outcome is then subjected to a connected component analysis with the purpose of removing false positives and false negatives.

The rest of the document has the following structure: in Section 2, the proposed segmentation method is explained, with emphasis on the Bayesian formulation in Subsection 2.1 and followed by the connected component analysis in Subsection 2.2. The experimental setup and results are described in Section 3, and some conclusions are drawn in Section 4.

2 Proposed Method

Let $I(\mathbf{x}) : \Omega \subset \mathbb{R}^D \rightarrow \mathbb{R}$ be the DE-CMR image to be labeled, $\mathcal{L} = \{L_i\}_{i=1}^L$ the set of segmentation labels that a voxel may be classified as, and $\mathcal{A} = \{A_i\}_{i=1}^K$ the set of labels that an a priori anatomical segmentation $\hat{A}(\mathbf{x})$ can adopt. For our specific case, we define the label sets $\mathcal{L} = \{L_i\}_{i=1}^4 = \{E, H, S, B\}$ for DE-CMR and $\mathcal{A} = \{A_i\}_{i=1}^3 = \{E, M, B\}$ for CINE-CMR, where E, M, H, S and B stand respectively for the blood cavity en-

closed by the endocardium, the myocardium, the healthy tissue, the scar and the background.

The proposed segmentation framework consists of the following steps. Firstly, the label posterior probabilities are computed from $I(\mathbf{x})$ and $\hat{A}(\mathbf{x})$ and smoothed by a Gaussian filter to provide robustness against noise. Secondly, a connected component analysis is applied to the labels that maximize the smoothed posterior probabilities, yielding the final DE-CMR segmentation.

2.1 Maximum a Posteriori Formulation

Applying the Bayes theorem and taking into account that both \mathcal{L} and \mathcal{A} are finite partitions of the label space, so that either allows for the law of total probability to be applied, we can express $P(L_i(\mathbf{x})|I(\mathbf{x}))$ as (the node location (\mathbf{x}) has been removed for clarity):

$$\begin{aligned} P(L_i|I) &= \frac{P(L_i, I)}{P(I)} = \frac{P(L_i, I)}{\sum_{j \in \mathcal{L}} P(L_j, I)} \\ &= \frac{\sum_{k \in \mathcal{A}} P(L_i, I, A_k)}{\sum_{j \in \mathcal{L}} \sum_{k \in \mathcal{A}} P(L_j, I, A_k)} \\ &= \frac{\sum_{k \in \mathcal{A}} P(I|A_k, L_i)P(L_i|A_k)P(A_k)}{\sum_{j \in \mathcal{L}} \sum_{k \in \mathcal{A}} P(I|A_k, L_j)P(L_j|A_k)P(A_k)} \end{aligned} \quad (1)$$

where $P(A_k(\mathbf{x}))$ is the probability that a node \mathbf{x} belongs to the CINE label A_k , $P(I(\mathbf{x})|A_k(\mathbf{x}), L_i(\mathbf{x}))$ is the likelihood of $I(\mathbf{x})$ given L_i and A_k , and $P(L_i(\mathbf{x})|A_k(\mathbf{x}))$ is the likelihood of $L_i(\mathbf{x})$ given $A_k(\mathbf{x})$. Its computation is described below.

- $P(A_k(\mathbf{x}))$, $k = 1, 2, 3$ is modeled so that the probability decays when the distance to the CINE ROI increases. Here, $P(A_k(\mathbf{x})) = a_k(\mathbf{x})$, $k = 1, 2, 3$. The $a_k(\mathbf{x})$ maps are computed by smoothing each of the CINE ROI masks with a Gaussian filter $G_\sigma(\mathbf{x})$ and normalizing them so that $\sum_{k=1}^3 a_k(\mathbf{x}) = 1$:

$$a_k(\mathbf{x}) = \frac{\chi_{A_k}^1(\mathbf{x}) * G_\sigma(\mathbf{x})}{\sum_{j=1}^3 \chi_{A_j}^1(\mathbf{x}) * G_\sigma(\mathbf{x})} \quad (2)$$

with $\chi_{A_k}^1(\mathbf{x}) = 1$ if $\hat{A}(\mathbf{x}) = A_k$ and 0 otherwise. $G_\sigma(\mathbf{x})$ is implemented by a truncated Gaussian kernel.

- We use probability distribution models to estimate $P(I(\mathbf{x})|L_i(\mathbf{x}), A_k(\mathbf{x}))$. The intensity distribution of each particular tissue is assumed to have invariant parameters with respect to the CINE anatomical segmentation $\hat{A}(\mathbf{x})$, that is, $P(I(\mathbf{x})|L_i(\mathbf{x}), A_k(\mathbf{x})) = P(I(\mathbf{x})|L_i(\mathbf{x}))$. The Rician distribution is chosen to represent the blood and myocardial tissues, and the background is modeled by a non-parametric kernel distribution, since it is composed of several different tissues. Given that the distribution parameters are assumed to be constant with respect to $L(\mathbf{x})$, we use the anatomical blood pool \hat{E} and a background

band around the epicardium to respectively model $P(I(\mathbf{x})|L_1(\mathbf{x}))$ and $P(I(\mathbf{x})|L_4(\mathbf{x}))$ ($L_1 = E$ and $L_4 = B$). In order to estimate the healthy tissue and scar parameters, a provisional segmentation is carried out thresholding the myocardial intensities using the Full Width at Half Maximum criterion: the pixels with values higher than half of the maximum intensity in the myocardium are identified as scar.

- $P(L_i(\mathbf{x})|A_k(\mathbf{x}))$ is in fact an a posteriori term; however, it may be employed to locally weigh the influence of the CINE segmentation and the image likelihood. For this, we propose a model based on the assumption that segmentation label confusions may happen when ROI borders are not clearly defined and between ROIs with similar intensity distributions. When we are faced with one or both of these conditions, it is better to trust the atlas, i.e., $P(A_k(\mathbf{x}))$; if, on the contrary, the ROIs are easily told apart, the image likelihood should be given more consideration. Let M^s , $s = 1, \dots, 3$ be 4×3 real matrices defined as

$$M^1 = \begin{pmatrix} 1/3 & 1/3 & 0 \\ 1/3 & 1/3 & 0 \\ 1/3 & 1/3 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}, M^2 = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1/2 & 0 \\ 0 & 1/2 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}, \text{ and } M^3 = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1/3 & 1/3 \\ 0 & 1/3 & 1/3 \\ 0 & 1/3 & 1/3 \end{pmatrix}. \text{ Each}$$

matrix M^s models the conditional probabilities under an ideal scenario s . $P(L_i(\mathbf{x})|A_k(\mathbf{x}))$ will be a linear combination of M_{ik}^1 , M_{ik}^2 and M_{ik}^3 . Thus, if $P(L_i(\mathbf{x})|A_k(\mathbf{x})) = M_{ik}^2$, then the CINE is a hard constraint on $P(L_i(\mathbf{x})|I(\mathbf{x}))$. If, on the other hand, $P(L_i(\mathbf{x})|A_k(\mathbf{x})) = M_{ik}^1$ or $P(L_i(\mathbf{x})|A_k(\mathbf{x})) = M_{ik}^3$, the influence of the CINE is relaxed to depend only on $P(A_k)$ for the endocardial and epicardial borders, respectively. Then, a set of local weight maps $w_j(\mathbf{x}) \geq 0$, $j = 1, 2, 3$, with $w_1(\mathbf{x}) + w_2(\mathbf{x}) + w_3(\mathbf{x}) = 1$ are defined from the image characteristics as a function of the image gradient, and:

$$P(L_i(\mathbf{x})|A_k(\mathbf{x})) = \sum_{j=1}^3 M_{ik}^j w_j(\mathbf{x}). \quad (3)$$

where for $n = \{1, 3\}$, $w_n(\mathbf{x}) = (1/2) \cdot H_\varepsilon(b(\mathbf{x}) - 1.5\sqrt{E}\{(b(\mathbf{x}) - E\{b(\mathbf{x})\})^2\})$ if $P(A_n(\mathbf{x})) > 0$, and is 0 otherwise; and $w_2(\mathbf{x}) = 1 - w_1(\mathbf{x}) - w_3(\mathbf{x})$. $H_\varepsilon(z) = (1 + (2/\pi) \arctan(z/\varepsilon))/2$ is a smooth Heaviside function, and $b(\mathbf{x}) = |\nabla I(\mathbf{x})|$. Since $G_\sigma(\mathbf{x})$ is a truncated Gaussian kernel, $P(A_n)$ is strictly zero far enough from the CINE ROI with label A_k . If all $P(A_n)$ were positive, this would result in $w_1(\mathbf{x}) = w_3(\mathbf{x})$.

2.2 Connected Component Analysis

An intermediate label map $U(\mathbf{x})$ is computed by selecting at each \mathbf{x} the label L_i with the highest $P(L_i(\mathbf{x})|I(\mathbf{x}))$ value. To increase spatial coherence, the $P(L_i(\mathbf{x})|I(\mathbf{x}))$ are previously convolved with a Gaussian filter. Nevertheless, this label map may contain false positives and false

negatives. Therefore, it is partitioned into individual connected islands Ω_i , and the following postprocessing steps are applied.

- In order to remove noise, islands smaller than a user-provided size are merged into the adjacent island with the larger fraction of shared border. The islands are evaluated in ascending size order.
- Both the blood cavity Ω_E and the background Ω_B are selected as the largest island with $U(\Omega_i) = E$ and $U(\Omega_i) = B$, respectively. Any other island completely immersed within these islands are merged into them.
- All islands not being Ω_E or Ω_B but with $U(\Omega_i) = E$ or $U(\Omega_i) = B$ are reclassified as scar ($U(\Omega_i) = S$) if

$$\prod_{\mathbf{x} \in \Omega_i} P(S(\mathbf{x})|I(\mathbf{x})) > \prod_{\mathbf{x} \in \Omega_i} P(H(\mathbf{x})|I(\mathbf{x})),$$

and as healthy tissue ($U(\Omega_i) = H$) otherwise.

3 Experimental Results

For our pilot study, six CMR studies from HCM patients were used, each of which contained CINE sequences in short axis (SAx), two chamber (2C) and four chamber (4C) long axis (LAX), and a SAx DE-CMR sequence. All sequences were acquired with a 3T Philips Achieva MR scanner. All CINE sequences had 30 temporal phases, and their slice thickness was 8 mm, with no interslice gaps. Their TE and TR varied in the ranges of 1.37–1.76 ms. and 2.75–3.52 ms, respectively. The flip angle was 45 degrees in all CINE sequences. The in-plane spacing for DE-CMR varied between 0.603 mm and 0.625 mm and was the same in both slice axes. Their slice thickness was 8 mm. with no gaps. For CINE, the number of samples per in-plane dimension was between 320 and 432, and its spacing, between 1.1594 mm and 1.2295 mm. The flip angle for the DE-CMR sequences was 25 degrees; the TE, 2.99 ms; and the TR, 6.1 ms. Expert delineations for the endocardium and the epicardium were manually drawn on the SAx DE-CMR volume and the SAx CINE in end-diastole. Along with the myocardial contours of the DE-CMR volume, the cardiologists also provided a validated threshold for the scarred tissue.

The CINE and DE-CMR volumes were spatially aligned using the framework described in [8]. Summarizing, the SAx volumes are interpolated in the long axis direction in order to provide quasi-isotropic resolution. Then, the respiratory motion shift between slices in the SAx CINE is corrected using the 2C and 4C LAX CINE sequences, and after that, the corrected SAx CINE and the DE-CMR volumes are aligned by means of a registration using the Mattes mutual information as metric [9]. All manual delineations and the masks originated from them were subjected to the same spatial transformations as their CMR counterparts. Then, the DE-CMR volumes were segmented using our method (PROP) with $\sigma = 2\text{mm}$, the threshold-based method with a feature analysis false positives and false negatives removal (MET1) proposed in [7], a similar

method that also employs thresholding and feature analysis, proposed in [10] (MET2), and the method (MET3) described in [5], which performs a watershed segmentation using probability distribution models and distances to the endocardium. Small scar islands are removed and scar holes are filled in the watershed output. For MET1 and PROP, the maximum size for a scar island rejected as a false positive was set to 24 voxels.

Figures 1b to 1e illustrate the behavior of the conditional probability formulation of the segmentation labels for the DE-CMR slice in Figure 1a, with the aligned CINE myocardium overlaid as red contours. It may be observed in each $P(L_i|I)$ map, $i = 1, \dots, 4$, how on a thin strip besides the CINE contours the probability for each label may cross over the borders. This allows the contour correction effect provided by our method.

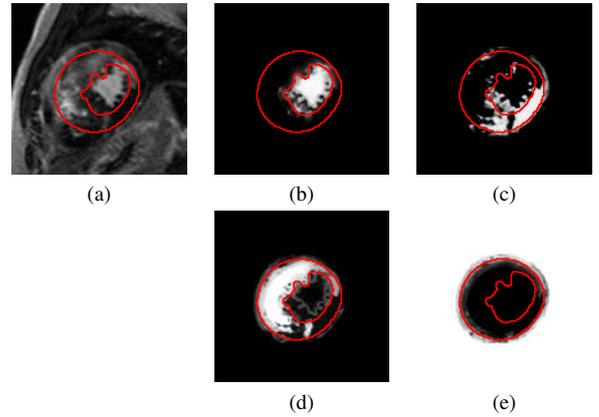


Figure 1. (a) Intensity map, (b) $P(L_1|I)$, (c) $P(L_2|I)$, (d) $P(L_3|I)$, and (e) $P(L_4|I)$ yielded by the proposed method for a cropped SAx slice of Study1. The aligned CINE myocardium is shown with red contours.

In order to assess the contour correction effect, the Dice Index (DI) between the ground truth myocardium and, respectively, the aligned CINE myocardium and the myocardium yielded by our method, was computed. The DI expression is: $DI = 2|GT \cap S|/(|GT| + |S|)$, where S and GT respectively stand for the segmented mask and the ground truth against which it is compared. The results are shown in Table 1. We can see that our method achieves higher overlapping than the aligned CINE in all cases, thanks to the myocardial contour displacement during the segmentation. In addition, the highest increments in DI were obtained in the studies with the lowest CINE overlapping (Study 3 and Study 5). Notice that the maximum allowed displacement of the myocardial contours depends on the Gaussian kernel applied to compute $P(A_k(\mathbf{x}))$, $k = 1, 2, 3$. The higher σ , the further the final myocardial borders can move away from the CINE contours.

Now we study the scar and healthy tissue masks obtained by MET1, MET2, MET3 and PROP with the result of applying the manual threshold to the DE-CMR volume on the ground truth myocardium (GT). To do this, each individual ROI segmentation is compared to its counterpart in the ground truth by means of the DI. It should be considered, however, that the scar ground truth is taken from a thresholding, with the drawbacks it entails (possibility

Study	CINE	PROP	ΔDI
1	0.756	0.770	0.014
2	0.685	0.715	0.030
3	0.529	0.593	0.064
4	0.689	0.723	0.034
5	0.530	0.622	0.092
6	0.643	0.705	0.062

Table 1. Quantification of the myocardial misalignment by the DI between the myocardium in the ground truth and the aligned CINE myocardium on one hand, and in the other hand, the myocardium yielded by the proposed method; and the variation between them.

of false positives and false negatives). Studies where no scar is present are assigned $DI = 0$. Therefore, for each study and method two DI values are computed. The results are shown in Figure 2 by mapping the DI pairs in a 2D scatter plot. The marker shape and the color of each sample are selected depending, respectively, on the segmentation method employed and the CMR study. The values of DI are relatively small for all the methods; this is due to high disagreements between the registered myocardial mask and the ground truth myocardium provided by the experts. However, in comparative terms, our method shows the highest agreement with the ground truth both in scar and healthy tissue, except in Study1 where MET3 provided the most accurate segmentation of the healthy tissue, and Study3, where MET1 yielded the most accurate scar segmentation. In general, MET3 yields the lowest DI, owing to the fact that it was designed specifically for subendocardial scar configurations. Thus, relatively thin fibrosis close to the epicardium may be overlooked by the algorithm. This shows the necessity of the target pathology when choosing a scar segmentation method for DE-CMR.

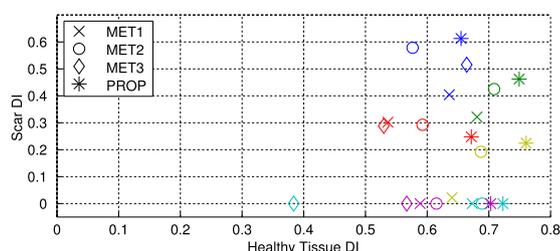


Figure 2. Scatter plot of the healthy tissue and the scar DI yielded for each study and method.

4 Conclusions

We have described a segmentation method for cardiac DE-CMR, where, in addition to identifying the scar, the myocardial borders may also be modified. To do this, a Bayesian approach that takes into account both the image intensity probability distributions and a registered myocardial segmentation coming from CINE is employed to compute label posterior probabilities, and a connected component analysis is used on the outcome of the maximum a posteriori criterion. While our method yielded the best overlapping results compared with other state of the art methods, the pathology (HCM) under study brings particular difficulties, which suggest that more attention should be given to develop more powerful methods adapted to HCM. We plan to work on improving the segmentation

by exploring its integration into more sophisticated segmentation frameworks such as active contours, as well as increasing the size of our database.

5 Acknowledgements

This work was partially supported by the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación and the Fondo Europeo de Desarrollo Regional under Research Grants TEC2013-44194 and TEC2014-57428-R, and the Spanish Junta de Castilla y León under Grant VA136U13. Thanks are also due to the Group QDiagnóstica for steady financial support.

References

- [1] Kim RJ, Fieno DS, Parrish TB, Harris K, Chen EL, Simonetti O, Bundy J, Finn JP, Klocke FJ, Judd RM. Relationship of MRI Delayed Contrast Enhancement to Irreversible Injury, Infarct Age, and Contractile Function. *Circulation*, vol. 100(19), 1999, pp. 1992–2002 (ISSN: 1524-4539).
- [2] Karamitsos TD, Francis JM, Myerson S, Selvanayagam JB, Neubauer S. The role of cardiovascular magnetic resonance imaging in heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 54(15), 2009, pp. 1407–24 (ISSN: 0735-1097).
- [3] Green JJ, Berger JS, Kramer CM, Salerno M. Prognostic value of late gadolinium enhancement in clinical outcomes for hypertrophic cardiomyopathy. *JACC: Cardiovascular Imaging*, vol. 5(4), 2012, pp. 370–7 (ISSN: 1936-878X).
- [4] Mikami Y, Kolman L, Joncas S, Stirrat J, Scholl D, Rajchl M, Lydell C, Weeks S, Howarth A, White J. Accuracy and reproducibility of semi-automated late gadolinium enhancement quantification techniques in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance*, vol. 16(1) 85, 2014, pp. 1–9 (ISSN: 1532-429X).
- [5] Hennemuth A, Seeger A, Friman O, Miller S, Klumpp B, Oeltze S, Peitgen HO. A Comprehensive Approach to the Analysis of Contrast Enhanced Cardiac MR Images. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 27(11), 2008, pp. 1592–610 (ISSN: 0278-0062).
- [6] Rajchl M, Yuan J, White JA, Nambakhsh CM, Ukwatta E, Li F, Stirrat J, Peters TM. A fast convex optimization approach to segmenting 3D scar tissue from delayed-enhancement cardiac MR images. *Lecture Notes in Computer Science (MICCAI 2012)*, Nice, France, 2012, pp. 659–66 (ISBN: 978-3-642-33415-3).
- [7] Tao Q, Milles J, Zeppenfeld K, Lamb HJ, Bax JJ, Reiber JHC, van der Geest RJ. Automated segmentation of myocardial scar in late enhancement MRI using combined intensity and spatial information. *Magnetic Resonance in Medicine*, vol. 64(2), 2010, pp. 586–94 (ISSN: 1522-2594).
- [8] Cordero-Grande L, Merino-Caviedes S, Alba X, Figueras i Ventura RM, Frangi AF, Alberola-Lopez C. 3D fusion of cine and late-enhanced cardiac magnetic resonance images. *9th IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI 2012)*, Barcelona, Spain, 2012, pp. 286–9 (ISBN: 978-1-4577-1857-1).
- [9] Mattes D, Haynor DR, Vesselle H, Lewellen TK, Eubank W. PET-CT image registration in the chest using free-form deformations. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 22(1), 2013, pp. 120–8 (ISSN: 0278-0062).
- [10] Hsu L, Natanzon A, Kellman P, Hirsch G, Aletras A, Arai A. Quantitative myocardial infarction on delayed enhancement MRI. Part I: Animal validation of an automated feature analysis and combined thresholding infarct sizing algorithm. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, vol. 23, 2006, pp. 298–308 (ISSN: 1522-2586).

Cardiac Strain Assessment for Fibrotic Myocardial Tissue Detection in Left Ventricular Hypertrophic Cardiomyopathy

S. Sanz-Estébanez¹, S. Merino-Caviedes¹, T. Sevilla², A. Revilla-Orodea², M. Martín-Fernández¹, C. Alberola-López¹

¹ Laboratorio de Procesado de Imagen (LPI), Universidad de Valladolid, Valladolid, España, {ssanest,smercav}@lpi.tel.uva.es, {marcma,caralb}@tel.uva.es.

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

Abstract

This work proposes an image processing methodology to distinguish fibrotic from normal tissue by the assessment of the local mechanical properties of the myocardium in magnetic resonance tagging images. The procedure uses the information provided by short axis images of the above mentioned modality to estimate the Green-Lagrange strain tensor; a modified method based on the Harmonic Phase is employed for motion estimation. The method has been applied to the analysis of the local deformation patterns in a set of patients affected by hypertrophic cardiomyopathy in order to find the agreement between hyperenhanced zones in late enhancement images and areas in the myocardium with abnormal tensor values (both the radial and the circumferential components as well as the shearing component have been accounted for). The agreement is measured taken as ground truth manual segmentation of late enhancement images carried out by two cardiologists. Finally, a set of example images illustrate the agreement between both techniques.

1. Introduction

The relationship between myocardial fibrosis and local mechanics is important for the diagnosis and treatment of cardiomyopathies [1]. Imaging techniques provide essential information for the study of these pathologies and, from them; cardiac magnetic resonance (MR) is increasingly becoming the standard technique as it provides information to assess the myocardial morphology, function and structure. Its use is especially relevant for quantitative analysis of myocardial motion, the anomalies of which are directly related with impaired cardiac function.

From the set of MR acquisition techniques, MR-Tagging has become the reference modality for evaluating strain evolution in the human heart. This modality is based on the generation of a set of saturated magnetization planes on the imaged volume which may be subsequently tracked throughout the cardiac cycle [2], from which the cardiac function can be assessed. Harmonic Phase (HARP) based methods [3] are capable of reconstructing displacement fields accurately grounded on the assumption of constant local phase, which turns out to be more reliable than a constant pixel brightness assumption.

Another cardiac imaging modality, namely, late enhancement (LE) MR provides the clinician evidence to distinguish fibrosis from healthy tissue in the myocardium, obtaining measures of the myocardial

viability in ischaemic cardiomyopathy, the extent of fibrotic tissue in hypertrophic cardiomyopathy (HCM) or indicators such as transmural, which are nowadays customarily used as a predictor of prospective success of reperfusion procedures [4]. In LE-MR, a gadolinium chelate bolus is injected in the patient; this contrast is a metabolically inert paramagnetic substance which shortens T1 relaxation time so its accumulations appear brighter in T1 MR scans (i.e., they are hyperenhanced). The LE-MR volumes are acquired when the contrast has been washed out from viable myocardium, but still remains in tissue with reduced perfusion.

In this paper we are interested in finding the agreement between hyperenhanced regions in HCM patients and myocardial local deformation anomalies. Global measures have been reported, such as the global longitudinal strain [5], which turns out to be an interesting tool that correlates with the global presence of LE hyperenhancement (specially, in the basal region of the septum); however, imaging studies focused on local properties of the myocardial fibrotic regions for HCM patients are relatively scarce.

A comparative regional study is carried out in [6] for athletes, controls and HCM patients; the authors reveal a significant reduction in the principal components of the strain in HCM patients and athletes, but this reduction was not associated to any particular segment and it was even present in non-fibrotic regions, so that they concluded that the presence of fibrotic tissue is not fully related with impaired myocardial deformation.

In [7] a local analysis is performed fusing the information of MR-Cine and LE-MR to provide more insight into the mechanical properties of the fibrotic tissue in HCM. Something similar occurs in [8], where left ventricular (LV) regional mechanics were explored with a focus on the effect of both hypertrophy and fibrosis on LV systolic performance, founding that the extent of hypertrophy is the primary factor altering myocardial mechanics.

Our approach elaborates on [7] since we perform a local analysis capable of relating local deformation anomalies with the presence of fibrotic tissue employing MR-Cine, LE-MR and MR-Tagging. MR-Cine is used at the only purpose of registering images to a common framework. Motion information is then extracted from MR-Tagging images, so material points are tracked throughout the

cardiac cycle, the strain tensor is estimated and its abnormal values are taken into account to discriminate between fibrosis and normal tissue. Subsequently, the anomalous regions are compared against the ground-truth LE-MR segmentation to provide a measure of the scar surface detected.

In Section 2, we describe the database used for validation and explain the proposed image processing pipeline. In Section 3 we present the experiments performed for the assessment of the mechanical properties and the detection of fibrotic regions and some illustrative images are shown. Conclusions are gathered in Section 4.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

For the validation of the proposed approach on real data, we have acquired 25 patients affected by HCM. A short axis (SA) MR-Tagging dataset, from apex to base, of each patient is acquired using a MR Complementary SPAtial Modulation of Magnetization (CSPAMM) SENSitivity Encoding (SENSE) Turbo Field Echo sequence on a Philips Achieva 3T scanner.

Additionally, we have also acquired a SENSE balanced Turbo Field Echo SA MR-Cine sequence at the same spatial location for each patient, where the myocardium has been manually segmented at end diastole (ED) phase; finally, SA LE-MR datasets are used as ground-truth to determine the scar islands related to fibrosis (segmented by two cardiologists). Resolution details on these sequences are included in Table 1.

Sequence	MR-Tagging	MR-Cine	LE-MR
Δ_p	1.21-1.32	0.96-1.18	0.58-0.62
Δ_l	10	8-10	10
N_t	16-25	30	1
N_l	10-15	10-15	9-13
N_p	256-432	240-320	512-704
T_R	3.619-6.154	2.902-3.917	3.285-6.153
T_E	2.126-3.575	1.454-2.222	1.629-2.993
α	10	45	7-25

Table 1. Details on the sequences of MR images used in the paper. Δ_p : Pixel Resolution (mm). Δ_l : Slice Thickness (mm). N_t : Number of Temporal Phases. N_l : Number of slices. N_p : Number of pixels for dimension. T_R : Repetition Time (ms). T_E : Echo Time (ms). α : Flip Angle ($^\circ$).

2.2. Methods

The main steps in the processing pipeline are:

- **Registration:**

The MR-Cine images are processed by means of a groupwise elastic registration procedure in order to propagate the ED segmentations along the whole cardiac cycle [9]. The local transformation is

represented as a combination of B-spline Free Form Deformations (FFD) [10]. A gradient-descent optimization scheme is used, where the step size is updated according to the variation in the registration metric. The sum of the squared differences of the image intensity is used as the registration metric. To constrain the spline-based FFD transformation to be smooth, a penalty term which regularizes the transformation is introduced. The parameters of the optimizer are set empirically. The intensities of the deformed MR-Cine images on a rectilinear grid are obtained by linear interpolation.

- **Alignment:**

Once the myocardium segmentations are propagated along the cardiac cycle, the temporal correspondence of the LE-MR (obtained very close to diastole) with the MR-Cine sequence is established by means of the DICOM timestamps. Then, an affine registration method is performed to align LE-MR and MR-Cine images at the correct time instant. Masks obtained from the expert segmentations are transformed from ED phase to end systole (ES) phase by means of the transformation obtained from the MR-Cine registration described above. Therefore, the scar can be tracked throughout the cardiac cycle to the ES phase. Finally, another affine registration method is performed to establish the point-to-point correspondence between the MR-Cine dataset at ES phase and the MR-Tagging sequence. To that end, the MR-Tagging sequence is detagged by means of a homomorphic filtering procedure [11] in order to provide better performance in the registration.

- **Motion estimation:**

The motion estimation technique is based on the extraction of the local phase of the grid pattern according to the method presented in [12]. A windowed Fourier Transform (WFT) is applied to the image at ES phase. The WFT provides a representation of the image spectrum in the surroundings of each pixel of the original image, so HARP band pass filtering techniques can be directly applied on the spatially localized spectrum of the image. The phase can be extracted in the spatial domain from the inverse WFT of the aforementioned filtered spectrum. Once the local phase images are reconstructed, standard procedures are applied to estimate the material deformation gradient tensor \mathbf{F} , at ES phase.

- **Mechanical description:**

The target for standard myocardial motion analysis is to estimate the Green-Lagrange strain tensor \mathbf{E} (ST), which is defined from the material deformation gradient tensor as: $\mathbf{E}(\mathbf{X}) = (1/2)(\mathbf{F}(\mathbf{X})^T \mathbf{F}(\mathbf{X}) - \mathbf{I})$, with \mathbf{I} the identity matrix.

Using the material polar coordinate system $\{\mathbf{R}, \mathbf{C}\}$, one can compute its radial component by contraction as $\mathbf{E}^{RR}(\mathbf{X}) = \mathbf{R}(\mathbf{X})^T \mathbf{E}(\mathbf{X}) \mathbf{R}(\mathbf{X})$ (replacing \mathbf{R} for \mathbf{C} , the circumferential component is computed), while the shearing component is defined as:

$\mathbf{E}^{RC}(\mathbf{X}) = \mathbf{R}(\mathbf{X})^T \mathbf{E}(\mathbf{X}) \mathbf{C}(\mathbf{X})$. Thus, for calculating the aforementioned descriptor, the above procedure

should be applied at ES phase. The proposed ranges to determine a ST component as abnormal are the following: $|E^{RR}| < 15\%$, $|E^{CC}| < 10\%$, $|E^{RC}| < 5\%$, lying within the ones reported in [6, 7]. The three ST components should be abnormal for the tensor to be considered as such.

3. Results

In this Section we test the fibrotic tissue detection procedure. For this purpose, a quantitative descriptor of the overlapping between the scar islands and the aforementioned anomalous deformation zones is defined. Specifically, a scar island is considered to be detected if, at least, 70% of its surface is filled with abnormal tensor values, according to the aforementioned criteria. In Figure 1 we show the boxplot diagrams of the percentage of detected scar in three sets of slices, namely, at the apex, the base and a mid-slice. As can be observed from the Figure, the precision is higher in mid slices while it lowers considerably in the upper and lower areas. As a matter of fact, the maximal contrast accumulation takes place in the areas where the absolute value of the shearing component E^{RC} is smaller, which turns out to be in the mid-ventricular septum; for the sake of specificity, the highest agreement has been found in the insertion zones of the right ventricle into the septum. However, in the apical and the basal segments the shearing component increases, so the heart motion does and, consequently, the scar islands vanish.

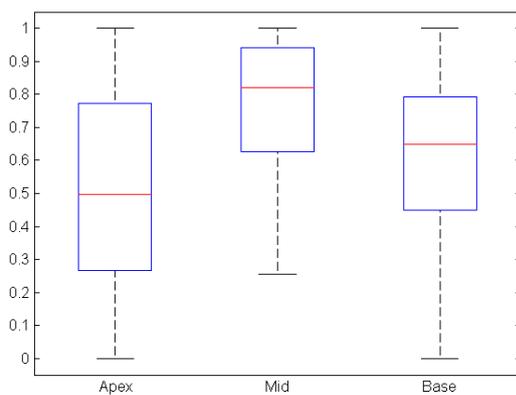


Figure 1. Boxplot diagrams of the percentage of the scar island surface detection for different cardiac regions

Figure 1 can be considered as a measure of sensitivity; we have observed, however, that our detector is not very specific since anomalous areas exist which do not agree with scar islands. However, whether this is a lack of specificity or our procedure behaves as a prognostic variable of future existence of contrast accumulation is a question that should be addressed in further longitudinal studies.

Regarding the radial and circumferential components shown in Figure 2, we have observed that their absolute values are clearly smaller in the fibrotic tissue. In addition, their mean values in healthy areas lie within the ranges reported in [6, 13, 14] using MR-Tagging or echocardiography.

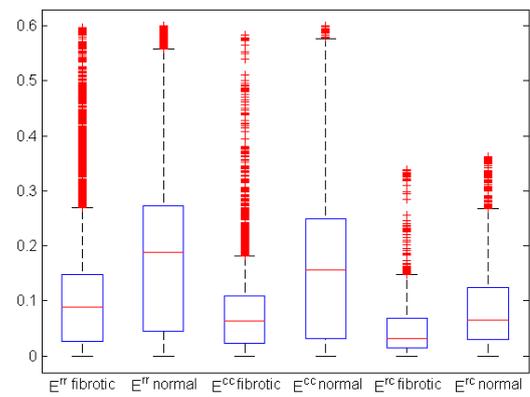


Figure 2. Boxplot diagrams of the absolute value of the three ST components for normal and fibrotic tissue

The mechanical behaviour of the lateral segment does not appear to be seriously affected by the HCM, considering that it only seems to be damaged in severe cases or secondary pathologies, where the fibrosis is widespread over the myocardium.

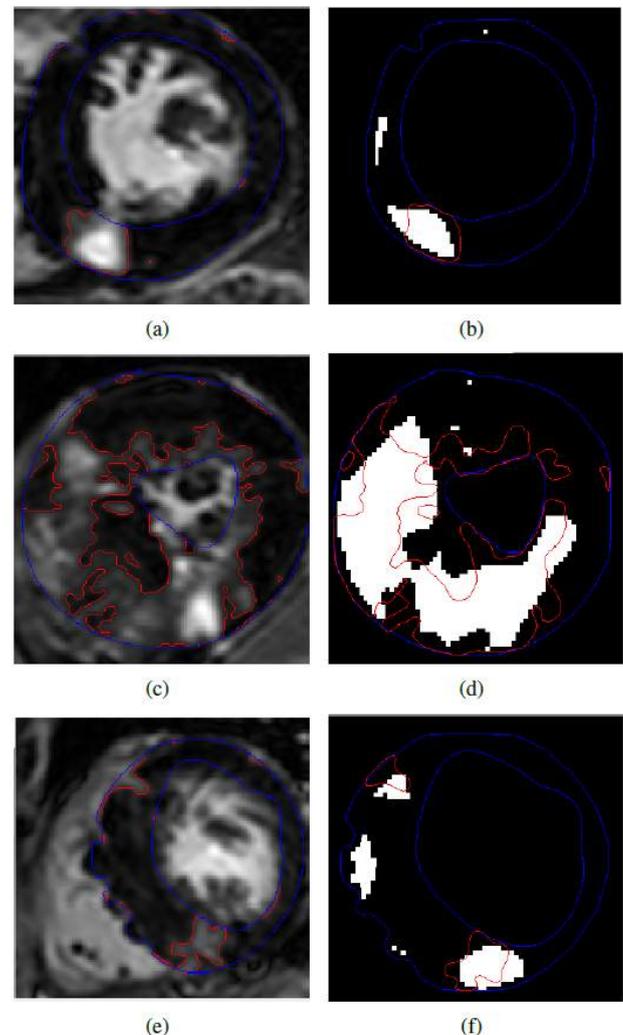


Figure 3. Figures (a), (c), (e) show the manual LE-MR Segmentation near diastolic phase, while Figures (b), (d), (f) show the correspondence of the Abnormal ST Values map within the scar islands tracked to ES phase

In Figure 3 we show some examples to illustrate the correspondence of manual segmentations of the scar with the masks obtained from the analysis of the abnormal ST values at ES phase. White masks are abnormal ST values while red contours are the manual segmentations of hyperenhanced tissue. As indicated, enhanced tissue is typically accompanied by an abnormal tensor region while the reciprocal is not always true, especially in the septum areas.

4. Conclusions and Future Work

We have presented an image processing methodology for tensorial characterization of the mechanical behavior of fibrosis based on the cardiac motion estimation by means of MR-Tagging and a novel material point tracking method. Using this methodology, values of the ST commonly considered as abnormal are capable of distinguishing fibrotic from normal tissue as indicated by the presence or absence of Gadolinium accumulation, respectively.

Namely, fibrotic regions present a significantly smaller radial and circumferential deformation (as provided by the maximum ST at ES phase). In addition, the shearing component follows a characteristic pattern along the myocardium that justifies the scar island vanishing in the apical and basal zones and a higher accumulation in the fibrotic tissue at the level of the mid-ventricular septum.

Finally, the methodology proposed in [15] could help to perform a joint 3D segmentation of the images, enabling to construct 3D representations of the fibrotic tissue. Additionally, we plan to fuse MR-Tagging and MR-Cine information in order to provide more accurate tensor estimation in the surroundings of the endocardium and epicardium.

Acknowledgments

This work was partially supported by the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación and the Fondo Europeo de Desarrollo Regional under Research Grant TEC2013-44194 and Research Grant TEC2014-57428-R, and the Spanish Junta de Castilla y León under Grant VA136U13. Thanks are also due to the Group QDiagnóstica for steady financial support.

References

- [1] Karamitsos TD, Neubauer S. The interplay between cardiac strain and fibrosis in non-ischæmic cardiomyopathies: insights from cardiovascular magnetic resonance. *Eur J Heart Fail*, vol 13, 2011, pp 927-928.
- [2] Shehata ML, Cheng S, Osman NF, Bluemke DA, Lima JA. Myocardial tissue tagging with cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson*, vol 11, no. 55, 2009.
- [3] Osman NF, McVeigh ER, Prince JL. Imaging heart motion using harmonic phase MRI. *IEEE Trans Med Imaging*, vol 19, 2000, pp 186-202.
- [4] Merino-Caviedes S, Cordero-Grande L, Revilla-Orodea A, Sevilla-Ruiz T, Pérez MT, Martín-Fernández M, Alberola-López C. R Multi-Stencil Streamline Fast Marching: A General 3-D Framework to Determine Myocardial Thickness and Transmurality in Late Enhancement Images. *IEEE Trans Med Imaging*, vol 33, 2014, pp 23-37.
- [5] Shimon A, Reisner MD, Lysyansky P, Agmon Y, Mutlak D, Lessick J, Friedman Z. Global Longitudinal Strain: A Novel Index of Left Ventricular Systolic Function. *J Am Soc Echocardiogr*, vol 17, 2000, pp 630-633.
- [6] Piella G, De Craene M, Bijnens BH, Tobon-Gómez C, Huguet M, Avegliano G, Frangi AF. Characterizing myocardial deformation in patients with left ventricular hypertrophy of different etiologies using the strain distribution obtained by magnetic resonance imaging. *Rev Esp Cardiol*, vol 63, 2010, pp 1281-1291.
- [7] Cordero-Grande L, Sevilla T, Revilla A, Martín-Fernández M, Alberola-López C. Assessment of the Fibrotic Myocardial Tissue Mechanics by Image Processing. *Computing in Cardiology*, Zaragoza, 2013, pp 635-638.
- [8] Urbano-Moral JA, Rowin EJ, Maron MS, Crean A, Pandian NG. Investigation of Global and Regional Myocardial Mechanics with 3-Dimensional Speckle Tracking Echocardiography and Relations to Hypertrophy and Fibrosis in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circ Cardiovascular Imaging*, vol 7, 2014, pp 11-19.
- [9] Sanz-Estébanez S. Esquema de compensación de movimiento mediante registrado grupal aplicado a imagen cardiaca dinámica. Master's thesis, Dpto. de Teoría de la Señal y Comunicaciones e Ingeniería Telemática, Universidad de Valladolid, Spain, 2014.
- [10] Rueckert D, Aljabar P, Heckemann RA, Hajnal JV, Hammers A. Diffeomorphic registration using B-splines. *Medical Image Computing and Computer Assisted Intervention*, 2006, LCNS vol 4191, Copenhagen, Denmark, pp 702-709.
- [11] Aja-Fernández S, Pieciak T, Vegas-Sánchez-Ferrero G. Spatially variant noise estimation in MRI: A homomorphic approach. *Medical Image Analysis*, vol 20, 2014, pp 184-197.
- [12] Cordero-Grande L, Vegas-Sánchez-Ferrero G, Casaseca-de-la-Higuera P, Alberola-López C. Improving harmonic phase imaging by the windowed Fourier transform. *8th IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro*, Chicago, USA, March-April, 2011, pp 520-523.
- [13] Saltijeral L, Pérez-de-Isla L, Veras K, Fernández MdJ, Gorissen W, Rementeria J, Almeria C, Rodrigo JL, Fernández-Golfín C, Marcos-Alberca C, Macaya C, Zamorano J. Myocardial Strain Characterization in Different Left Ventricular Adaptive Responses to High Blood Pressure: A Study based on 3D-Wall Motion Tracking Analysis. *Echocardiography*, vol 27, 2010, pp 1238-1246.
- [14] Young AA, Kramer CM, Ferrari VA, Axel L, Reichek N. Three-dimensional left ventricular deformation in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*, vol 90, 1994, pp 854-867.
- [15] Cordero-Grande L, Merino-Caviedes S, Albà X, Figueras i Ventura RM, Frangi AF, Alberola-López C. 3D Fusion of Cine and Late-Enhanced Cardiac Magnetic Resonance Images. *9th IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro*, Barcelona, Spain, 2012, pp 286-289.

Detección y Clasificación de Tejidos Anómalos en Mamografías Digitales Mediante Redes Neuronales Convolucionales

J. González-Bueno Puyal¹, B. Ríos Sánchez², C. Sánchez Ávila²

¹Universidad Politécnica de Madrid, España, juana.gonzalezbueno.puyal@alumnos.upm.es

²Grupo de Biometría, Bioseñales y Seguridad, Universidad Politécnica de Madrid, España, {brios,csa}@cedint.upm.es

Resumen

El cáncer de mama constituye un problema de salud global que supone más del 25% de los nuevos casos de cáncer en mujeres y en el que la detección precoz mediante la realización de mamografías juega un papel fundamental. Este trabajo presenta un sistema novedoso de detección y clasificación de anomalías en imágenes mamográficas mediante redes neuronales convolucionales (CNN). Se trata de un sistema ambicioso que permite distinguir entre cinco clases de mamografías: sin anomalías, con masas tumorales benignas, con masas tumorales malignas, con microcalcificaciones benignas o con microcalcificaciones malignas. Este trabajo evalúa no solo la precisión de las CNN aplicadas a este problema concreto, sino también la influencia de otros parámetros como la inclusión de una etapa de mejora de la calidad de la imagen o la resolución y cantidad de imágenes utilizadas para entrenar la red.

1. Introducción

El cáncer de mama es una de las enfermedades más comunes hoy en día entre mujeres, con 1.7 millones de casos nuevos al año en el mundo [1]. Dado que un diagnóstico precoz permite mejorar considerablemente el pronóstico de los pacientes, es cada vez más frecuente la realización periódica de mamografías para localizar posibles anomalías como masas tumorales o microcalcificaciones, pequeñas acumulaciones de calcio cuya presencia está relacionada con una alta actividad celular. Pese a no implicar necesariamente el desarrollo de la enfermedad, las microcalcificaciones son un buen marcador, ya que permiten su detección incluso cuando el tumor aún no es palpable.

Sin embargo, la correcta interpretación de estas imágenes es complicada, incluso para radiólogos experimentados, debido a la presencia de ruido, la similitud entre tejidos y la alta variabilidad y pequeño tamaño de las anomalías. Los sistemas de ayuda al diagnóstico asistido por ordenador (CAD) ayudan a mejorar la interpretación de las mamografías favoreciendo la reducción de costes y la mejora del diagnóstico. Estos sistemas están generalmente basados en técnicas de aprendizaje automático mediante las cuales es posible clasificar las imágenes según distintos criterios, como la naturaleza de la lesión presente o su grado de malignidad, y habitualmente se componen de los siguientes módulos: mejora de la calidad de la imagen, obtención de los parámetros de entrada al clasificador y clasificación.

La fase de mejora de la calidad de las imágenes tiene como finalidad el incremento del contraste y la eliminación del ruido de las mamografías. Para ello es frecuente utilizar métodos de realce de imágenes en el dominio espacial o de realce basado en características de la imagen. Los primeros se basan en la manipulación directa de los píxeles, siendo los más comunes los que se basan en una modificación del histograma como la ecualización [2]. Esta categoría incluye también los métodos de realce basado en regiones, que operan sobre cada píxel teniendo en cuenta el valor de sus vecinos. Estas técnicas son de gran utilidad para aumentar la nitidez de las mamografías y permiten detectar o realzar las propiedades de las masas tumorales [3]. Por otro lado, las técnicas basadas en características utilizan propiedades de la imagen generalmente extraídas mediante operaciones en el dominio de la frecuencia como la transformada Wavelet [4], permitiendo realzar tanto masas tumorales como microcalcificaciones.

A continuación, las imágenes son adaptadas a las necesidades del clasificador utilizado. Por un lado, si el clasificador utiliza ciertas características de la imagen, como factores de forma [5], medidas de energía de la textura de la imagen [6] o propiedades obtenidas mediante transformadas Wavelet [7][8], es necesario obtener dichas características. Es frecuente utilizar técnicas de segmentación para identificar y etiquetar regiones con características homogéneas previamente a la extracción de características [2][3]. Por otro lado, cuando el clasificador se alimenta directamente de imágenes, resulta recomendable introducir imágenes de un tamaño reducido con el objetivo de minimizar la carga computacional y, por tanto, el tiempo requerido. Para ello, las imágenes son subdivididas en imágenes mucho más pequeñas cuyo tamaño varía de un trabajo a otro (32x32 [9], 55x55 [10] o 64x64 [11] píxeles).

Finalmente, el módulo de clasificación es el encargado de decidir la clase a la que pertenece una imagen según el aprendizaje realizado en la etapa de entrenamiento. Entre los tipos de aprendizaje automático utilizados para la clasificación de mamografías podemos encontrar los árboles binarios [8], los árboles de regresión [12] o las máquinas de soporte vectorial [13]. Sin embargo, este tipo de técnicas presentan algunos inconvenientes en la clasificación de mamografías como la acumulación de errores o un elevado tiempo de entrenamiento. Numerosos trabajos optan por utilizar redes neuronales

artificiales (ANN) para clasificar mamografías [14] ya que presentan buenos resultados. No obstante, en sistemas alimentados directamente por imágenes, dichas redes son lentas debido al elevado número de entradas presente (tantas como píxeles en la imagen) y la alta interconectividad en su estructura interna. Ante este problema surgen las redes neuronales convolucionales (CNN), cuya estructura explota las propiedades locales de la imagen y reduce considerablemente el número de conexiones de la red, disminuyendo significativamente la carga computacional. Aunque su uso no está aún muy extendido, en los últimos años se han realizado prometedores estudios que aplican este tipo de redes a la clasificación de mamografías [9][11].

En este trabajo se presenta un sistema CAD de clasificación de mamografías mediante redes neuronales convolucionales que es capaz de distinguir entre cinco tipos distintos de mamografías en función de si la imagen presenta o no anomalías y en caso afirmativo su tipología (masas tumorales o microcalcificaciones) y su malignidad. Esto supone un gran reto frente a la mayoría de los sistemas actuales, que realizan una clasificación binaria de las imágenes, bien evaluando la tipología de las lesiones [6], bien identificando si se trata de una anomalía benigna o maligna [7]. Además, con el objetivo de evaluar la influencia de distintos parámetros, se han realizado diversas pruebas en las que la red ha sido entrenada utilizando distintas configuraciones en las que se varían el número de imágenes del conjunto de pruebas y su resolución y se han utilizado distintas técnicas para mejorar la calidad de las imágenes: ninguna, ecualización del histograma y transformada Wavelet.

2. Estructura del sistema

El sistema propuesto, siguiendo con la estructura habitual de este tipo de sistemas, consta de tres módulos: mejora de la calidad de la imagen, adaptación de las imágenes a los requisitos del clasificador y clasificación, tal y como se puede observar en la Figura 1.

2.1. Mejora de la calidad de la imagen

En este módulo se han implementado dos técnicas distintas con el fin de evaluar los resultados de cada una de ellas.

Por un lado se ha aplicado la ecualización del histograma

de las imágenes, un método sencillo pero muy efectivo que permite incrementar el contraste entre los distintos tejidos de la mama.

Por otro lado se ha realizado una descomposición mediante paquetes de wavelets que pretende minimizar la mayor cantidad de ruido posible sin alterar la información útil de la imagen, de forma similar a la realizada en [16]. En concreto, se aplica una descomposición espacial que traslada la imagen al dominio de la frecuencia donde se realiza una umbralización con el fin de eliminar las altas frecuencias, correspondientes a las componentes de ruido. A continuación se reconstruye la imagen a partir de las componentes de frecuencia filtradas.

2.2. Adaptación de las imágenes de entrada a los requisitos del clasificador

Dada la naturaleza del clasificador elegido, una CNN, que se alimenta directamente de imágenes, en este módulo las mamografías son divididas en sub-imágenes más pequeñas. Además, para que la red aprenda a diferenciar entre las distintas clases es necesario conocer la naturaleza de cada una de estas sub-imágenes en la etapa de entrenamiento.

Para ello, en primer lugar se aísla la región que contiene la mama y, en caso de contener algún tipo de anomalía, se separan el tejido sano y el anómalo. A continuación ambas regiones son divididas en sub-imágenes de 32x32 píxeles.

En este módulo también se ha implementado una segunda metodología de división inspirada en [11] con el fin de analizar cuál ofrece mejores resultados, y que difiere de la anterior en que una vez detectado el tejido anómalo, y de forma previa a la subdivisión, se hace un reescalado de la imagen de forma que el lado más pequeño de la región anómala ocupe 64 píxeles.

2.3. Clasificación

Este módulo consta de una red neuronal convolucional. Dicha red se compone de capas organizadas en dos etapas: la etapa de extracción de características y la etapa de clasificación [17].

La primera etapa está compuesta por una serie de capas convolucionales, encargadas de extraer parámetros locales de la imagen tales como bordes o texturas, además de

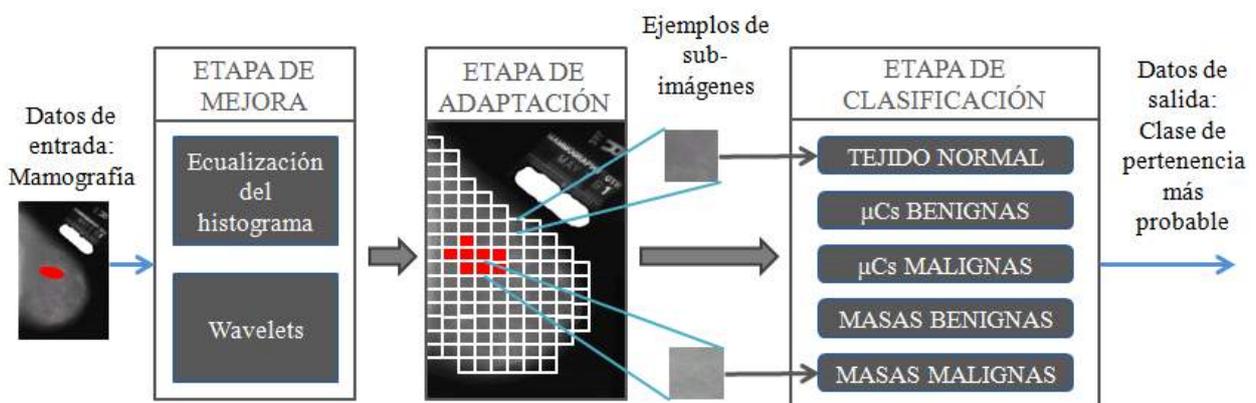


Figura 1. Esquema de la estructura del sistema, donde μCs es abreviatura de Microcalcificaciones

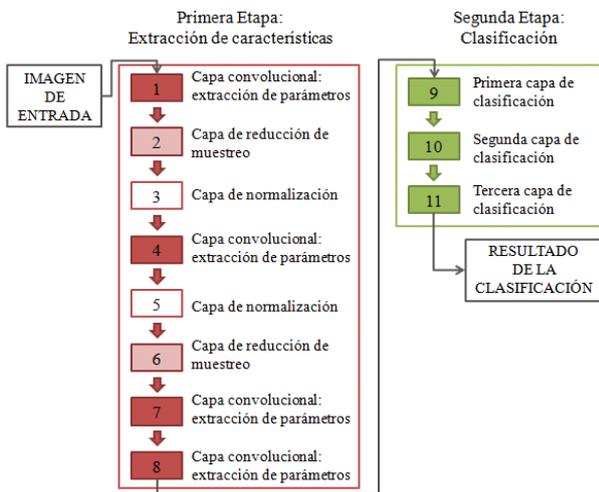


Figura 2. Configuración de las capas de la CNN.

capas de normalización y capas de reducción de muestreo (capas de fondo rojo, blanco y rosa respectivamente en la Figura 2).

La segunda etapa está compuesta por tres capas y clasifica la imagen de entrada en función de las características proporcionadas por la etapa anterior. La primera de dichas capas genera cinco salidas, a partir de las cuales la siguiente capa obtiene la probabilidad de la imagen analizada de pertenecer a cada una de las cinco clases posibles. La última capa genera el resultado de la clasificación, que corresponde a la clase más probable de pertenencia de la imagen analizada.

3. Pruebas

3.1. Base de Datos

Para entrenar y testear el sistema se ha utilizado la base de datos DDSM [15], en la que las anomalías han sido marcadas y etiquetadas por expertos. Dado el gran tamaño de esta base de datos se ha seleccionado un subconjunto de sus imágenes para realizar las pruebas. A la hora de diseñar este subconjunto se han tenido en cuenta diversos factores: variabilidad entre distintas mamografías, número de imágenes necesarias para el entrenamiento y que el número de imágenes en cada clase esté equilibrado para evitar la obtención de resultados sesgados.

Nombre de la prueba	Training set	Mejora	Adaptación
P. 1	1º	NO	1
P. 2	2º	NO	1
P. 3	1º	1	1
P. 4	2º	1	1
P. 5	1º	2	1
P. 6	2º	2	1
P. 7	1º	NO	2
P. 8	2º	NO	2
P. 9	1º	1	2
P. 10	2º	1	2
P. 11	1º	2	2
P. 12	2º	2	2

Tabla 1. Descripción de las pruebas realizadas

En concreto se han utilizado dos subconjuntos de imágenes: uno formado por 50 mamografías, 10 de cada tipo, denominado Primer training set y otro compuesto por 200 mamografías de cada tipo (Segundo training set).

3.2. Pruebas Realizadas

Con el objetivo de evaluar cada uno de los módulos se ha realizado un plan de pruebas con distintos entrenamientos de la red (ver Tabla 1) que cubre los siguientes aspectos:

- Comportamiento de la CNN funcionando de forma independiente al resto de los módulos.
- Influencia del subconjunto de imágenes seleccionado para el entrenamiento y la validación del sistema.
- Mejora aportada por los distintos métodos del módulo de mejora de la imagen. De aquí en adelante serán referidas como Mejora 1 la equalización del histograma y Mejora 2 la transformada Wavelet.
- Influencia del módulo de adaptación de imágenes a los requisitos del clasificador. De aquí en adelante se denominará Adaptación 1 al método sin reescalado y Adaptación 2 al método con reescalado.

3.3. Resultados

La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos al validar el sistema con cada una de las pruebas realizadas.

Estos resultados muestran que al aumentar el número de mamografías utilizadas para el entrenamiento, la precisión global disminuye. Esto no concuerda con los resultados que cabría esperar al aumentar el training set y puede deberse a la variabilidad entre sujetos.

Los resultados muestran que al realizar la equalización del histograma la precisión mejora ligeramente en comparación con las pruebas en las que se ha omitido la etapa de mejora. La precisión aumenta de forma considerable en las clases de masas benignas y malignas, mientras que en las de microcalcificaciones disminuye o se mantiene estable. Se confirma por tanto que la equalización del histograma constituye una mejora en la clasificación de masas tumorales.

Prueba	Precisión (%)					Total
	CB	MB	CM	MM	Normal	
P. 1	77	56	71	72	82	72,1
P. 2	66	41	50	47	56	53,6
P. 3	62	73	73	74	90	74,8
P. 4	50	55	53	50	75	56,9
P. 5	65	50	66	61	47	56,6
P. 6	33	40	36	39	41	38,1
P. 7	25	27	60	67	56	45,7
P. 8	40	33	26	50	46	40,0
P. 9	60	50	83	75	58	62,9
P. 10	36	37	32	44	49	40,3
P. 11	40	33	60	67	88	57,1
P. 12	42	44	37	44	94	52,7

Tabla 2. Precisiones de cada clase y totales obtenidas para cada una de las pruebas realizadas (CB: Calcificaciones benignas, MB: Masas Benignas, CM: Calcificaciones Malignas, MM: Masas malignas)

Por otro lado, al realizar una comparación entre los resultados obtenidos al aplicar paquetes de wavelets para mejorar las imágenes y los obtenidos sin la etapa de mejora, se obtienen resultados contradictorios en función del tipo de adaptación utilizada. Mientras que con la Adaptación 1 se aprecia una disminución de la precisión, con la Adaptación 2 se obtiene un aumento considerable. Esto puede explicarse por el hecho de que al reescalar las imágenes en la Adaptación 2, la transformada Wavelet elimine menor cantidad de información útil de la mamografía.

Por último, comparando la influencia de las dos adaptaciones, se observa que la Adaptación 1 presenta mejores resultados. La Adaptación 2 conlleva la generación de una cantidad menor de sub-imágenes debido al cambio de tamaño aplicado, lo que implica que se entrena la red con un conjunto de imágenes menor, repercutiendo en las precisiones obtenidas.

4. Conclusiones

El presente trabajo muestra un sistema novedoso en el campo de la clasificación de mamografías puesto que, pese a los buenos resultados de las redes neuronales convolucionales en análisis de imágenes, apenas han sido utilizadas en este ámbito. Además, se trata de un sistema ambicioso, puesto que realiza una clasificación de las imágenes en 5 tipos distintos, dando con ello un paso más allá de la tradicional clasificación binaria. Dada la complejidad de la clasificación propuesta, los resultados obtenidos son muy prometedores, alcanzando una precisión del 75%.

Asimismo, se ha realizado un extenso estudio acerca de la influencia de diversos factores en la clasificación, tales como el número de imágenes del conjunto de pruebas y su resolución o las técnicas de mejora de la calidad de las imágenes.

De este modo, este trabajo abre nuevas vías de estudio hacia la obtención de un sistema CAD de clasificación de imágenes mamográficas preciso y útil que permita ayudar al facultativo en la toma de decisiones, y por tanto mejorar las estadísticas de prevención y detección del cáncer de mama.

Referencias

[1] Página web de la World Cancer Research Fund International. <http://www.wcrf.org/int/cancer-facts-figures/data-specific-cancers/breast-cancer-statistics> (Consultada: Agosto 2015).

[2] Bovis, K. y Singh, S., Detection of masses in mammograms using texture features. *Proceedings of the 15th International Conference on Pattern Recognition*, vol.2, 2000, pp.267-270.

[3] Dominguez, A.R. y Nandi, A.K. Detection of masses in mammograms via statistically based enhancement, multilevel-thresholding segmentation, and region selection, *Computerized Medical Imaging Graphics*, vol. 32, No 4, 2008, pp. 304-315.

[4] Dabour, W., Improved Wavelet Based Thresholding for Contrast Enhancement of Digital Mammograms, *Proc. of*

the 2008 International Conference on Computer Science and Software Engineering, vol 4, 2008, pp 948-951.

[5] Tralic D, Bozek J, Grgic S. Shape Analysis and Classification of Masses in Mammographic Images using Neural Networks. *18th International Conference on Systems, Signals and Image Processing (IWSSIP)*. Zagreb, 2011, pp 1-5.

[6] Dheebea J, Singh NA, y Selvi ST. Computer-aided detection of breast cancer on mammograms: A swarm intelligence optimized wavelet neural network approach. *Journal of Biomedical Informatics*, vol 49, 2014, pp 45-52.

[7] Jasmine JSL, Govardhan A, Baskaran S. Microcalcification Detection in Digital Mammograms based on Wavelet Analysis and Neural Networks. *International Conference on Control, Automation, Communication and Energy Conservation*, Perundurai, 2009, pp 1-6 (ISBN:978-1-4244-4789-3).

[8] Sun Y, Babbs CF, Delp EJ. Normal mammogram classification based on regional analysis. *The 2002 45th Midwest Symposium on Circuits and Systems (MWSCAS-2002)*, West Lafayette, 2002, pp 375-8 (ISBN: 0-7803-7523-8).

[9] Rose DC, Arel I, Karnowski TP, Paquit VC. Applying Deep-Layered Clustering to Mammography Image Analytics. *Biomedical Science & Engineering Conference Annual (BSEC)*, Oak Ridge, 2010, pp 1-4 (ISBN: 978-1-4244-6713-6).

[10] Zhang W, Doi K, Giger ML, Wu Y, Nishikawa RM, Schmidt RA. Computerized detection of clustered microcalcifications in digital mammograms using a shift-invariant artificial neural network. *Medical Physics*, vol 21, No 4, 1994, pp 517-524.

[11] Agarwal V, Carson C. Using Deep Convolutional Neural Networks to Predict Semantic Features of Lesions in Mammograms. 2015.

[12] Vibha L, HarshaVardhan GM, K, Deepa SP et al. Classification of mammograms using decision trees. *10th International Database Engineering and Applications Symposium (IDEAS'06)*, Delhi, 2006, pp 263-6. (ISBN: 0-7695-2577-6).

[13] Cao A, Song Q, Yang X, Liu S. Mammographic mass detection by vicinal support vector machine. *IEEE International Joint Conference on Neural Networks*, vol 3, Singapore, 2004, pp 1953-1958 (ISBN: 0-7803-8359-1).

[14] Ayer T, Chen Q, Burnside ES. Artificial neural networks in mammography Interpretation and decision making. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*. Georgia, 2013, pp 11.

[15] Heath M, Bowyer K, Kopans D, Moore R, Kegelmeyer P. The Digital Database for Screening Mammography. *Proceedings of the Fifth International Workshop on Digital Mammography*, 2000, pp 212-218 (ISBN 1-930524-00-5).

[16] Ausin, M. Detección automatizada de microcalcificaciones en mamografía digitalizada utilizando paquetes de wavelets. *Proyecto de Fin de Carrera*, Madrid.

[17] Página web del tutorial "UFLDL Tutorial" de la Universidad de Stanford. <http://ufldl.stanford.edu/tutorial/>. (Consultada: Septiembre 2015).

Análisis de imágenes de resonancia magnética de difusión en próstata empleando los métodos de resolución multivariante de curvas

E. Aguado Sarrió¹, J.M. Prats Montalbán¹, R. Sanz Requena^{2,4}, L. Martí Bonmatí^{3,4}, A. Alberich Bayarri³, A. Ferrer¹

¹Grupo de Ingeniería Estadística Multivariante (GIEM), Universidad Politécnica de Valencia (UPV), Valencia, España, eragsar@etsii.upv.es jopramon@eio.upv.es

²Ingeniería Biomédica, Hospital Quirón Valencia, Valencia, España.

³Grupo de Investigación de imagen biomédica (GIBI230), Hospital Universitario y Politécnico la Fe, Valencia, España.

⁴Departamento de Radiología, Hospital Quirón Valencia, Valencia, España.

Resumen

Se han aplicado los métodos de resolución multivariante de curvas (MCR) a imágenes de resonancia magnética de difusión en próstata, *Diffusion-Weighted Magnetic Resonance Imaging (DW-MRI)* con el objetivo de modelar comportamientos asociados a procesos tumorales precoces en la próstata. Se proporcionan nuevos mapas de biomarcadores generados a partir de modelos quimiométricos de una interpretación clínica sencilla y de bajo coste computacional. Se han empleado diferentes aproximaciones basadas en fenómenos fisiológicos, validando los modelos de forma secuencial e incorporando el conocimiento "a priori" que se tiene del proceso en las restricciones del modelo MCR. Los resultados permiten validar la aproximación biexponencial en difusión, además de mostrar la capacidad de los modelos MCR para encontrar, caracterizar y localizar los comportamientos relacionados con la presencia de tumores precoces en la próstata.

1. Introducción

En la actualidad, la complejidad en la interpretación clínica de biomarcadores de imagen en el proceso de difusión, así como su elevado coste computacional, dificulta la aplicación de modelos realistas, tales como el "Intra-voxel Incoherent Motion" (IVIM) [1]. Habitualmente, la obtención de biomarcadores en difusión se reduce a modelos más simplistas, como el monoexponencial, que no es capaz de distinguir entre los comportamientos asociados a los procesos biológicos de desarrollo tumoral, y cuyos distintos niveles de combinación dan lugar a la potencial presencia del tumor. Por lo tanto, surge la necesidad de desarrollar de nuevos modelos y biomarcadores de fácil interpretación fisiológica, que no requieran de un elevado coste computacional que los haga inviables desde un punto de vista práctico.

En el estudio de las etapas precoces del desarrollo oncológico, dos de los principales indicadores del desarrollo de un proceso tumoral son la vascularización y el incremento de la densidad celular. Cuando un grupo de células en crecimiento presenta demandas de oxígeno y nutrientes anormalmente altas, el tejido reacciona creando nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) o desarrollando los ya existentes (neovascularización). Por otro lado, el proceso biológico asociado a un aumento de la densidad

celular que conlleva a la aglomeración celular en los tejidos se denomina celularización. La combinación de ambos procesos es lo que normalmente determina la presencia de un tumor precoz como un primer paso en la oncogénesis. Una manera de analizar esta combinación de procesos es por medio del estudio del proceso de difusión en los tejidos [2], físicamente asociado a la agitación térmica de las moléculas de agua en el interior del cuerpo humano. Cuando el tejido está altamente celularizado, las moléculas de agua presentan mayor restricción al movimiento debido a que disminuye el espacio intersticial y a la presencia de un mayor número de interfases de membrana celulares. Sin embargo, cuando el tejido se encuentra altamente vascularizado, las moléculas se encuentran en un espacio no restringido dentro de los vasos, y los movimientos son aleatorios.

El proceso de difusión se puede evaluar mediante una técnica de imagen por resonancia magnética denominada "Diffusion Weighted Magnetic Resonance Imaging" (DW-MRI). Esta técnica no invasiva permite la obtención de imágenes de alta resolución que son sensibles a los movimientos de las moléculas de agua dentro de los tejidos. La adquisición de imágenes va asociada a un parámetro conocido como valor-*b* [3,4]. La señal de la imagen asociada a cada píxel disminuye a medida que aumenta el valor-*b*. Esta atenuación de la señal depende de las características del tejido, siendo más rápida si el tejido se encuentra vascularizado (perfusión) y mucho más lenta si el tejido es muy celular (difusión pura).

Con el objetivo de modelar la caída de la señal, los espectros se pueden ajustar con diferentes expresiones o modelos matemáticos. El modelo más ampliamente utilizado en el ambiente clínico es el modelo monoexponencial de difusión [3].

$$\frac{S}{S_0} = e^{-b(ADC)} \quad (1)$$

Donde S_0 es el valor de la señal cuando el valor-*b* es igual a 0. El ADC "Apparent Diffusion Coefficient" es un parámetro que está directamente relacionado con la densidad celular, la permeabilidad de las membranas y la tortuosidad del espacio intersticial intracelular. El principal problema del modelo monoexponencial es que

no tiene en cuenta los dos mecanismos del proceso de difusión. Actualmente, una manera de solventar estos problemas es empleando un modelo más complejo, considerando dos comportamientos, difusión rápida o perfusión (D); y lenta o difusión pura (D^*), ponderados mediante un nuevo parámetro llamado fracción vascular (f). Este modelo también es conocido como “*Intra-voxel Incoherent Motion*” (IVIM) [1].

$$\frac{S}{S_0} = f \cdot e^{-b \cdot D} + (1 - f) \cdot e^{-b \cdot (D^* + D)} \quad (2)$$

El inconveniente de estos modelos es que los biomarcadores de imagen proporcionados no tienen una interpretación fisiológica directa, sino que se obtienen como valores intra-píxel asociados a un determinado grado de atenuación exponencial. Una posible alternativa para analizar los comportamientos de difusión es mediante la aplicación de modelos estadísticos multivariantes, con los que es posible aprovechar globalmente la relación entre píxeles, en lugar de tener que aproximar las curvas o modelos píxel a píxel. Cuando se trabaja con imágenes, la aplicación de este tipo de modelos se la conoce como Análisis Multivariante de Imágenes (MIA) [5,6]. La principal característica de este tipo de modelos es la capacidad de estudiar el conjunto completo de píxeles al mismo tiempo, extrayendo las fuentes de variabilidad causadas por las estructuras latentes presentes en las imágenes. De esta forma, estos modelos pueden ayudar a proporcionar nuevos modelos no-paramétricos que permitan explicar los principales comportamientos de difusión extraídos a partir de las imágenes DW-MRI. También pueden ser útiles para comprobar la adecuación de las diferentes aproximaciones propuestas en la literatura (mono y biexponencial).

La principal técnica de análisis multivariante es el modelo conocido como PCA (Análisis de Componentes Principales) [7], el cual permite obtener componentes principales ortogonales a partir de las estructuras latentes presentes en el conjunto de datos. Sin embargo, cuando se aplica PCA a los datos de DW-MRI:

- No se puede introducir información *a priori* en el modelo.
- La ortogonalidad de los componentes principales es una limitación para modelar los diferentes comportamientos de difusión, los cuales no tienen por qué ser necesariamente ortogonales.

Con el objetivo de evitar estos problemas, es posible emplear técnicas más flexibles, como es el caso del modelo “*Resolución Multivariante de Curvas*” o MCR, el cual ha sido aplicado anteriormente a otro tipo de imágenes de resonancia magnética (Dynamic Contrast Enhanced-MRI) [8].

Los objetivos de este trabajo son:

- 1) Explorar la capacidad de los métodos MCR para modelar los diferentes comportamientos asociados al proceso de difusión a partir de imágenes DW-MRI, ayudando a los especialistas a detectar y caracterizar tumores precoces en la próstata.
- 2) Validar la adecuación de los diferentes modelos

teóricos más comúnmente aplicados en la práctica clínica, mediante la incorporación secuencial de restricciones en el algoritmo MCR empleando el conocimiento “*a priori*” que se tiene sobre el proceso de difusión.

- 3) Proporcionar nuevos biomarcadores de imagen de interpretación clínica directa, que permitan complementar a los más comúnmente usados en el diagnóstico clínico.

2. Materiales y Métodos

La base de datos consiste en series de imágenes de difusión (DW-MRI) obtenidas en un grupo de 40 pacientes con carcinoma de próstata. Las imágenes para cada paciente se toman a lo largo de 12 cortes, cubriendo toda la zona de la próstata. Para cada corte, las imágenes se adquieren con una resolución de 192x192 píxeles para los 6 valores- b (0, 50, 200, 400, 1000 y 2000 s/mm²) y se montan en una matriz 3D (192x192x6) (ver **figura 1 izq.**).

Con el objetivo de analizar las imágenes mediante modelos estadísticos multivariantes basados en estructuras latentes, la matriz 3D se desplegó en una matriz 2D para cada corte, dejando los valores de b en columnas (36.864x6). Esta matriz contiene todos los píxeles para cada corte en filas y los diferentes valores de b en columnas (ver **figura 1 der.**).

Se han construido modelos locales para cada uno de los casos analizados, eliminando los píxeles que no pertenecen a la zona de la próstata con la implementación de máscaras manuales suministradas por los médicos. De esta forma, la interpretación de los resultados es sensiblemente más precisa y el tiempo de cálculo computacional se reduce de manera considerable.

Como ya se ha comentado, en el proceso de difusión existen dos fenómenos diferentes, uno relacionado con la difusión lenta, y asociado a la celularización, y la difusión rápida, asociada a la vascularización. De esta manera, asumiendo que la señal del espectro en un píxel determinado puede expresarse como la suma ponderada de diferentes funciones exponenciales decrecientes, se propone el siguiente modelo:

$$S_j = \sum_{i=1}^I C_{ij} (\alpha_i e^{-\beta_i b}); \alpha_i, \beta_i, C_{ij} \geq 0 \quad (3)$$

Donde I es el número de funciones exponenciales consideradas.

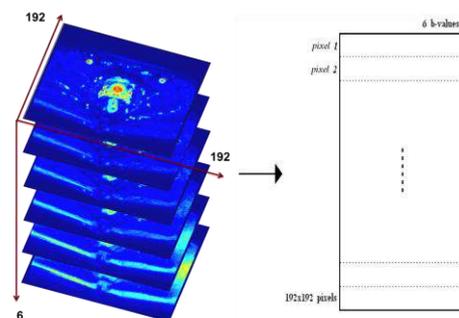


Figura 1. Matriz 3D para un corte de un caso concreto y su correspondiente matriz desplegada.

Las principales diferencias con los modelos teóricos mostrados en la **Sección 1** son la ausencia de normalización de los espectros (empleando S en lugar de S/S_0) y la independencia entre los coeficientes α_i , que no están forzados a sumar 1.

Para analizar este conjunto de datos, se ha empleado Resolución Multivariante de Curvas en su versión de Mínimos Cuadrados Alternados (MCR-ALS) [9-12], debido a su capacidad para obtener comportamientos no ortogonales y modelado de fenómenos aditivos.

$$S = CD' + E \quad (4)$$

En los estudios de difusión, la matriz S contiene la señal del espectro s para cada píxel en sus filas, D' es una matriz que contiene en sus filas cada uno de los comportamientos modelados, C contiene en sus filas la contribución relativa de cada comportamiento modelada para cada píxel de la imagen, y E es la matriz de residuos.

MCR-ALS se describe la evolución de las medidas experimentales multicomponentes a través de sus contribuciones en forma de componentes puros [13], sin imponer restricciones estrictas (como ortogonalidad en los comportamientos modelados) a partir de un punto de vista químico, físico o biológico. Sin embargo, el proceso iterativo puede proporcionar infinitas soluciones para la misma base de datos. Este problema se puede solventar imponiendo otro tipo de restricciones relacionadas con el conocimiento *a priori* que se tiene del proceso, con lo que es posible obtener soluciones más fáciles de interpretar que suelen ser únicas cuando las restricciones introducidas bajo las hipotéticas asunciones son relativamente buenas [14]. En el caso del proceso de difusión, las siguientes restricciones se pueden incorporar sucesivamente con el objetivo de validar los modelos teóricos más comúnmente aplicados en la práctica clínica (ver **sección 1**).

- 1) Restricciones de no negatividad, ya que los comportamientos modelados y su contribución relativa en un píxel tienen que ser no negativos.
- 2) Restricciones de unimodalidad cuando solo se admite un único máximo o mínimo en la evolución de los comportamientos, debido al hecho de que los comportamientos modelados son monótonos decrecientes.
- 3) Restricciones de forma con el objetivo de obtener una expresión matemática específica para los comportamientos modelados.

Incluyendo estas restricciones, el modelo puede seleccionar la solución con mayor significado fisiológico, descartando las que no tengan interpretación clínica. Ésta es una clara ventaja sobre PCA cuando la interpretabilidad de la solución es lo más importante, ya que la ortogonalidad de las variables latentes impuesta por PCA hace que la interpretación clínica sea mucho más complicada.

Siguiendo un procedimiento secuencial de creación de modelos MCR donde se van introduciendo las mencionadas restricciones paso a paso, se llega a obtener finalmente un modelo MCR con restricciones de no

negatividad en las matrices D y C y restricciones de forma en la matriz D (con dos componentes, biexponencial).

MCR puede ayudar a los médicos a localizar zonas potencialmente afectadas por un tumor, ya que los biomarcadores obtenidos están directamente ligados a los dos procesos biológicos de atenuación de la señal: rápida (vascularización o perfusión) y lenta (celularización o difusión pura), que además son comunes a todos los píxeles, minimizando así problemas de incertidumbre en las estimaciones. Además, la suma de residuos al cuadrado (RSS) en forma de mapa se puede emplear como método de validación, ya que muestran los píxeles que no se ajustan bien con el modelo.

Todos los cálculos con MCR han sido hechos en Matlab (The Mathworks Inc., Natick, MA, USA) [12,15].

3. Discusión de Resultados

El modelo monoexponencial es demasiado simple cuando se intenta obtener todos los comportamientos presentes en las imágenes, siendo el porcentaje de explicación (R^2) inferior al 93% en todos los casos estudiados. Sin embargo, el modelo biexponencial propuesto se ha mostrado como una aproximación válida para modelar el proceso de difusión (ver **figura 2**), dada su interpretabilidad y porcentaje de explicación, superior al 98-99%. Este modelo se ha ido mejorando secuencialmente comparando los nuevos resultados proporcionados al introducir cada nueva restricción con el modelo anterior (**figura 3**).

- **Modelo 1:** Restricciones de no-negatividad.
- **Modelo 2:** Restricciones de no-negatividad más unimodalidad en los comportamientos.
- **Modelo 3:** Restricciones de no-negatividad más forma exponencial en los comportamientos.

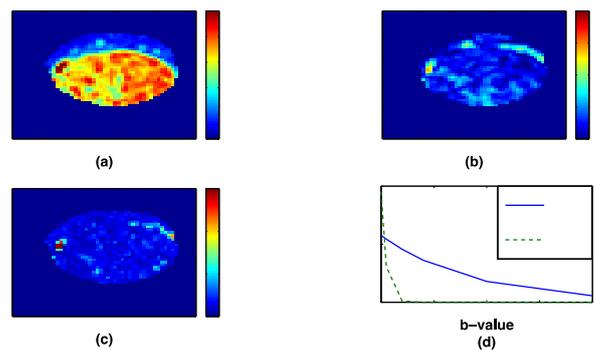


Figura 2. Modelo MCR (99% de variabilidad explicada). (a) Mapa de scores asociado a $d1$ (difusión lenta, línea sólida azul). (b) Mapa de scores asociado a $d2$ (difusión rápida, línea verde punteada). (c) Mapa de RSS (residuos al cuadrado). (d) Comportamientos proporcionados por el modelo MCR, $d1$ (difusión lenta), $d2$ (difusión rápida).

Estas conclusiones están directamente relacionadas con el conocimiento que se tiene sobre los comportamientos de difusión en los tejidos, donde se prefiere la aproximación biexponencial del modelo IVIM para explicar el comportamiento de las moléculas de agua en tejidos

tumorales en situaciones clínicas, diferenciando, no solo el componente celular, sino también el comportamiento microvascular.

De esta manera, el procedimiento propuesto proporciona resultados que complementan a los obtenidos mediante el modelo IVIM, empleando los mapas de distribuciones de scores como un método de cuantificación de cada comportamiento almacenado en la matriz **D** para cada píxel. El modelo teórico IVIM (ecuación 2) y el obtenido con MCR (ecuación 3) presentan cuatro diferencias básicas:

- 1) La normalización de los espectros (S/S_0).
- 2) El hecho de que los dos factores que ponderan a la exponencial no tienen por qué ser necesariamente complementarios. El modelo IVIM pondera los comportamientos mediante la fracción vascular (f) y $(1-f)$.
- 3) La interpretación de los biomarcadores de imagen en IVIM no es directa, mientras que los proporcionados por MCR está ligada a la intensidad en cada píxel de cada uno de los comportamientos fisiológicos del proceso de difusión.
- 4) El ajuste del modelo IVIM se hace píxel a píxel, sin que se aproveche la información global que puede obtenerse mediante modelos quimiométricos.

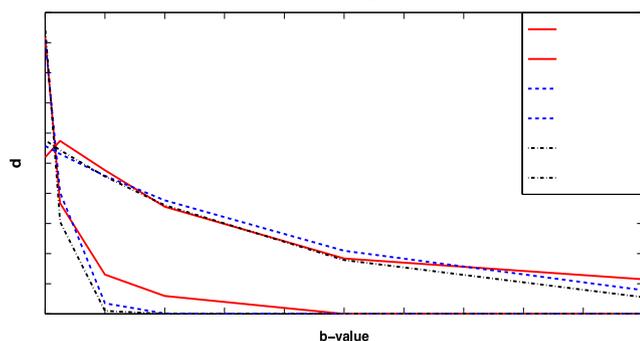


Figura 3. Comparación de los 2 comportamientos (caída rápida y caída lenta) proporcionados por los 3 modelos MCR, donde se van incorporando secuencialmente nuevas restricciones dentro del algoritmo. Modelos 1 (líneas sólidas rojas), 2 (líneas azules punteadas) y 3 (líneas negras punteadas).

4. Conclusiones

A lo largo de este trabajo se ha validado la adecuación de las aproximaciones teóricas exponenciales para el proceso de difusión con modelos basados en datos, incorporando conocimiento *a priori*. El modelo monoexponencial se ha descartado, mientras que el modelo biexponencial IVIM se ha discutido.

Este trabajo muestra la capacidad de los modelos MCR para extraer los comportamientos con significado fisiológico, incorporando el conocimiento *a priori* del proceso. Además, MCR permite localizar y graduar directamente la intensidad de estos comportamientos.

Referencias

- [1] D. Le Bihan, et al., MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders, *Radiology*. 161 (1986) 401–407.
- [2] E.M. Charles-Edwards, N.M. De Souza, Diffusion-weighted magnetic resonance imaging and its application to cancer, *Cancer Imaging*. 6 (2006) 135–143.
- [3] D. Le Bihan, Molecular diffusion nuclear magnetic resonance imaging, *Magn. Reson. Q.* 7 (1991) 1–30.
- [4] A. Lemke, B. Stieltjes, L.R. Schard, F.B. Faun, Toward an optimal distribution of b values for intravoxel incoherent motion imaging, *Magn. Reson. Imaging*. 29 (2011) 766–776.
- [5] P. Geladi, H. Grahn, *Multivariate Image Analysis*, Wiley, Chichester, England, 1996.
- [6] J.M. Prats-Montalbán, A. Ferrer, A. de Juan, *Multivariate image analysis: a review with applications*, *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 107 (2011) 1–23.
- [7] J.E. Jackson, *A User's Guide to Principal Components*, Ed. Wiley, New York, 1991.
- [8] J.M. Prats-Montalbán, R. Sanz-Requena, L. Martí-Bonmatí, A. Ferrer, Prostate functional magnetic resonance image analysis using multivariate curve resolution methods, *J. Chemometrics* 28 (2014) 672–680.
- [9] R. Tauler, A.K. Smilde, B.R. Kowalski, Selectivity, local rank, threeway data analysis and ambiguity in multivariate curve resolution, *J. Chemometrics*. 9 (1995) 31–58.
- [10] R. Tauler, *Multivariate curve resolution applied to second order data*, *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 30 (1995) 133–146.
- [11] A. De Juan, R. Tauler, *Chemometrics applied to unravel multicomponent processes and mixtures: revisiting latest trends in multivariate resolution*, *Anal. Chim. Acta.* 500 (2003) 195–210.
- [12] J. Jaumot, R. Gargallo, A. De Juan, R. Tauler, A graphical user-friendly interface for MCR-ALS: a new tool for multivariate curve resolution in MATLAB, *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 76 (2005) 101–110.
- [13] A. De Juan, R. Tauler, *Multivariate curve resolution (MCR) from 2000: progress in concepts and applications*, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 36 (3-4) (2006) 163–176.
- [14] J. Jaumot, R. Tauler, MCR-BANDS: a user friendly MATLAB program for the evaluation of rotation ambiguities in Multivariate Curve Resolution, *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 103 (2010) 96–107.
- [15] *Multivariate curve resolution homepage*, <http://www.mcrals.info/>.

Segmentación de músculos mediante el uso de histogramas y maximización de flujo

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

Dpto de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad de Sevilla, Camino de los

Descubrimientos, s/n. 41092, Sevilla España, {jperez2@us.es, anulag89@gmail.com, cserrano@us.es, bacha@us.es}

Resumen

En este trabajo se describe el desarrollo de una aplicación para la segmentación automática de tejido muscular estriado en tomografía computerizada. Esta tarea es complicada debido a que la intensidad (valores Hounsfield) de los músculos suele solapar con la de los tejidos circundantes (órganos, e incluso hueso). Por otra parte, la segmentación de tejido muscular es una tarea que requiere un elevado tiempo debido a la esencia 3D de los volúmenes TAC. Por lo general, esta segmentación se aplica de forma manual o automática a algún tipo de músculo en concreto. En este trabajo, el algoritmo propuesto es general, automático y rápido. El proceso de desarrollo se basa en cuatro etapas fundamentales, una etapa de preprocesamiento, con el fin de no tener en cuenta valores Hounsfield que no se corresponden con el músculo; una etapa de cálculo de construcción de imagen de distancia a un histograma modelo; una etapa principal de segmentación utilizando un algoritmo Max-Flow continuo y una etapa final de post-procesamiento para mejorar el resultado de la segmentación. Se han calculado diferentes coeficientes como DICE, especificidad, sensibilidad y valor predictivo (VPP) para evaluar el rendimiento de nuestra aplicación. Se han utilizado 30 imágenes CT (2D) obtenidas de 30 pacientes diferentes. Se obtuvieron valores superiores a 0.9 en la mayoría de los parámetros.

1. Introducción

La visión por ordenador y el análisis de imágenes constituyen herramientas importantes que pueden ser usadas en numerosas áreas [1]. En el procesamiento de imágenes médicas, la segmentación es una herramienta muy importante para el análisis de estructuras anatómicas y tipos de tejido, así como para obtener la distribución espacial de las regiones funcionales, proporcionando una visión más detallada de la anatomía del cuerpo humano. Además de ser una técnica muy importante para el diagnóstico, planificación y tratamiento de numerosas enfermedades, entre ellas el cáncer.

La segmentación de tejidos musculares es difícil. Sin hacer distinción entre los distintos tipos de tejidos musculares, hay que hacer notar que el músculo también está presente en algunos órganos o estructuras (como corazón, vejiga, útero, intestino, etc.). Además, los distintos tipos de músculos presentan ciertas diferencias en densidades y, por tanto, diferentes valores Hounsfield. Esto implica la superposición de valores con los correspondientes a otro tipo de tejidos tales como huesos (esponjoso), grasa y algunos órganos. En la Fig. 1 se muestra una imagen CT donde se pueden apreciar diferentes densidades en diferentes tejidos.

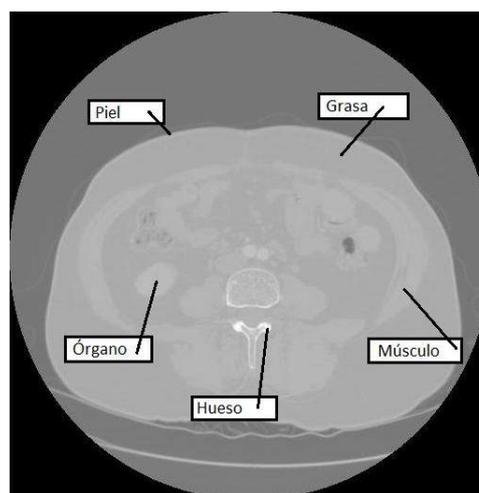


Figura 1. Corte 2D proveniente de un TAC de paciente. En la imagen se muestran diferentes estructuras en las que se pueden apreciar diferentes densidades (debido a la diferencia en valores Hounsfield)

Una segunda dificultad en la segmentación de tejido muscular es la esencia 3D de los volúmenes CT y por tanto las estructuras musculares a procesar. Por lo tanto, se requieren algoritmos rápidos y automáticos a fin de obtener la segmentación con reducidos tiempos de computación.

La segmentación de tejido muscular ha sido abordada por numerosos autores [2]-[6]. Por lo general, esta segmentación se implementa de forma manual o con algoritmos que usan técnicas simples tales como umbralización y que, por lo tanto, proporcionan malos resultados. Otros autores prefieren algoritmos más utilizados en el estado del arte como son aquellos basados en conjuntos de nivel (Level Sets) [7], contornos activos (Active Contours) [5], y metodologías basadas en técnicas de relajación convexa y maximización de flujo (Max-Flow, Continuous Convex Relaxation) [8]. Además, la técnica de segmentación utilizada suele ser muy específica de algún tipo de músculo en concreto [2][4][6]. Esta falta de generalización es un problema, ya que los radiólogos prefieren no tener que considerar diferentes métodos de segmentación según sean las regiones a analizar. Por lo tanto, interesa un método general y adecuado que sea capaz de segmentar un amplio número de tejidos musculares en poco tiempo sin considerar su número ni su localización.

En el presente trabajo se propone el desarrollo de un algoritmo de segmentación en 3D de músculos (estriado

principalmente) en imágenes adquiridas mediante un equipo de tomografía computerizada (CT) y que son almacenadas en el formato DICOM. Dicho enfoque está basado en el cálculo, en primer lugar, de una imagen de distancias de un histograma local para cada píxel a un histograma modelo del músculo. A continuación, la segmentación se llevará a cabo utilizando técnicas de relajación convexa [8], en la que la segmentación puede plantearse como un problema de minimización de una energía.

El objetivo final será la reconstrucción 3D de la estructura muscular y así mejorar la visualización, diagnóstico, planificación y tratamiento médico en su caso.

2. Material y Métodos

Para el desarrollo de este trabajo se ha utilizado una base de datos compuesta por 30 imágenes 2D extraídas de volúmenes TAC provenientes de distintas secciones del cuerpo y de diferentes pacientes. La información de las imágenes de la base de datos utilizada se encuentra en escala de grises, donde los valores de los píxeles oscilan por lo general entre -2000 y 3000 (valores Hounsfield). El equipo de adquisición fue una máquina de TAC helicoidal de Medical Systems que genera cortes de 512x512 píxeles de 0.781 mm/píxel y 7 mm de espesor.

La metodología introducida consta básicamente de cuatro etapas: preprocesamiento, cálculo de imagen de distancia de histograma, segmentación y postprocesamiento morfológico.

2.1. Preprocesado

La etapa de preprocesado consiste básicamente en una etapa de umbralización y de escalado para producir un aumento de contraste en las imágenes.

La etapa de umbralización se realiza a fin de no tener en cuenta los valores que no se corresponden a los músculos y para obtener un mayor contraste. Los umbrales elegidos en esta etapa fueron elegidos escogiendo el valor mínimo y máximo presentes en las estructuras musculosas en 10 de las imágenes segmentadas manualmente y supervisadas por un experto. Los valores obtenidos fueron 950 y 1160.

En segundo lugar, la imagen es escalada de modo que el valor máximo de la imagen umbralizada es escalado a '1'. Esta imagen se ha llamado *Inorm*. Esta operación conjunta de umbralización y escalado posterior permite una mejora de contraste de la imagen.

Para no perder generalización, los valores mínimos y máximos utilizados como umbrales durante las operaciones de preprocesado son comunes a todos los volúmenes que se han utilizado.

2.2. Cálculo de Imagen de Distancia a histograma

Las 30 imágenes 2D obtenidas de 30 volúmenes TAC considerados en este trabajo se han separado en dos conjuntos. El primero de ellos está formado por 10 imágenes y ha sido utilizado como conjunto de imágenes de entrenamiento. El segundo conjunto, formado por 20 imágenes ha sido utilizado para testear el algoritmo.

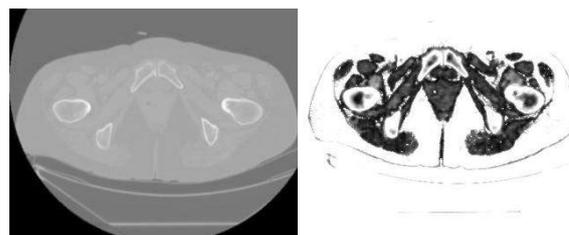


Figura 2. La imagen a la izquierda es la imagen inicial TAC. La segunda imagen, a la derecha corresponde a la imagen distancia HDI.

El histograma modelo que requiere esta etapa ha sido calculado a partir de la segmentación manual de tejido muscular estriado por un experto del conjunto de imágenes de entrenamiento. Estas imágenes han sido preprocesadas antes del cálculo de histograma siguiendo los pasos descritos en el anterior apartado.

Una vez obtenido el histograma modelo, se ha calculado un histograma local con una vecindad de tamaño 21x21 para cada píxel (i,j) de las imágenes de test. La distancia de este histograma local al histograma modelo es calculada utilizando la distancia χ^2 [9] y el resultado es asignado a la posición (i,j) en una nueva imagen llamada imagen de distancia de histograma (*HDI*, *Histogram Distance Image*). Esta imagen de distancias será próxima a cero en las zonas con tejido muscular y será alta en las zonas de tejido que no se correspondan con músculo.

En la Fig. 2 se muestra un ejemplo del cálculo de la imagen *HDI*. La imagen a la izquierda se corresponde con una imagen TAC de un corte de la pelvis de una mujer. En ella se pueden apreciar ciertos músculos como son el músculo sartorio, los músculos obturadores (externo e interno), músculo glúteo mayor, músculo psoas y el músculo esfínter de la uretra. La imagen a la derecha corresponde a la imagen distancia *HDI*. Nótese como las zonas correspondientes a músculo tienen valores más pequeños que aquellas que no lo son.

2.3. Algoritmo de Segmentación

El algoritmo de segmentación está basado en la minimización de una energía creada a partir de la creación de 2 funciones de coste. La información de gris (valores Hounsfield) y la imagen de distancias de histograma *HDI* son combinadas para crear una función de coste *CIT* (cost Image Term) del siguiente modo:

$$CIT = ((1 - Inorm) + HDI)/2 \quad (1)$$

El primer término de la expresión (a la izquierda) utiliza información de intensidad. Los píxeles correspondientes al músculo tendrán valores cercanos a '1'. Por el contrario, los píxeles que no correspondan a los músculos tendrán valores cercanos a '0'. Es por ello que se utiliza $1 - Inorm$ en lugar de *Inorm* directamente porque queremos valores bajos en los tejidos musculares.

Algo similar ocurre con el término más a la derecha de la Eq. (1). La distancia al histograma modelo en píxeles correspondientes a músculo debe ser cercano a 0 mientras

que debería estar cerca de '1' en píxeles que pertenecen a otra clase de tejidos.

El algoritmo que utilizaremos en el presente trabajo fue propuesto por J. Yuan et al. [8] y resuelve el problema de segmentación de imágenes, formulando el problema de mínimo corte en grafos mediante una formulación basada en maximización de flujos en el dominio continuo (Continuous Max-Flow). Yuan et al. [8] formuló el problema de segmentación tal y como sigue:

$$\min_{u(x)} \int (u)Cs \, dx + \int (1-u)Ct \, dx + \int C(x) |\nabla u| \, dx \quad (2)$$

En esta expresión, $u(x)$ es la función de etiquetado e indica si el punto x pertenece a la región a segmentar.

Cs y Ct se llaman términos regionales. Si el problema de minimización está bien definido, la función de coste Cs debería tomar valores bajos dentro de tejido muscular y valores altos fuera. Del mismo modo, Ct debe tener valores bajos fuera de los músculos y valores altos dentro de ellos. El término más a la derecha de la Eq. (2) es un término de regularización y $C(x)$ es una función de penalización. $|\nabla u|$ es el gradiente absoluto de la función de etiquetado $u(x)$. En el algoritmo propuesto aquí, el término regional Cs , es el término CIT calculado a través de la Eq. (2). De este modo, en nuestro algoritmo, los términos Cs y Ct se calculan de la siguiente manera:

$$Cs = CIT; Ct = 1 - CIT \quad (3)$$

Téngase en cuenta que con estas expresiones forzamos a que Ct sea baja fuera de los músculos y alta dentro de ellos, tal como es requerido para la minimización de la Eq. (2).

$C(x)$ en la Eq. (2) es un término de penalización y depende del gradiente de CIT a lo largo de la superficie, de modo que si el gradiente es alto no se penalizará, permitiendo bordes largos sólo si estos son muy intensos.

La función de penalización $C(x)$ se calcula como sigue:

$$C(x) = \frac{bg}{1+ag |\nabla CIT(x)|} \quad (4)$$

donde los parámetros ag y bg controlan la importancia del gradiente en la función de penalización. En nuestra aplicación los valores ag y bg se han obtenido empíricamente y sus valores son 10 y 5 respectivamente.

La minimización de la expresión descrita mediante la Eq. (2) proporciona una función de etiquetado continua $u(x)$ que puede ser discretizada a '0' y '1' utilizando una umbralización simple. Tras la segmentación, operaciones morfológicas de dilatación y erosión son implementadas para proporcionar una segmentación más suave y exacta.

3. Resultados

En nuestra aplicación se han utilizado 30 imágenes extraídas de diferentes volúmenes TAC. Las imágenes corresponden a pacientes distintos .

Para poder medir la eficiencia de la técnica de segmentación, el conjunto de las 20 imágenes que componen el conjunto de test han sido segmentadas manualmente por un experto (músculo estriado). La

	Histograma+ MaxFlow	DRLSE	Umbralización
PPV	0,8557	0,6179	0,7459
Sensibilidad	0,9043	0,9795	0,8734
Especificidad	0,9774	0,9008	0,9551
DICE	0,8743	0,7578	0,7979
Jaccard	0,7848	0,6100	0,6734
Tiempo Computacional (s)	133,1890	2502s	0,0033

Tabla 1. Resultados obtenidos mediante los distintos algoritmos.

segmentación manual ha sido utilizada como ground-truth y se han calculado diferentes parámetros para medir la eficiencia de la segmentación implementada. Estos parámetros miden la efectividad de la técnica de segmentación en base a los verdaderos positivos (píxeles que han sido marcados como músculo y realmente lo son), verdaderos negativos (píxeles marcados como no músculo y realmente no lo son), falsos positivos (píxeles marcados como músculo que realmente no lo son) y falsos negativos (píxeles que son músculo pero que han sido marcados como negativos). Los parámetros objetivos de eficiencia calculados en este trabajo son: PPV (Positive Predicted Value), Sensibilidad, Especificidad y Coeficiente Dice.

El algoritmo presentado aquí se ha comparado con las siguientes técnicas:

3.1. Umbralización

Este método es el preferido por la mayoría de especialistas por su rapidez y sencillez. Sin embargo los resultados son peores debido a la analogía en niveles Hounsfield de músculos con resto de estructuras. Se han utilizado los dos umbrales (inferior y superior) que proporcionaban los mejores resultados en segmentación. Estos valores fueron: 950 (umbral inferior) y 1150 (umbral superior).

3.2. Level Sets

La técnica de Level-Sets es una técnica muy utilizada en segmentación para encontrar formas y figuras en imágenes. En nuestra implementación hemos comparado nuestro algoritmo con la implementación de Level Sets DRLSE (Distance Regularized Level Set Evolution), desarrollado por Li en [7]. El algoritmo de Li dispone de varios parámetros configurables, de los cuales sólo vamos a usar los siguientes: el parámetro que hace variar el área (α) y el que hace variar el perímetro (λ). El principal problema encontrado con esta implementación es el alto tiempo de computación cuando el tamaño de las imágenes o el número de regiones a segmentar son elevados.

En la Tabla 1 se muestran los valores obtenidos para las 20 imágenes evaluadas.

En algunas de las imágenes se han obtenido valores relativamente bajos utilizando nuestro algoritmo debido a la presencia de músculo liso que está presente en diferentes estructuras y órganos de nuestro cuerpo y que no había sido segmentado manualmente durante la creación de la ground-truth, produciendo en algunos casos

valores de segmentación bajos ya que el algoritmo sí que es capaz de segmentar estos tejidos. Los músculos lisos, presentes en numerosos órganos como corazón, hígado, páncreas, intestino, estómago, bazo... presentan un histograma muy similar o igual al de los músculos estriados.

La Fig. 3 muestra los resultados obtenidos para dos imágenes diferentes. La primera fila muestra las imágenes TAC originales. Las filas b, c y d muestran los resultados obtenidos por cada algoritmo (Level Sets, Umbralización y el algoritmo aquí descrito respectivamente) mediante regiones azules. El contorno rojo muestra la segmentación manual ground truth. Como puede comprobarse el algoritmo propuesto en este trabajo segmenta mejor las regiones que los otros dos algoritmos.

4. Conclusiones

En este trabajo se ha propuesto un algoritmo automático para la segmentación de estructuras musculosas estriadas. La segmentación de tales estructuras es una tarea complicada debido a que éstas presentan intensidades superpuestas con los tejidos circundantes. El algoritmo propuesto combina información de nivel de gris e información estadística extraída de histogramas e implementa a continuación una segmentación utilizando el algoritmo *Continuous Max-Flow* [8] propuesto por Yuan et al.

Este algoritmo ha sido validado con 20 imágenes 2D de TAC de imágenes provenientes de distintas secciones del cuerpo y de distintos pacientes. Se han calculado varios parámetros para medir su eficacia. Los resultados obtenidos son prometedores, y tienen que ser analizados bajo el supuesto de que la segmentación exacta de los músculos es una tarea difícil, incluso para un experto debido a sus fronteras difusas (principalmente para músculo liso). Por tanto, sería conveniente que diferentes expertos supervisaran la segmentación para una mejor validación del algoritmo. Esta será una tarea para el futuro. Del mismo modo, sería deseable una validación con un número mayor de casos.

El algoritmo proporciona mejores resultados de segmentación que los algoritmos con los que ha sido comparado: umbralización y level-sets. En implementaciones futuras sería conveniente acelerar la creación de la imagen de costes, que combina la información de nivel de gris y la información estadística, para minimizar el tiempo total de segmentación.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos P11-TIC-7727 y PI-0223-2012 (Junta de Andalucía, España).

Referencias

- [1] Haralick R.A., Shapiro L. Computer and Robot Vision. USA. Vol 1. Addison-Wesley Publishing Company, 1992 (ISBN: 0201569434).
- [2] Ganesan K, Acharya UR, Chua KC, Min LC, Abraham KT. Pectoral muscle segmentation: A review. *Comput Methods Programs Biomed*, vol. 110(1), 2013, pp 48-57.

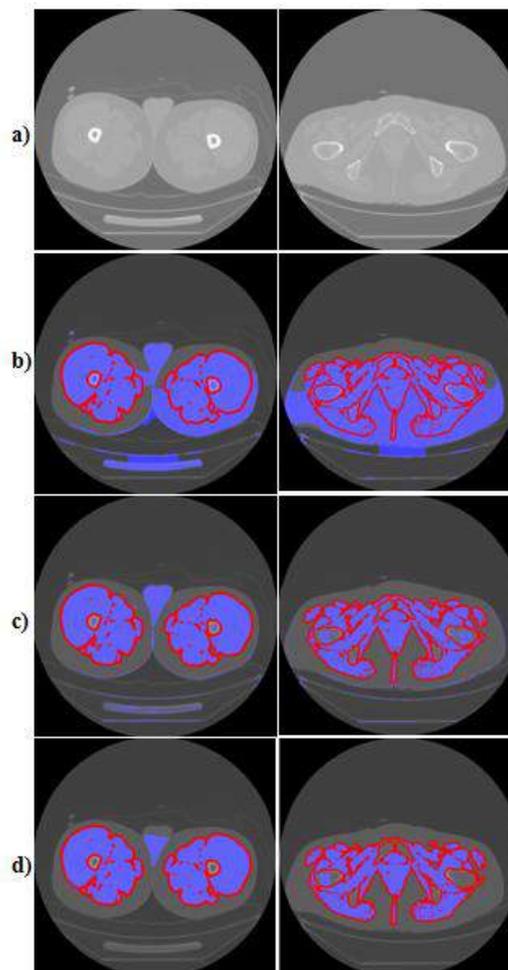


Figura 3. Resultados obtenidos aplicando los 3 diferentes algoritmos a 2 imágenes. El contorno rojo representa la segmentación manual ground truth. Las regiones azuladas corresponden a la salida de cada algoritmo: Fila b): level Sets. Fila c): Umbralización. Fila d) Algoritmo desarrollado.

- [3] Chung, H., Cobzas, D., Lieffers, J., Birdsel, L., Baracos, V. Automated segmentation of muscle and adipose tissue on ct images for human body composition analysis. *In Medical Imaging: Image Processing. Proc. SPIE*, vol. 7261, 2009.
- [4] Raba, D., et al. Breast Segmentation with Pectoral Muscle Suppression on Digital Mammograms, *Springer-Verlag, Berlin Heidelberg*, 2005, pp 471-478.
- [5] Klemencic, A., Kovacic, S., Pernus, F. Automated segmentation of muscle fiber images using active contour models, *Cytometry*, vol. 32(4), 1998, pp 317-26.
- [6] Jeffrey W, et al., Anatomically Anchored Template-Based Level Set Segmentation: Application to Quadriceps Muscles in MR Images from the Osteoarthritis Initiative, *Journal of Digital Imaging*, vol. 24(1), 2011, pp 28:43.
- [7] Li, C., et al., Distance Regularized Level Set Evolution and its Application to Image Segmentation. *IEEE Trans. Image Processing*, vol. 19(12), 2010, pp 3243-3254.
- [8] Yuan, J., Bae, E., Tai, X.-C., A study on continuous max-flow and min-cut approaches. *Proceedings of the IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, 2010, pp 2217-2224.
- [9] Rubner, Y., et al., The Earth Mover's Distance as a Metric for Image Retrieval. *International Journal of Computer Vision*, vol 40(2), 2000, pp 99-121.

Señales Biomédicas 1

Miércoles 4 de Noviembre

Caracterización de la actividad neuronal en enfermos de Alzheimer tras su participación en el programa de estimulación “Un, Dos, Tres... A recordar esta vez”

C. Gómez Peña¹, J. Poza Crespo¹, M. Rodríguez Poyo², M. Figueruelo Martínez²,
J. Gómez Pilar¹, R. Hornero Sánchez¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones e Ingeniería Telemática, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, carlos.gomez@tel.uva.es

² Asociación de Familiares y Amigos de Enfermos de Alzheimer y Otras Demencias de Zamora, Zamora, España

Resumen

El objetivo de este trabajo es estudiar los cambios producidos en la actividad cerebral de enfermos de Alzheimer como consecuencia de su participación en un programa de estimulación global de carácter lúdico denominado “Un, Dos, Tres... A recordar esta vez”, basado en el popular programa de televisión “Un, Dos, Tres... Responda otra vez”. Para ello, se ha analizado la actividad EEG en 11 enfermos de Alzheimer, antes y después de su participación en la mencionada intervención no farmacológica. A partir de los registros EEG, se calcularon dos métricas nodales, derivadas de la teoría de grafos: coeficiente de agrupamiento (CC) y longitud de camino (PL). Nuestros resultados muestran que se producen cambios significativos en la actividad EEG tras la terapia. Concretamente, se observa un aumento del CC y una disminución de la PL. Estos cambios reflejan un procesamiento más eficiente de la información.

1. Introducción

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva con alteraciones cognitivas, conductuales y funcionales [1]. Es la demencia más común en el mundo occidental, ya que representa entre el 50 y el 60% de todas las diagnosticadas [2]. La prevalencia de la EA aumenta con la edad: está en torno al 1% en sujetos de 60 años, pero muestra un crecimiento casi exponencial, llegando a afectar al 30% de los sujetos mayores de 85 años [3]. Debido al aumento de la esperanza de vida en los países occidentales, la EA se está convirtiendo en un gran problema económico y social. La duración media de la EA, desde su desencadenamiento hasta la muerte del paciente, es de unos 8 años [4]. Durante este tiempo, el enfermo sufre una degradación gradual de sus funciones. Por ello, es necesario buscar nuevos tratamientos que ayuden a frenar el avance de la enfermedad.

Hasta hace poco más de una década, la intervención terapéutica en la EA se ha basado en tratamientos farmacológicos, que ralentizan su progresión, aliviando los síntomas de los enfermos [5]. No obstante, su efectividad es limitada, por lo que se necesita complementar dicha intervención con la aplicación de terapias no farmacológicas [6]. En los últimos años ha aumentado de manera notable la atención puesta en los tratamientos no farmacológicos, como la estimulación cognitiva, el ejercicio físico, la musicoterapia, el

entrenamiento de las actividades de la vida diaria o intervenciones conductuales [6]. Estas terapias ya han demostrado su validez para contribuir al mantenimiento de las capacidades cognitivas y funcionales de las personas afectadas por una demencia [7,8]. El objetivo de estos tratamientos es favorecer la plasticidad neuronal, que permite el establecimiento de nuevas conexiones neuronales ante una demanda externa.

La mayoría de estas terapias acentúan la estimulación de áreas concretas, siendo escasas las actividades que abordan, en una sola sesión, la activación de múltiples áreas. Otro de los principales problemas que se encuentran los profesionales al aplicar este tipo de terapias es la falta de motivación de los pacientes. Por ello, la Asociación de Familiares y Amigos de Enfermos de Alzheimer y Otras Demencias de Zamora (AFAZA) ha desarrollado recientemente un programa de estimulación global de carácter lúdico denominado “Un, Dos, Tres... A recordar esta vez”. Este juego, basado en el popular programa de Televisión Española “Un, Dos, Tres... Responda otra vez”, permite la estimulación cognitiva de los pacientes con EA y otras demencias utilizando una metodología lúdica y motivadora.

En este trabajo se van a estudiar los cambios que se producen en el electroencefalograma (EEG) de 11 pacientes con EA, tras participar en una sesión del programa “Un, Dos, Tres... A recordar esta vez”. Para ello, se registraron 5 minutos de actividad espontánea antes y después de una sesión del mencionado programa. A partir de los registros EEG, se calcularon dos métricas nodales, derivadas de la teoría de grafos: coeficiente de agrupamiento (CC, *Clustering Coefficient*) y longitud de camino promedio (PL, *Averaged Path Length*). Estos parámetros servirán para caracterizar las señales EEG y permitirán evaluar los cambios inducidos por la terapia en la organización de la red neuronal.

2. Materiales

2.1. Sujetos

Se ha analizado la actividad EEG de 11 enfermos de Alzheimer (4 hombres y 7 mujeres; edad = 81.18 ± 5.85 años; media \pm desviación estándar). Para evaluar la severidad de la enfermedad, se utilizaron el test cognitivo MMSE (*Mini-mental State Examination*) y la escala GDS

(*Global Deterioration Scale*). Los valores medios obtenidos en estas pruebas fueron de 13.73 ± 5.59 puntos para MMSE y de 4.80 ± 0.78 para GDS. Los pacientes procedían de la AFAZA y fueron diagnosticados siguiendo el criterio del *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke - Alzheimer's and Related Disorders Association* (NINCDS-ADRDA). Todos los cuidadores de los enfermos dieron su consentimiento para participar en el presente estudio.

2.2. Registros EEG

Las señales EEG fueron registradas en 19 derivaciones del sistema internacional 10-20 (Fp1, Fp2, Fz, F3, F4, F7, F8, Cz, C3, C4, T3, T4, T5, T6, Pz, P3, P4, O1 y O2) con una referencia promedio, mediante un electroencefalógrafo Neurofax JE-921A (Nihon Kohden). Se registraron 5 minutos de actividad EEG espontánea antes y después de una sesión del programa “Un, Dos, Tres... A recordar esta vez”, con los sujetos despiertos y con los ojos cerrados. Durante el registro se monitorizó su estado para prevenir que se quedaran dormidos. El proceso de adquisición se realizó a una frecuencia de muestreo de 500 Hz, con un filtro paso-banda, entre 0.008 y 120 Hz, así como un filtro de ranura a 50 Hz.

Cada señal EEG se dividió en segmentos de 5 s, seleccionándose mediante inspección visual aquellos libres de artefactos. Finalmente, cada señal EEG se procesó con un filtro FIR (*Finite Impulse Response*), con ventana de Hamming, entre 1 y 40 Hz.

2.3. “Un, Dos, Tres... A recordar esta vez”

“Un, Dos, Tres... A recordar esta vez” es un programa de estimulación que persigue mantener la motivación de los enfermos en niveles elevados, con objeto de mejorar el esfuerzo y, por tanto, su implicación en la tarea. El programa resulta innovador, por aplicar la estimulación a múltiples áreas afectadas y por permitir trabajar al mismo tiempo con un grupo numeroso y heterogéneo, compuesto por pacientes con diferentes niveles de deterioro. Este programa guarda una gran similitud con el clásico “Un, Dos, Tres... Responda otra vez”, existiendo diferentes roles, tanto para los profesionales (presentador, supertacañones, azafata, pinchadiscos y artista invitado) como para los pacientes con EA (concurstantes, ayudante de supertacañones, ayudante de azafatas y público). La actividad está dividida en dos partes de 45 minutos cada una, separadas por un descanso de 15 minutos aproximadamente. Cada una de estas partes consta de tres rondas, por lo que cada pareja responderá a tres preguntas y ejecutará tres actividades:

- La primera parte se centra en preguntas dirigidas al trabajo de áreas cognitivas, como memoria, cálculo y lenguaje. El nivel de dificultad de estas preguntas está adaptado para cada una de las parejas concursantes, atendiendo al nivel de deterioro correspondiente. Una posible pregunta para pacientes con un GDS de 4 podría ser la siguiente: “Responded a las siguientes operaciones, primero uno y luego el otro: $2+2+1$, $3 \times 2 - 2$, $10 - 5$, $12 + 9$. Un, Dos, Tres... A calcular esta vez”.

- La segunda parte consiste en actividades. Es decir, el trabajo se centra en estimular la movilidad y las capacidades funcionales, así como en introducir tareas para el desempeño físico y motriz. Un ejemplo de actividad para una pareja con GDS de 3 sería: “Tenéis que tender estas prendas de ropa en el tendedero, para ello disponéis de dos minutos. Un, Dos, Tres... A tender esta vez”.

3. Métodos

3.1. Coherencia

La coherencia es una medida que permite evaluar la interacción funcional entre electrodos [9]. La coherencia cuadrática media (*MSC*, *Mean Square Coherence*) de dos señales corresponde a la división de la función cruzada de densidad espectral de potencia normalizada entre la función de densidad espectral de potencia de cada señal [9]:

$$MSC_{XY}(t, f) = \frac{|S_{XY}(t, f)|^2}{S_{XX}(t, f) \cdot S_{YY}(t, f)}. \quad (1)$$

Posteriormente, los valores de *MSC* promediados para cada una de las bandas espectrales clásicas: δ (1-4 Hz), θ (4-8 Hz), α (8-13 Hz), β (13-30 Hz) y γ (30-70 Hz).

3.2. Teoría de grafos

Un grafo consiste en un conjunto de vértices (o nodos) y un conjunto de enlaces, que se definen como los valores de conectividad entre los nodos [10]. Es posible representar el cerebro como un grafo donde cada electrodo se corresponde con un nodo y las relaciones entre sus correspondientes canales son las uniones entre los mismos.

En este estudio se utilizaron las medidas de coherencia anteriormente calculadas para dar valores a las conexiones entre los nodos del grafo. Por tanto, se definió una red con $N = 19$ nodos (correspondientes a los 19 electrodos), con pesos de los enlaces correspondientes a los valores de *MSC* (grafo ponderado). Los pesos entre los nodos i y j son denotados por w_{ij}^b , donde b indica la banda de frecuencia. Las redes de grafos pueden ser descritas mediante múltiples parámetros. El presente estudio se centra en dos medidas: *CC* y *PL*, calculadas para cada uno de los 19 nodos del grafo.

El *CC* de un nodo i en la banda de frecuencias b , CC_i^b , se define como la probabilidad de que nodos conectados al nodo i estén interconectados entre sí [11]. Proporciona información sobre la fortaleza del nodo i [10]. La definición del CC_i^b es la siguiente:

$$CC_i^b = \frac{\sum_{k \neq i} \sum_{l \neq i} w_{ik}^b w_{il}^b w_{kl}^b}{\sum_{k \neq i} \sum_{l \neq i} w_{ik}^b w_{il}^b}. \quad (2)$$

Por otro lado, la PL del nodo i , PL_i^b , se calcula como el promedio de las longitudes mínimas de camino entre el nodo i y los restantes nodos de la red en la banda b [12]:

$$PL_i^b = \frac{\sum_{j \neq i} d_{ij}^b}{N-1}, \quad (3)$$

donde d_{ij}^b indica la distancia más corta entre el nodo i y el nodo j , y N es el número de nodos de la red.

4. Resultados

Para estudiar las variaciones en la actividad cerebral como consecuencia de la terapia, se analizaron los cambios de los patrones espaciales de cada parámetro. Los resultados se pueden apreciar en la Figura 1, en la que aparecen la distribución espacial para (a) CC y (b) PL , antes y después de la sesión de “Un, Dos, Tres... A recordar esta vez”, así como los p -valores correspondientes (test de los rangos con signo de Wilcoxon). Se puede observar un aumento del CC en todas las bandas de frecuencia tras la participación de los usuarios del centro en la terapia.

Estas diferencias fueron estadísticamente significativas en δ (en todos los canales excepto P3 y P4), θ (principalmente en las regiones frontopolar, central y temporal derecha), α (zonas temporales) y β (centro-temporal derecha). Por el contrario, los valores de PL disminuyeron tras la terapia en todas las bandas. El análisis estadístico reveló diferencias significativas en δ (electrodos Fp1, Fz y C3), θ (canales Fp1, F7 y T4), α (electrodo T6), β (Fp1, Cz, P4 y O2), y γ (únicamente en el canal Cz).

5. Discusión y conclusiones

En este estudio se han analizado los registros EEG de 11 pacientes con EA que han participado en una sesión del programa “Un, Dos, Tres... A recordar esta vez”, una estrategia terapéutica no farmacológica basada en la realización de actividades lúdicas.

Estudios previos sugieren que la juego-terapia aumenta las funciones cognitivas de los enfermos durante la actividad, pero también una vez que ésta ha finalizado [13]. Además, se ha observado un incremento en su

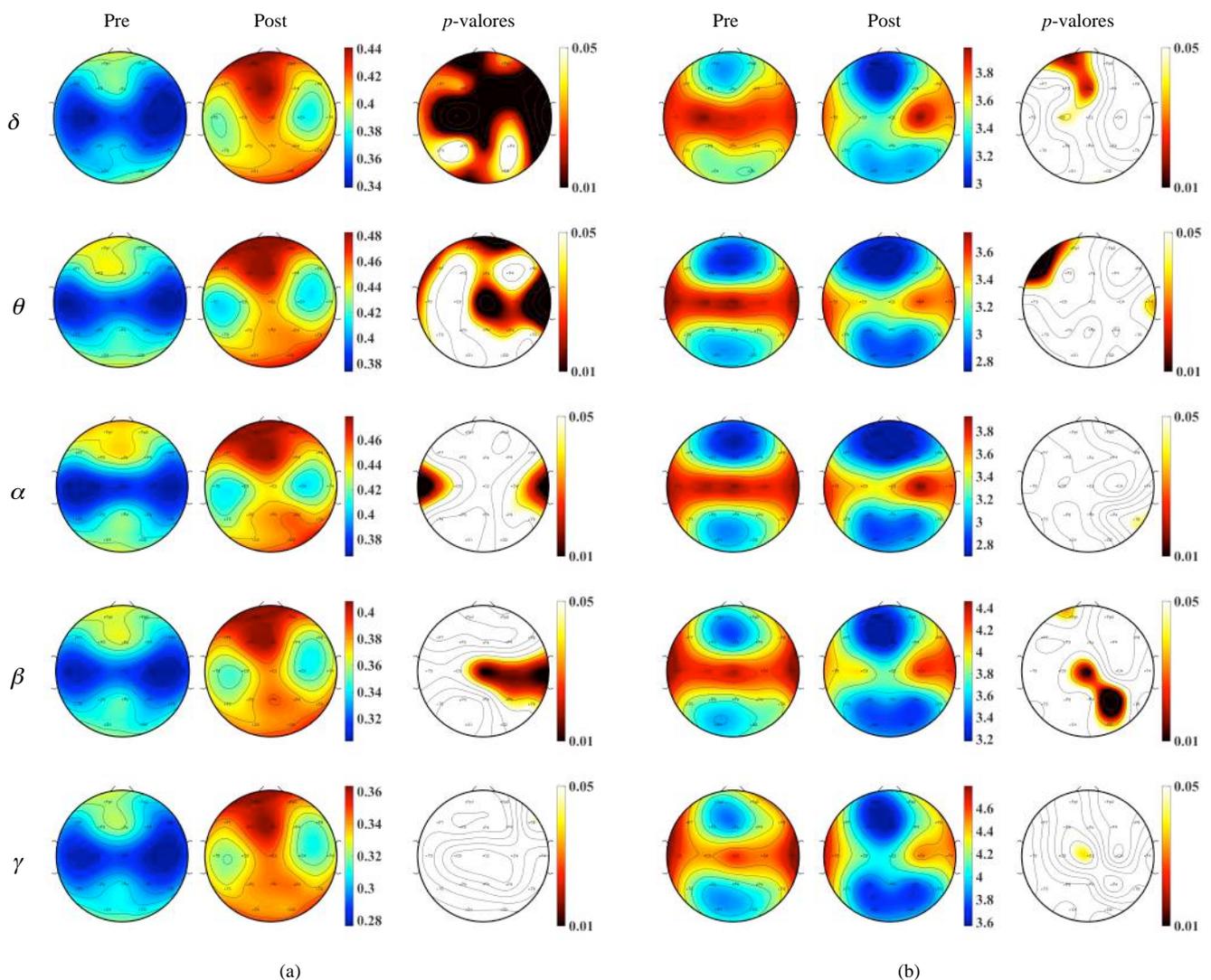


Figura 1. Diagramas con la distribución espacial de cada parámetro, así como sus p -valores correspondientes. a) Coeficiente de agrupamiento (CC). b) Longitud de camino (PL).

estado de alerta y en su capacidad para responder a diferentes cuestiones [13]. Otras investigaciones sugieren que jugar al bingo de forma regular produce beneficios significativos en los pacientes con EA [14]. De hecho, los sujetos que participaron en esta actividad incrementaron su puntuación en el *Boston Naming Test*, mientras que esto no sucedió en los que sólo realizaron actividad física [14]. Otros autores sugieren que la utilización de juegos específicos para pacientes con EA también provoca un aumento en su calidad de vida y mejoras en sus capacidades cognitivas y funcionales [15].

Como se ha mencionado, investigaciones previas sugieren que este tipo de terapias produce efectos positivos, si bien la mayoría están basadas únicamente en observaciones subjetivas o datos cualitativos. En el presente trabajo hemos ido un paso más allá, cuantificando los cambios en la actividad cerebral de los pacientes mediante dos medidas derivadas de la teoría de grafos: *CC* y *PL*. Nuestros resultados muestran un aumento del *CC* y una disminución de la *PL* tras la terapia. Por tanto, las propiedades de la red neuronal de los pacientes con EA se aproximan a las de las denominadas *small-world networks*, un tipo de redes caracterizadas por valores grandes de *CC* y pequeños de *PL*. Es de notar que este tipo de redes son óptimas, en el sentido de que permiten un procesamiento eficiente de la información con un número mínimo de conexiones [16]. Por ello, nuestros resultados sugieren que el programa “Un, Dos, Tres... A recordar esta vez” produce ciertas mejoras en las capacidades cognitivas de los pacientes, que se ven reflejadas en sus actividad cerebral.

Es importante mencionar varias limitaciones de este trabajo de investigación. En primer lugar, el número de sujetos analizado es insuficiente para obtener conclusiones significativas, por lo que sería interesante incrementar la base de datos para aumentar la potencia estadística. En segundo lugar, en el presente trabajo se han analizado los cambios en la actividad EEG inmediatamente posteriores a la terapia propuesta. Los resultados parecen indicar un beneficio a corto plazo asociado a la terapia. Sin embargo, sería interesante analizar si los efectos observados se mantienen en el tiempo.

Podemos concluir que el análisis de la actividad EEG con métodos derivados de la teoría de grafos muestra que la terapia propuesta provoca cambios significativos en la organización de la red neuronal de los usuarios, que parecen reflejar un procesamiento más eficiente de la información. Este estudio constituye un paso inicial para demostrar la posible aplicación del programa “Un, Dos, Tres... A recordar esta vez” para el tratamiento de la EA y otras demencias.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos TEC2014-53196-R del Ministerio de Economía y Competitividad y FEDER, y VA059U13 de la Consejería de Educación (Junta de Castilla y León). J. Gómez Pilar cuenta con una beca FPI-UVA de la Universidad de

Valladolid. Los autores quieren agradecer a los usuarios y trabajadores de la AFAZA su participación en el estudio.

Referencias

- [1] Cummings JL. Alzheimer's disease. *New Engl. J. Med.*, vol. 351, 2004, pp. 56–67.
- [2] Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *The Lancet*, vol. 368, 2006, pp. 387–403.
- [3] Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, *et al.* Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *The Lancet*, vol. 366, 2005, pp. 2112–7.
- [4] Barclay LL, Zemcow A, Sansone JP. Survival in Alzheimer's disease and vascular dementias. *Neurology*, vol. 35, 1985, pp. 834–40.
- [5] Borson S, Raskind MA. Clinical features and pharmacologic treatment of behavioral symptoms of Alzheimer's disease. *Neurology*, vol. 48, 1997, pp. S17–24.
- [6] Olazarán J, Reisberg B, Clare L, Cruz I, Peña-Casanova J, Del Ser T, *et al.* Nonpharmacological therapies in Alzheimer's disease: a systematic review of efficacy. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.*, vol. 30, 2010, pp. 161–78.
- [7] De Vreese LP, Neri M, Fioravanti M, Belloi L, Zanetti O. Memory rehabilitation in Alzheimer's disease: a review of progress. *Int. J. Geriatr. Psychiatry*, vol. 16, 2001, pp. 794–809.
- [8] Hulme C, Wright J, Crocker T, Oluboyede Y, House A. Non-pharmacological approaches for dementia that informal carers might try or access: a systematic review. *Int. J. Geriatr. Psychiatry*, vol. 25, 2010, pp. 756–63.
- [9] Nunez PL, Srinivasan R, Westdorp AF, Wijesinghe RS, Tucker DM, Silberstein RB, *et al.* EEG coherence: I: statistics, reference electrode, volume conduction, Laplacians, cortical imaging, and interpretation at multiple scales. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, vol. 103, 1997, pp. 499–515.
- [10] Ponten SC, Daffertshofer A, Hillebrand A, Stam CJ. The relationship between structural and functional connectivity: graph theoretical analysis of an EEG neural mass model. *Neuroimage*, vol. 52, 2010, pp. 985–94.
- [11] Stam CJ, de Haan W, Daffertshofer A, Jones, BF, Manshanden I, van Cappellen van Walsum AM, *et al.* Graph theoretical analysis of magnetoencephalographic functional connectivity in Alzheimer's disease. *Brain*, vol. 132, 2009, pp. 213–24.
- [12] van den Heuvel MP, Mandl RCW, Stam CJ, Kahn RS, Pol HEH. Aberrant frontal and temporal complex network structure in schizophrenia: a graph theoretical analysis. *J. Neurosci.*, vol. 30, 2010, pp. 15915–26.
- [13] Schaefer CE. *Play Therapy with Adults*. Willey, 2001.
- [14] Sobel BP. Bingo vs. physical intervention in stimulating short-term cognition in Alzheimer's disease patients. *Am. J. Alzheimers Dis. Other Demen.*, vol. 16, 2001, pp. 115–20.
- [15] Lucero M, Pearson R, Hutchinson S, Leger-Krall S, Rinalducci E. Products for Alzheimer's self-stimulatory wanderers. *Am. J. Alzheimers Dis. Other Demen.*, vol. 16, 2001, pp. 43–50.
- [16] Bullmore E, Sporns O. Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems. *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 10, 2009, pp. 186–98.

Caracterización de pacientes isquémicos y dilatados a partir de las señales ECG y de presión sanguínea

B.F. Giraldo^{1,2,3}, J. Rodríguez¹, A. Arcentales¹, A. Voss⁴, P. Caminal^{2,3}, A. Bayés-Genis⁵

¹ Institut de Bioenginyeria de Catalunya (IBEC), Barcelona, España; bgiraldo@ibecbarcelona.eu

² Dept. ESAIL, EUETIB, Universitat Politècnica de Catalunya (UPC), Barcelona, España

³ CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), España

⁴ Dept. of Medical Engineering and Biotechnology, University of Applied Sciences Jena, Germany

⁵ Cardiology Service, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, España

Resumen

Las enfermedades cardiovasculares son una de las principales causas de muerte en países desarrollados. Se han analizado 42 pacientes con cardiomiopatía isquémica (ICM) o dilatada (DCM), clasificados en función de la fracción de eyección ventricular izquierda (LVEF), en grupos de alto riesgo (HR: LVEF \leq 35%, 28 pacientes) y bajo riesgo (LR: LVEF $>$ 35%, 14 pacientes). A partir de las señales electrocardiográfica, de flujo respiratorio y de presión sanguínea se han obtenido los intervalos de tiempo relacionados con el tiempo entre latidos cardíacos (RR), entre valores máximos de presión sistólica (SBP), y la duración del ciclo respiratorio (T_{Tot}). Las series temporales fueron caracterizadas en función de la curtosis (K), el rango intercuartil (IQR), el coeficiente de simetría (Sk), y los percentiles 5% (p5) y 95% (p95). Se obtuvieron un total de 15 parámetros por cada paciente. El análisis de componentes principales fue aplicado para reducir la dimensionalidad. Para clasificar los diferentes grupos de pacientes se aplicó el método de máquinas de soporte vectorial, utilizando kernels Gaussiano, Laplaciano y Anova. Un total de 4 parámetros fueron los que presentaron diferencias estadísticamente significativas al clasificar ICM vs DCM en el grupo HR. Para el grupo LR se encontraron 2 parámetros. En el análisis del grupo HR, el mejor resultado del clasificador se obtuvo con los parámetros RR_IQR y SBP_K, utilizando un kernel Anova, con una precisión del 85.7%. Para la clasificación LR, el mejor resultado lo presentaron los parámetros RR_Sk y SBP_Sk, utilizando un kernel Laplaciano, con una precisión del 91.8%.

1. Introducción

La insuficiencia cardíaca es un problema cardiovascular complejo, que resulta de trastornos cardíacos funcionales o estructurales, en su mayoría causados por enfermedades de la arteria coronaria, hipertensión, o cardiopatías, y que se caracterizan por alteraciones en el llenado del ventrículo izquierdo [1]. Muchos de estos pacientes sufren múltiples comorbilidades que pueden complicar su diagnóstico. La identificación de pacientes con cardiomiopatía con riesgo de muerte súbita sigue siendo un problema de especial relevancia en la práctica clínica. Las causas de muerte súbita varían dependiendo de la cardiopatía estructural subyacente. Enfermedades que predisponen a una muerte súbita incluyen las cardiomiopatías hipertrófica y dilatada [2]. Estudios basados en el análisis de la regulación autonómica del sistema cardiovascular, aplicando métodos lineales o no lineales, permiten obtener información de la regulación de estos pacientes [3-5].

Un claro factor de estratificación de estos pacientes está basado en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo [6]. Otros estudios están basados en el análisis de imágenes ecocardiográficas o del tejido cardíaco, para detectar alteraciones en la función ventricular izquierda [7-9].

En este estudio se propone extraer diferentes parámetros de los intervalos de tiempo que marcan los ciclos cardíacos, respiratorios y de presión sanguínea, para clasificar pacientes con cardiomiopatía isquémica o dilatada, en función de su fracción de eyección ventricular. A partir de las series temporales correspondientes al intervalo entre latidos de la señal ECG, la duración del ciclo respiratorio, y el intervalo de tiempo entre los máximos valores sistólicos, se propone hacer un análisis de componentes principales y aplicar un clasificador basado en las máquinas de soporte vectorial para determinar el mejor modelo de clasificación de estos pacientes.

2. Material y métodos

2.1. Base de datos

Se estudiaron las señales ECG, de flujo respiratorio y de presión sanguínea de 42 pacientes diagnosticados con cardiomiopatía isquémica o dilatada. Las señales se adquirieron en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona, España, de acuerdo con el protocolo aprobado por el comité ético local. Las señales fueron registradas utilizando un sistema Portapres y un amplificador Porti 16-biosignal [10], durante 30 minutos, a una frecuencia de muestreo de 1600 Hz y remuestreadas a 64 Hz. Los registros fueron realizados con los pacientes en reposo, en posición supino.

Los pacientes presentaban un NYHA \geq 2 fueron clasificados en dos grupos: 24 pacientes con cardiomiopatía isquémica (ICM) y 18 pacientes con cardiomiopatía dilatada (DCM). A su vez, a partir del porcentaje de fracción de eyección ventricular izquierda (LVEF) se dividieron los pacientes en alto riesgo (HR: LVEF \leq 35%, 28 pacientes) y bajo riesgo (LR: LVEF $>$ 35%, 14 pacientes). La Tabla I presenta información clínica relacionada con estos pacientes.

	Global	LR	HR
Edad	65 ± 10.31	62.6 ± 12.9	66.0 ± 9.5
BMI	27.76 ± 6.6	27.2 ± 3.8	29.0 ± 5.1
HFSS	0.64 ± 0.72	1.1 ± 0.74	0.68 ± 0.62
NYHA	2 ± 0.43	2.2 ± 0.6	2 ± 0.3
LVEF	34.19 ± 9.89	43.3 ± 8.8	28.7 ± 5.2
LVD	60.57 ± 7.21	56.4 ± 6.5	63.7 ± 5.9
DA	45.2 ± 6.09	44.0 ± 5.4	47.1 ± 6.5
ProBNP	1641.87 ± 2718.94	1086.3 ± 956.5	1944.2 ± 3154.2

LR: bajo riesgo; HR: alto riesgo; BMI: índice de masa corporal; HFSS: *Heart Failure Survival Score*; NYHA: índice de clasificación de la Asociación de cardiología de Nueva York; LVEF: fracción de eyección ventricular izquierda; LVD: diámetro ventricular izquierdo; DA: Diámetro de la aurícula; ProBNP: péptido natriurético del cerebro.

Tabla 1. Parámetros Clínicos.

2.2. Procesado de las señales

Previamente las señales fueron pre-procesadas, eliminados los artefactos y valores atípicos. Las series temporales para obtener los intervalos de duración de cada uno de los ciclos de las señales estudiadas fueron extraídas utilizando algoritmos (propios) basados en umbrales y cruces por cero. Para cada registro se obtuvieron las series temporales:

- RR – intervalo de tiempo entre dos ondas R sucesivas.
- SBP – intervalo de tiempo entre dos valores máximos sucesivos de presión sistólica.
- T_{Tot} – intervalo de tiempo que define la duración de cada ciclo respiratorio.

La figura 1 presenta un ejemplo de las señales y las series temporales extraídas. Las series fueron re-muestreadas a 1 Hz.

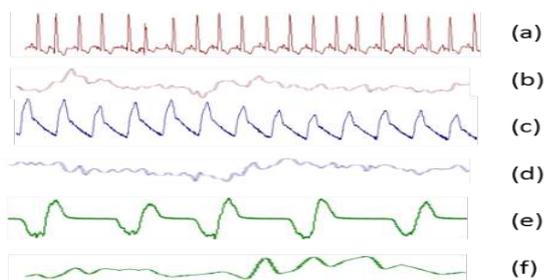


Figura 1. (a-b) Señal ECG e intervalo RR, (c-d) Señal de presión sanguínea e intervalo SBP, y (e-f) señal de flujo respiratorio e intervalo T_{Tot}.

2.3. Análisis estadístico.

Las series temporales obtenidas de cada señal fueron caracterizadas analizando la morfología de la densidad de probabilidad de cada una de ellas, a partir de los estadísticos curtosis, rango intercuartil, coeficiente de simetría, y los percentiles 5% y 95%. Por cada paciente se obtuvieron 15 parámetros correspondientes a los valores de las tres series temporales: RR, SBP y T_{Tot} (Tabla 2).

El test de Kolmogorov-Smirnov fue aplicado para determinar los parámetros que presentaban diferencias estadísticamente significativas entre cada grupo de pacientes, considerando un *p*-valor ≤ 0.05. Seguidamente

se analizó la correlación entre los parámetros seleccionados para determinar el modelo de clasificación. Parámetros con valores de correlación superiores a 0.7 fueron considerados altamente correlados. De cada par de parámetros con alta correlación, el menos significativo fue descartado del modelo.

Parámetro	Descripción
XX_IQR	Rango intercuartil de la serie temporal XX
XX_Sk	Coefficiente de simetría de la serie temporal XX
XX_K	Curtosis de la serie temporal XX
XX_p5	Percentil 5 de la serie temporal XX
XX_p95	Percentil 95 de la serie temporal XX

XX representa cada una de las series temporales RR, SBP y T_{Tot}.

Tabla 2. Parámetros extraídos para cada una de las series temporales.

2.4. Métodos de clasificación.

El análisis de componentes principales y las máquinas de soporte vectorial fueron empleados como métodos de clasificación de los grupos de pacientes.

Análisis de componentes principales. El análisis de componentes principales (PCA) fue aplicado como un método para reducir la dimensionalidad para estimar el comportamiento de los datos en un plano bidimensional con el fin de determinar si es posible clasificar los grupos linealmente.

Máquinas de soporte vectorial. Las máquinas de soporte vectorial (SVM) son útiles para separar patrones que en origen no son linealmente separables. La transformación de los datos a un espacio dimensional superior puede transformar un problema de clasificación complejo en uno más simple, que se puede resolver a partir de un hiperplano, definido por la función

$$f(x) = \omega_z + b = \sum_i^L \alpha_i y_i K(x_i y_i) + b \quad (1)$$

$$\omega = \sum_{i=1}^L \alpha_i \cdot x_i \cdot y_i \quad \text{con } 0 \leq \alpha \leq C$$

siendo ω el vector normal al hiperplano, α_i y b los parámetros ajustables a definir en la optimización del proceso, y C un parámetro de penalización que controla el compromiso entre maximizar la frontera de decisión y minimizar el error. El vector normal del hiperplano (ω) es obtenido como una combinación lineal de los datos de entrenamiento.

La separación de grupos depende de la función *Kernel* (K) utilizada. Con el fin de determinar los valores óptimos de penalización y de márgenes para la clasificación, tres tipos diferentes de *Kernels* han sido analizados: Gaussiano, Laplaciano y Anova.

El *Kernel Gaussiano* se utiliza normalmente cuando la distribución de los datos es de forma radial, y está definido por

$$K(x, y) = e^{-\frac{\|x-y\|^2}{2\sigma^2}} \quad (2)$$

donde σ es la variable de penalización.

El *Kernel Laplaciano* es similar al *kernel* gaussiano pero con menor influencia de la variable σ , y está dado por

$$K(x, y) = e^{-\frac{\|x-y\|}{2\sigma}} \quad (3)$$

El *Kernel Anova* está definido por

$$K(x, y) = \sum_{k=1}^n e^{(-\sigma(x^k - y^k)^2)^d} \quad (4)$$

siendo σ y d los parámetros a optimizar.

Los datos fueron normalizados y escalados. Los resultados de clasificación fueron validados utilizando el método *leave-one-out cross-validation*.

3. Resultados

Al comparar los parámetros obtenidos considerando los grupos ICM y DCM, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Los siguientes análisis se realizaron teniendo en cuenta la clasificación de los pacientes en alto (HR) y bajo (LR) riesgo. Las tablas 2 y 3 presentan los parámetros con diferencias estadísticamente significativas al comparar ICM y DCM en los grupos HR y LR, respectivamente.

A partir del análisis de correlación entre los parámetros más significativos, RR_IQR y SBP_K fueron los seleccionados del grupo HR, y RR_Sk y SBP_Sk del grupo LR. La figura 2 presenta la relación de estos parámetros mediante un *bagplot*, la versión bivariada de un *boxplot*, para cada uno de los grupos (HR y LR).

Parámetro	p-valor
RR_IQR	0.011
SBP_IQR	0.013
SBP_Sk	0.047
SBP_K	0.017

Tabla 3. Parámetros que presentaron diferencias estadísticamente significativas al comparar pacientes ICM y DCM, en el grupo HR.

Parámetro	p-valor
RR_Sk	0.0026
SBP_Sk	0.049

Tabla 4. Parámetros que presentaron diferencias estadísticamente significativas al comparar pacientes ICM y DCM, en el grupo LR.

De acuerdo con los resultados obtenidos al aplicar PCA, se observó que los datos presentaban un comportamiento radial. La figura 3 presenta los resultados obtenidos considerando 2 componentes principales para cada caso. Se puede observar que al analizar el grupo HR las dos componentes representan el 100% de su varianza, y para el grupo LR estas representan el 95% de la varianza.

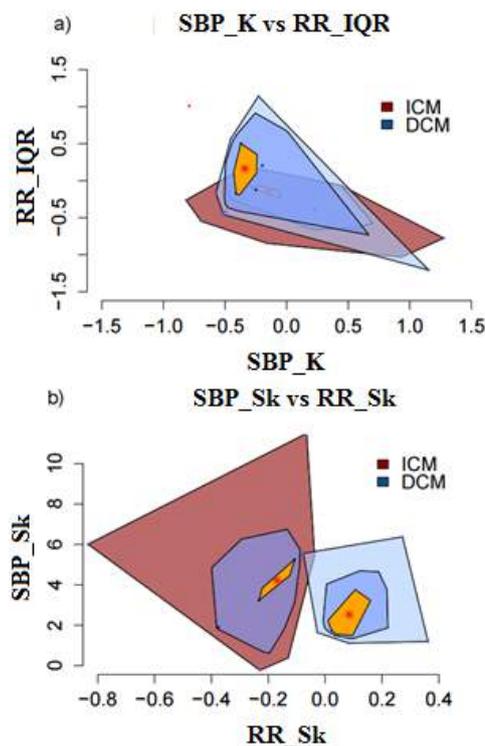


Figura 2. Bagplot de los parámetros seleccionados para la clasificación de los grupos a) HR y b) LR.

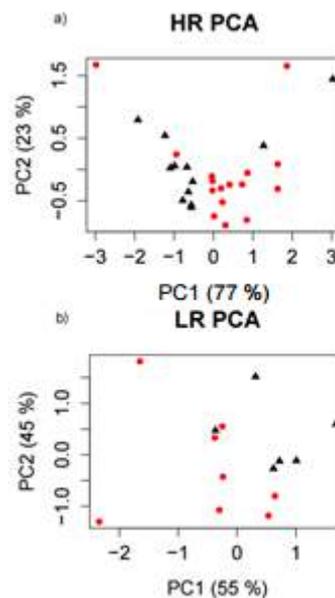


Figura 3. PCA aplicado a los grupos a) HR y b) LR.

Al optimizar los parámetros para el *kernel* del clasificador, los mejores resultados se obtuvieron con el *kernel* Laplaciano para el grupo HR, con una precisión (Prec) del 85.7%, y el *kernel* Anova para el grupo LR, con 91.8% de precisión, y elevados valores de sensibilidad (Sn) y especificidad (Es) (tabla 5). Las figuras 4 y 5 representan gráficamente la clasificación de los pacientes al comparar los diagnosticados con ICM vs DCM, para los grupo HR y LR, respectivamente.

	Kernel	σ	C	d	Prec	Sn	Es
HR	Laplace	0.16	1	-	85.7	83.3	87.5
LR	Anova	1	1	0.6	91.8	83.3	87.5

Prec: Precisión; Sn: sensibilidad; Es: Especificidad.

Tabla 5. Resultados de los kernels para el clasificador de los grupos HR y LR

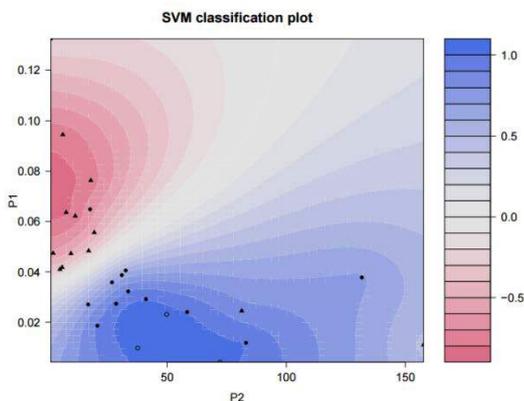


Figura 4. Clasificación de los grupos de pacientes ICM vs DCM, aplicando las SVM al grupo HR.

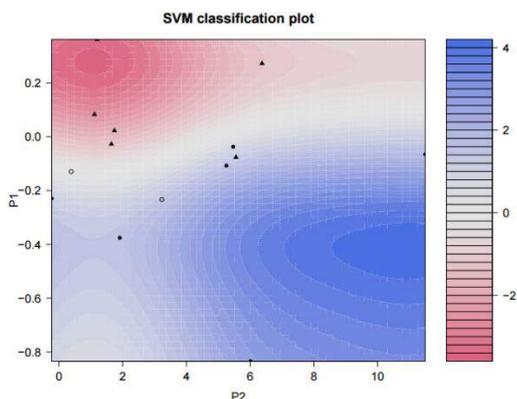


Figura 5. Clasificación de los grupos de pacientes ICM vs DCM, aplicando las SVM al grupo LR.

4. Conclusión

La información contenida en la variabilidad del ritmo cardíaco y la presión sanguínea presentaron las mejores diferencias al clasificar los grupos de pacientes isquémico y dilatado. La aplicación de las máquinas de soporte vectorial permiten una buena clasificación de los pacientes para cada grupo, con un buen compromiso entre la sensibilidad y la especificidad, correspondiente al 83.3% y 87.5%, respectivamente, en ambos casos.

Los resultados obtenidos ofrecen un mayor conocimiento de este tipo de pacientes, y permiten plantear nuevos modelos considerando información adicional relacionada con la situación clínica de los pacientes.

El uso de esta técnica como soporte diagnóstico es recomendable siempre y cuando se puedan replicar los resultados del presente estudio con una base de datos con un mayor número de pacientes, logrando una mayor potencia estadística.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por la ayuda de la Secretaria d'Universitats i Recerca, del Departament d'Economia i Coneixement de la Generalitat de Catalunya (Grupo consolidado de recerca GRC 2014 SGR 1569). Los autores agradecen a los equipos médicos del Hospital de Santa Creu i Sant Pau, por su colaboración en la adquisición de las señales.

Referencias

- [1] Voss A, Schroeder R, Truebner S, Goernig M, Schirdewan A, Figulla H. Alternans of blood pressure and heart rate in patients with dilated cardiomyopathy. *Computers in Cardiology* 2006;33:421–424.
- [2] Zipes D, Camm A, Borggrefe M, Buxton A, Chaitman B, et al. Acc/aha/esc 2006 guidelines for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: A report of the american college of cardiology/american heart association task force and the European society of cardiology committee for practice guidelines (writing committee to develop guidelines for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death) developed in collaboration with the european heart rhythm association and the heart rhythm society. *Circulation* 2006;114:e385–e484.
- [3] Voss A, Goernig M, Schroeder R, Truebner S, Schirdewan A, Figulla HR. Blood pressure variability as sign of autonomic imbalance in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Pacing and Clinical Electrophysiology PACE* April 2012;35(4):471–9. ISSN 1540-8159.
- [4] Maron B, Rowin E, Casey S, Haas T, Chan R, Udelson J, Garberich R, Lesser J, Appelbaum E, Manning W, Maron M. Risk stratification and outcome of patients with hypertrophic cardiomyopathy ≥ 60 years of age. *Circulation* 2013;127:585–593.
- [5] Okutucu S, Oto A. Risk stratification in nonischemic dilated cardiomyopathy: Current perspectives. *Cardiology Journal* 2010;17(3):219–229.
- [6] Grimm W, Schmidt G, Maisch B, Sharkova J, Muller H, Christ M. Prognostic significance of heart rate turbulence following premature beats in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2003;14:819–824.
- [7] Eddlemann E, Swartzell R, Vancroft W, Baldone J, Tucker M. The use of the systolic time intervals for predicting left ventricular ejection fraction in ischemic heart disease. *Am Heart J* 1977;93:450–454.
- [8] Gillian R, Parnes W, Khan M, Bouchard R, Warbasse J. The prognostic value of systolic time intervals in angina pectoris patients. *Circulation* 1979;60:268–275.
- [9] Reant P, Dijos M, Donal E, Mignot A, Ritter P, Bordachar P, Santos PD, Leclercq C, Roudaut R, Habib S, Lafitte S. Systolic time intervals as simple echocardiographic parameters of left ventricular systolic performance: correlation with ejection fraction and longitudinal twodimensional strain. *European Journal of Echocardiography* 2010;11:834–844.
- [10] Arcentales A, Voss A, Caminal P, Bayés-Genís A, Domingo MT, Giraldo BF. Characterization of Blood Pressure Signal considering Low and High Risk Stratification in Cardiomyopathy patients. *Computing in Cardiology* 2013; 40:795-798, 2013.

Predicción Preoperatoria a Largo Plazo del Éxito de la Ablación de Fibrilación Auricular Mediante Análisis Espectral del ECG

R. Alcaraz Martínez¹, F. Hornero Sos², L. Fácil Rubio³, J.J. Rieta Ibáñez⁴

¹Grupo de Investigación en Ingeniería Electrónica, Biomédica y de Telecomunicaciones, Universidad de Castilla-La Mancha, Cuenca, España, raul.alcaraz@uclm.es

²Servicio de Cirugía Cardíaca, Consorcio Hospital General Universitario, Valencia, España, hornero_fer@gva.es

³Servicio de Cardiología, Consorcio Hospital General Universitario, Valencia, España, facila_lor@gva.es

²Biomedical Synergy, Dpto. Ingeniería Electrónica, Universidad Politécnica de Valencia, Gandía, España, jjrieta@upv.es

Resumen

La ablación por catéter (AC) se ha convertido en poco tiempo en la herramienta más eficaz para tratar la fibrilación auricular (FA), la cual es la arritmia cardíaca más encontrada en la práctica clínica diaria. Sin embargo, la tasa de recurrencia un año después del procedimiento sigue siendo próxima al 50% para pacientes con una arritmia persistente. Así pues, la selección de aquellos pacientes que van a tener una respuesta positiva a largo plazo es todavía un reto clínico interesante. A este respecto, muchos autores han analizado la frecuencia auricular dominante (FAD) desde el electrocardiograma (ECG) de superficie, obteniendo en la mayoría de los casos un resultado prometedor. En el presente trabajo, para complementar la información obtenida por este índice, se estudian otras dos métricas espectrales, tal como son su ancho de banda (AB) a 3 dB y la frecuencia mediana (FM) del espectro completo. Después de un seguimiento promedio de 12 ± 7 meses de los 12 pacientes analizados, solo se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de FM procedentes de los 6 pacientes que recayeron a FA (6.03 ± 0.30 Hz) y los otros 6 que mantenían el ritmo sinusal (6.42 ± 0.17 Hz). Este parámetro también obtuvo los mejores resultados de clasificación entre ambos grupos, ofreciendo valores de sensibilidad, especificidad y precisión de 83.33, 100 y 91.67%, respectivamente. Así pues, este índice se podría considerar un mejor predictor del resultado de la AC que la FAD, aunque se requieren estudios más extensos para validar su robustez.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia supraventricular más comúnmente encontrada en la práctica clínica diaria, la cual provoca aproximadamente un tercio de todas las hospitalizaciones por desordenes del ritmo cardíaco [1]. Su prevalencia aumenta con la edad, tal que aproximadamente el 4 y 15% de la población mundial mayor de 70 y 80 años, respectivamente, sufre esta arritmia cardíaca [2]. Además, aunque no es mortal por necesidad, facilita la formación de trombos dentro de las aurículas, aumentando así el riesgo de sufrir accidentes cerebrovasculares y, además, reduciendo la calidad de vida del pa-

ciente [1]. Consecuentemente, la apropiada gestión de esta arritmia supone un serio problema para los sistemas de salud del mundo desarrollado [3].

Considerando su evolución, la FA se puede clasificar en varios grupos [4]. Así, normalmente comienza con episodios paroxísticos (es decir, que terminan por sí mismos) de corta duración, los cuales tienden a ser más persistentes con el tiempo. Por tanto, en el primer grupo se encuentra la FA paroxística (FA), en la cual los episodios son auto-limitados y tienen una duración inferior a 7 días. En el segundo grupo se engloba a la FA persistente, la cual requiere de una intervención externa, tal como la cardioversión eléctrica o la ablación por catéter (AC), para su terminación. Cabe mencionar que aproximadamente entre el 15% y 31% de los pacientes de FAP evolucionan a persistente en un periodo de 4 a 8 años [5]. Finalmente, en el último grupo se encuadra a la FA permanente. En este caso, no es posible recuperar el ritmo sinusal normal (RSN) mediante ningún tratamiento, persiguiéndose entonces únicamente controlar el ritmo cardíaco [4].

Cuando se inicia un episodio de FA, independientemente de su duración, el impulso eléctrico generado en el nodo sinusal se reemplaza por un patrón complejo de despolarización de las aurículas, el cual cambia de forma rápida y aleatoria con cada latido [6]. De hecho, la bien definida onda P en el electrocardiograma (ECG) de superficie se reemplaza por ondas que varían en tiempo y morfología, las cuales se denominan ondas fibrilatorias (u ondas *f*) [7]. Sin embargo, todavía no se conocen completamente los mecanismos que provocan este comportamiento, aunque existen varias teorías al respecto [6]. Así, algunos trabajos soportan la idea de que la FA es generada por uno o varios focos fibrilatorios que generan una actividad de alta frecuencia que despolariza caóticamente las aurículas. Por otro lado, otros investigadores mantienen la hipótesis de que durante la FA se pueden encontrar varios frentes de onda, llamados reentradas, que se desplazan aleatoriamente por las aurículas, provocando así su desorganizada despolarización [6].

En este contexto y a pesar de los avances conseguidos en la última década, los diferentes tratamientos que existen hoy

en día todavía no son completamente eficientes para terminar de forma definitiva con esta arritmia [3]. Así, en los últimos años se está utilizando de forma habitual la AC para tratar a pacientes que no responden positivamente a un tratamiento farmacológico [8], pero la tasa de recurrencia de FA a largo plazo, en pacientes con una arritmia persistente, sigue siendo cercana al 50 % [9]. Por tanto, el desarrollo de herramientas capaces de predecir qué pacientes se podrían beneficiar de este tratamiento, antes de aplicarlo, sería clínicamente muy interesante.

Con este objetivo, muchos autores han analizado la información que podrían suministrar numerosos factores clínicos, tal como la recuperación del RSN a lo largo del procedimiento de AC [10] o el diámetro y el volumen de la aurícula izquierda [11], entre otros. Sin embargo, en numerosas ocasiones, estos parámetros han mostrado resultados contradictorios a la hora de predecir el resultado del procedimiento en diferentes instantes de tiempo después de la intervención (3, 6 y 12 meses) [12].

Así pues, como una alternativa a estos estudios, recientemente se ha analizado la capacidad de diferentes herramientas de procesamiento de señal para extraer información clínicamente útil desde el ECG de superficie. De hecho, varios autores han analizado las ondas f desde un punto de vista espectral, encontrando que la frecuencia auricular dominante (FAD) es un índice prometedor, el cual es capaz de predecir preoperatoriamente el resultado de la AC, incluso cuando se emplean diferentes protocolos de ablación [12,13]. Sin embargo, hasta el momento no se ha prestado mucha atención a otros índices espectrales, siendo por tanto el objetivo del presente trabajo analizar dos métricas que podrían complementar la información obtenidas por la FAD, tal como son su ancho de banda (AB) a 3 dB y la frecuencia mediana (FM) del espectro completo.

2. Métodos

2.1. Pacientes bajo estudio

El estudio consideró 12 pacientes con FA persistente, de los cuales se obtuvieron el ECG estándar de 12 derivaciones así como otros registros intracardiacos antes de aplicarles un procedimiento de AC. La duración de estas señales fue de 10 segundos, empleándose para su registro una frecuencia de muestreo de 977 Hz y 16 bits de cuantificación.

El protocolo utilizado de AC se ha descrito en varios trabajos previos [14], no obstante, de forma breve consistió en aislar la venas pulmonares y, posteriormente, eliminar áreas auriculares con una frecuencia 1.2 veces mayor que la basal. El procedimiento terminó cuando la FA revirtió a RSN o cuando ya no se apreciaron más áreas auriculares cumpliendo el criterio establecido. Cabe indicar que para todos los pacientes se interrumpió el tratamiento antiarrítmico, excepto con amiodarona, varios días antes de la intervención.

Todos los pacientes fueron seguidos después del procedimiento durante un periodo medio de 12 ± 7 meses, observándose que al final del mismo la mitad de ellos mantenían el RSN y la otra mitad habían recaído a FA.

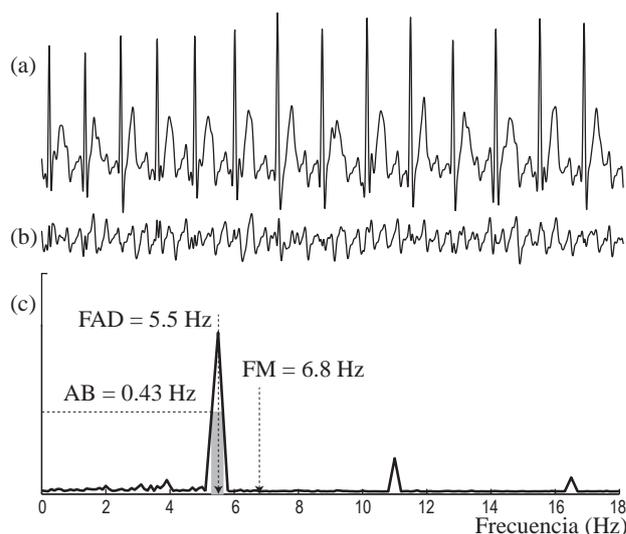


Figura 1. Ejemplo de un intervalo de ECG (a). Ondas f extraídas del intervalo (b). Estimación espectral realizada con los tres parámetros estudiados (c).

2.2. Caracterización espectral de las ondas f

A pesar de estar disponibles las 12 derivaciones del ECG estándar, solo se analizó la V1, ya que ésta contenía las ondas f de mayor amplitud, al tratarse de la derivación más cercana a la aurícula derecha [7]. Para facilitar su análisis posterior, en primer lugar, se le aplicó un preprocesado estándar [15]. Así, se filtró paso alto con una frecuencia de corte de 0.5 Hz para eliminar la línea base y, a continuación, se filtró paso bajo con una frecuencia de corte de 70 Hz para reducir el ruido muscular de alta frecuencia [15]. A la señal también se le aplicó un filtrado notch para eliminar la interferencia de la red eléctrica de 50 Hz [15]. Posteriormente, se extrajeron las ondas f mediante la cancelación del complejo QRST. Para ello, se detectaron todos los picos R en el segmento analizado y se obtuvo la plantilla ventricular para su sustracción como la primera componente principal de todos los complejos identificados [16]. Finalmente, se obtuvo la densidad espectral de potencia (DEP) de la señal resultante mediante el uso del periodograma de Welch, utilizando como parámetros una ventana Hamming de 4.096 puntos, un solapamiento del 50 % entre ventanas consecutivas y una transformada de Fourier de 10.240 puntos [17].

De acuerdo con una multitud de trabajos previos [12], la FAD se seleccionó como la frecuencia con mayor amplitud dentro del intervalo 3–9 Hz. También se obtuvo su AB a 3 dB como la diferencia entre las frecuencias superior e inferior a dicho pico, las cuales presentaban la mitad de amplitud mitad que el mismo. Finalmente, la frecuencia conteniendo el 50 % de la DEP del espectro completo fue considerada como la FM [18]. Este parámetro se ha estudiado ampliamente en electroencefalografía, ya que permite resumir la distribución de potencia en el espectro de una señal de forma sencilla y rápida [18]. La Figura 1 muestra un intervalo típico de ECG en FA, junto con su espectro y los tres parámetros estudiados.

2.3. Análisis estadístico

Los resultados a lo largo del artículo se expresan en valor medio \pm desviación estándar, dado que todos los parámetros mostraron ser normales (test de Kolmogorov-Smirnov). Así, para determinar la existencia de diferencias estadísticas entre grupos de pacientes se utilizó el test paramétrico de la *t*-Student, considerándose un valor de $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

Por otra parte, para evaluar la capacidad predictiva de los parámetros analizados se empleó la curva ROC (Receiver Operating Characteristics). Para cada parámetro, dicha curva se construyó seleccionando automáticamente diversos umbrales dentro de su rango de valores y calculando el par sensibilidad-especificidad para cada uno de ellos. La sensibilidad se consideró como el número de pacientes que habrían recaído a FA al final del seguimiento correctamente clasificados, mientras que la especificidad como la proporción de pacientes en RSN correctamente identificados. El porcentaje total de pacientes apropiadamente clasificados fue considerado como la precisión diagnóstica y el umbral óptimo fue determinado como aquél que maximizó esta precisión.

3. Resultados

La Figura 2 presenta el valor medio, la desviación estándar y el rango de los valores obtenidos por las tres métricas analizadas mediante diagramas de cajas y bigotes. Como se puede observar, tanto para la FAD como para el AB los pacientes que recayeron a FA durante el seguimiento ($6,60 \pm 0,46$ Hz y $0,47 \pm 0,15$ Hz) presentaron mayores valores que los que mantuvieron el ritmo sinusal ($6,20 \pm 0,96$ Hz y $0,42 \pm 0,12$ Hz). Sin embargo, en ninguno de los dos casos se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, ya que la significación estadística fue 0,07 y 0,18, respectivamente. Por contra, en este caso la FM mostró diferencias estadísticas entre ambos grupos de pacientes ($p = 0,02$), observándose además una tendencia contraria a los dos parámetros anteriores. De hecho, en la Figura 2 se puede observar cómo los pacientes que mantuvieron el RSN después del seguimiento ($6,42 \pm 0,17$ Hz) presentaron mayores valores medios de FM que aquellos que recayeron a FA ($6,02 \pm 0,30$ Hz).

De acuerdo con estas observaciones, también se encontró que la FM fue la métrica con mayor capacidad predictiva, tal como muestra la Tabla 1. Así, aunque los tres parámetros obtuvieron una misma sensibilidad del 83,33 %, la FAD y el AB presentaron menor valores de especificidad que el 100 % mostrado por la FM.

4. Discusión

La selección de los pacientes que van a responder a largo plazo de forma positiva a la AC es hoy en día un reto clínico muy interesante, ya que permitiría evitar los riesgos asociados al procedimiento en aquellos pacientes que tienen una alta probabilidad de recaer a FA poco tiempo después [12], así como ahorrar costes a los sistemas de salud, ayudándoles a organizar mejor sus recursos materiales

Parámetro	Sensibilidad	Especificidad	Precisión
FAD	83,33 %	83,33 %	83,33 %
AB	83,33 %	66,67 %	75,00 %
FM	83,33 %	100 %	91,67 %

Tabla 1. Resultados de la clasificación preoperatoria obtenida con los tres parámetros analizados para los pacientes que mantuvieron el RSN durante el seguimiento y los que no.

y económicos [8]. Dentro de este contexto y teniendo en cuenta el mejor de nuestro conocimiento, este trabajo presenta de forma pionera el estudio de dos parámetros espectrales que permiten complementar la información suministrada por la ampliamente estudiada FAD.

A diferencia de otros trabajos previos donde la FAD mostró ser un predictor interesante del resultado de la AC [12], en el presente estudio este índice no obtuvo un resultado tan relevante. De hecho, aunque consiguió una capacidad discriminante entre los dos grupos de pacientes considerados superior al 80 %, no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre sus valores medios. No obstante, es importante resaltar que este resultado podría estar limitado por la reducida base de datos considerada. Asimismo, también cabe resaltar que en este trabajo se empleó un protocolo de ablación notablemente diferente al utilizado por otros trabajos previos. Este aspecto es interesante puesto que Lemola *et al.* [13] han encontrado notables diferencias en la relación entre la FAD y el resultado de la AC, dependiendo del protocolo utilizado. Así, estos autores observaron cómo el aislamiento de venas pulmonares no modificaba el valor de este índice espectral, notándose un importante descenso de su valor cuando se ablacionaban las zonas auriculares que presentaban una conducción compleja y fragmentada.

Por otro lado, la concentración espectral de potencia alrededor de la FAD, medida por el AB, tampoco fue capaz de obtener diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que mantenían el RSN al final del seguimiento y los que no lo hacían. Cabe mencionar que también se observó un resultado muy similar cuando el AB se empleó para predecir el resultado de la cardioversión eléctrica antes de practicarla [17]. Por tanto, dado que ambos procedimientos provocan alteraciones muy diferentes del sustrato auricular, se podría considerar que esta métrica tampoco podría ser un buen predictor *a priori* del resultado de otras terapias actuales utilizadas para tratar la FA, tal como la cardioversión farmacológica o la cirugía cardiaca.

Finalmente, se debe resaltar que la FM obtuvo los mejores resultados de clasificación entre grupos de pacientes, pudiéndose así considerar un predictor más prometedor que la FAD del resultado de la AC. No obstante, sorprende un poco el cambio de tendencia en los valores medios de este parámetro con respecto a los obtenidos por la FAD, observándose mayores valores en los pacientes que mantenían el RSN al finalizar el seguimiento que en aquellos que presentaban recurrencia de la arritmia. No obstante, este resultado podría ser explicado por la presencia de armónicos de la FAD con mayor amplitud en los pacientes que mantenían el RSN. De esta forma, considerando

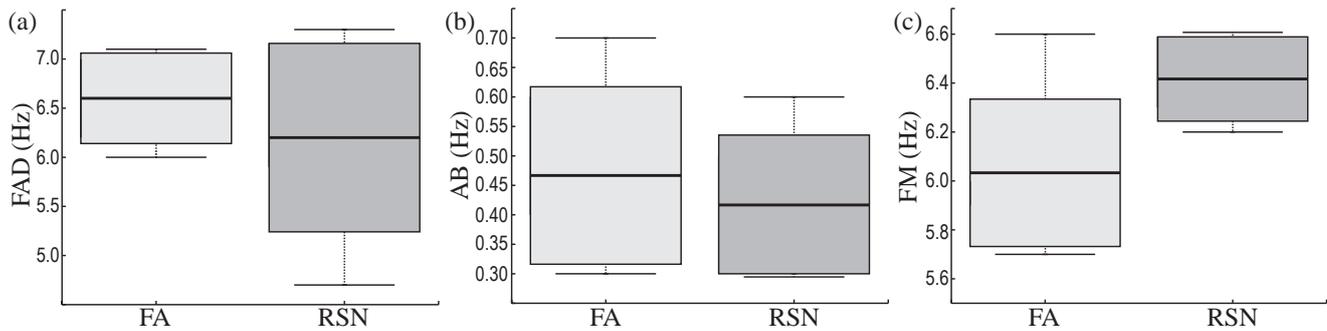


Figura 2. Diagramas de cajas y bigotes para las tres métricas analizadas: (a) FAD, (b) AB y (c) FM. Las cajas representan el valor medio \pm la desviación estándar y los bigotes el rango de los valores obtenidos.

que las arritmias organizadas se han asociado con armónicos de elevada amplitud [19], este resultado estaría en línea con la observación generalizada en múltiples trabajos previos de que existe una mayor probabilidad de éxito de la AC en pacientes con arritmias más organizadas [20]. No obstante, éste es solo un resultado preliminar que requiere ser validado con bases de datos mucho más extensas.

5. Conclusiones

El estudio espectral de las ondas fibrilatorias desde el ECG preoperatorio es capaz de obtener información clínicamente útil sobre el resultado a largo plazo de la ablación por catéter de los pacientes de FA persistente. Así, la frecuencia mediana mostró ser un mejor predictor del resultado de la ablación que la frecuencia auricular dominante y que su ancho de banda a 3 dB. No obstante, se requieren estudios mucho más amplios para validar la robustez de este parámetro.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por los proyectos TEC2014-52250-R del Ministerio de Economía y Competitividad y PPII-2014-026-P de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.

Referencias

- [1] January CT, Wann LS, Alpert JS, Calkins H, Cigarroa JE, et al. 2014 AHA/ACC/HRS guideline for the management of patients with atrial fibrillation. *Circulation* Dec 2014; 130(23):e199-267.
- [2] Zoni-Berisso M, Lercari F, Carazza T, Domenicucci S. Epidemiology of atrial fibrillation: European perspective. *Clin Epidemiol* 2014;6:213-20.
- [3] Censi F, Cianfrocca C, Purificato I. Atrial fibrillation and the 4P medicine. *Ann Ist Super Sanita* 2013;49(3):247-8.
- [4] Gallagher MM, Camm J. Classification of atrial fibrillation. *Am J Cardiol* Oct 1998;82(8A):18N-28N.
- [5] de Vos CB, Pisters R, Nieuwlaat R, et al. Progression from paroxysmal to persistent atrial fibrillation clinical correlates and prognosis. *J Am Coll Cardiol* Feb 2010;55(8):725-31.
- [6] Schotten U, Verheule S, Kirchhof P, Goette A. Pathophysiological mechanisms of atrial fibrillation: a translational appraisal. *Physiol Rev* Jan 2011;91(1):265-325.
- [7] Petrutiu S, Ng J, Nijm GM, Al-Angari H, Swiryn S, Sahakian AV. Atrial fibrillation and waveform characterization. A time domain perspective in the surface ECG. *IEEE Eng Med Biol Mag* 2006;25(6):24-30.
- [8] Gerstenfeld EP, Duggirala S. Atrial fibrillation ablation: Indications, emerging techniques, and follow-up. *Prog Cardiovasc Dis* Aug 2015;.
- [9] Ganesan AN, Shipp NJ, et al. Long-term outcomes of catheter ablation of atrial fibrillation: a review and meta-analysis. *J Am Heart Assoc* 2013;2(2):e004549.
- [10] Elayi CS, Di Biase L, Barrett C, Ching CK, et al. Atrial fibrillation termination as a procedural endpoint during ablation in long-standing persistent atrial fibrillation. *Heart Rhythm* Sep 2010;7(9):1216-23.
- [11] de Vries LJ, Akca F, Khan M, Dabiri-Abkenari L, Janse P, et al. Clinical outcome of ablation for long-standing persistent atrial fibrillation with or without defragmentation. *Neth Heart J* Jan 2014;22(1):30-6.
- [12] Yoshida K, Aonuma K. Catheter ablation of atrial fibrillation: Past, present and future directions. *Journal of Arrhythmia* 2012;28:83-90.
- [13] Lemola K, Ting M, Gupta P, et al. Effects of two different catheter ablation techniques on spectral characteristics of atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* Jul 2006;48(2):340-8.
- [14] Atienza F, Almendral J, Jalife J, Zlochiver S, et al. Real-time dominant frequency mapping and ablation of dominant frequency sites in atrial fibrillation with left-to-right frequency gradients predicts long-term maintenance of sinus rhythm. *Heart Rhythm* Jan 2009;6(1):33-40.
- [15] Sörnmo L, Laguna P. *Biomedical Signal Processing in Cardiac and Neurological Applications*. Elsevier Academic Press, 2005.
- [16] Alcaraz R, Rieta JJ. Adaptive singular value cancelation of ventricular activity in single-lead atrial fibrillation electrocardiograms. *Physiol Meas* Dec 2008;29(12):1351-69.
- [17] Alcaraz R, Rieta JJ. Time and frequency recurrence analysis of persistent atrial fibrillation after electrical cardioversion. *Physiol Meas* May 2009;30(5):479-89.
- [18] Hornero R, Escudero J, Fernández A, Poza J, Gómez C. Spectral and nonlinear analyses of MEG background activity in patients with alzheimer's disease. *IEEE Trans Biomed Eng* Jun 2008;55(6):1658-65.
- [19] Stridh M, Sörnmo L, Meurling CJ, Olsson SB. Sequential characterization of atrial tachyarrhythmias based on ECG time-frequency analysis. *IEEE Trans Biomed Eng* Jan 2004;51(1):100-14.
- [20] Di Marco LY, Raine D, Bourke JP, Langley P. Characteristics of atrial fibrillation cycle length predict restoration of sinus rhythm by catheter ablation. *Heart Rhythm* Sep 2013; 10(9):1303-10.

DetECCIÓN AUTOMÁTICA DE LAS ONDAS DE ACTIVACIÓN EN ELECTROGRAMAS DE FIBRILACIÓN AURICULAR MEDIANTE TRANSFORMADA WAVELET PARTICULARIZADA

J. Felix¹, R. Alcaraz¹, J.J. Rieta²

¹Grupo de Investigación en Ingeniería Electrónica, Biomédica y de Telecomunicaciones, Universidad de Castilla-La Mancha, Cuenca, España, {jorge.felix, raul.alcaraz,}@uclm.es

²Biomedical Synergy, Dpto. de Ingeniería Electrónica, Universidad Politécnica de Valencia, España, jjrieta@upv.es

Resumen

La ablación por catéter, siempre que se realice sobre las zonas auriculares apropiadas, ha demostrado ser una terapia efectiva para el tratamiento de la Fibrilación Auricular (FA). Este guiado se lleva a cabo generalmente con mapas electro-anatómicos, que conlleva una tarea manual en gran medida, y consume gran parte del tiempo de intervención. Parte de este trabajo es la detección precisa de las Ondas de Activación (OA) en los Electrogramas (EGM) de FA. Este estudio presenta un novedoso algoritmo para la detección automática de estas OAs. En él los EGMs de FA se descompusieron usando una Wavelet Madre (WM) a medida, generada a partir del patrón de activación con la mayor correlación media dentro de la propia señal. A partir de las anotaciones manuales llevadas a cabo por dos expertos sobre 21 señales, el algoritmo identificó correctamente 959 de las 970 OAs presentes en la base de datos. Por tanto, el experimento dió lugar a una sensibilidad, positividad predictiva y precisión de $99.18\% \pm 1.35\%$, $99.69\% \pm 0.66\%$ y $98.90\% \pm 1.51\%$, respectivamente. Estos resultados sugieren que el método es capaz de identificar las OAs de forma robusta, descartando otros patrones no auriculares, tales como ruido, artefactos u oscilaciones de la línea base, la cual pueden provocar falsas detecciones.

1. Introducción

La Fibrilación Auricular (FA) se caracteriza por una rápida y descoordinada activación auricular, y en la práctica clínica diaria es la arritmia cardíaca más común. El riesgo de desarrollar FA durante la vida de un individuo medio es del 1 – 2% sobre la población del mundo desarrollado [1], y las estadísticas se incrementan con el envejecimiento poblacional [2]. A pesar de los progresos en las últimas décadas, las terapias aplicadas a este tipo de arritmia distan todavía de alcanzar un porcentaje de éxito satisfactorio [1]. Últimamente, la ablación por catéter ha demostrado ser la herramienta más efectiva para el tratamiento sintomático de los pacientes de FA con resistencia a las terapias farmacológicas [3]. Aún así, la aplicación satisfactoria de este procedimiento sigue requiriendo un guiado electro-anatómico preciso para localizar apropiadamente las áreas que deben ser ablacionadas [4].

Esto ha llevado a que, la combinación de los mapeos anatómicos en 3D junto con la localización de las Ondas de Activación (OA) se convierta en una potente herramien-

ta para el guiado de la ablación [5]. Los mapeos se llevan a cabo mediante la medida y representación de los Electrogramas (EGM) respecto de sus correspondientes coordenadas tridimensionales. Teniendo en cuenta que durante los episodios de FA estos EGMs presentan patrones de activación altamente complejos, fraccionados, y variables durante su evolución [1], la detección de las OAs se realiza o corrige manualmente, convirtiéndose en una labor tediosa, subjetiva y costosa en tiempo y recursos [6, 7]. De ahí que la detección automática de estas OAs aporte un importante avance en este contexto, proporcionando objetividad e interacción en tiempo real que conduce a mapeos más precisos, rápidos y estandarizados [4].

Actualmente se pueden encontrar diversos algoritmos en la literatura para la detección de OAs. Algunos de ellos [4, 8] se basan en el ampliamente utilizado pre-procesado de Botteron & Smith para el tratamiento de EGMs [9]. Otros utilizan bases de datos de OAs construídas matemáticamente para correlarlas con los EGMs [5, 10, 11]. En cualquier caso, todos ellos sufren un incremento de la imprecisión a medida que los EGMs tratados aumentan su complejidad y fraccionamiento [5].

Por otra parte, la Transformada Wavelet (TW) ha demostrado ser útil en el tratamiento de este tipo de EGMs [12, 13]. No en vano, Houben et al [12] mejoraron su algoritmo previo para la detección de OAs basado en la correlación con bases de datos de OAs a través de la incorporación de esta herramienta. Se ha utilizado también para la detección de activaciones ventriculares [13]. Sin embargo, en ambos casos la descomposición de los EGMs se llevó a cabo utilizando funciones wavelet estándar, tales como la primera derivada de la forma Gausiana [12] o la *quadratic spline* [13]. Este trabajo hipotetiza con la posibilidad de mejorar la detección de OAs mediante el uso de una función wavelet confeccionada a medida para cada uno de los EGMs analizados. Para ello se parte de la asunción de que, una forma de onda más cercana a las OAs que deben ser detectadas, amplificaría dichas OAs más complejas y/o enmascaradas con otros artefactos no-auriculares presentes en la señal, a la vez que minimizarían las áreas entre OAs que no aportan información útil al estudio.

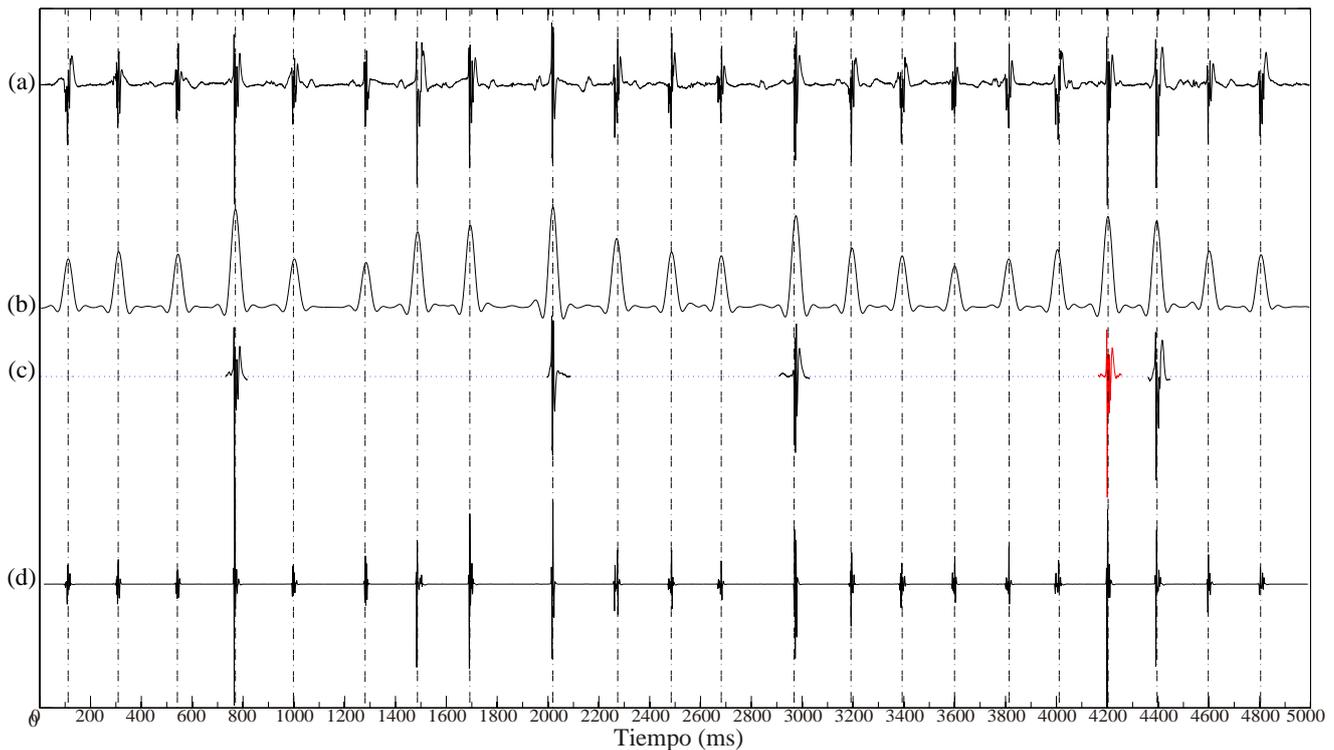


Figura 1. De arriba a abajo, proceso general de identificación de OAs. La línea (a) es el EGM original del que, una vez obtenida la transformación definida por Botteron y Smith, y representada en la línea (b), se extraen 5 OAs mostradas en la línea (c). Finalmente la OA marcada en rojo (la que mostró mayor correlación con la señal), se estableció como patrón para convertirse en la WM adaptada. La línea (d) muestra el final del proceso donde la combinación de coeficientes aporta máximas amplitudes que coinciden con cada OA de la señal original.

2. Materiales

Para el estudio se empleó una base de datos de 21 EGMs obtenidos en diferentes localizaciones de la superficie endocárdica de ambas aurículas, durante un mínimo de 10 segundos, y mediante un catéter Navi-Star (Biosense Webster, Inc., Diamond Bar, CA). Todas las señales se obtuvieron con una frecuencia de muestreo de 1 KHz, y se filtraron paso bajo con frecuencia de corte de 400 Hz. Finalmente, dos expertos electrofisiólogos hicieron una anotación ciega de las OAs presentes en cada EGM.

3. Métodos

La Transformada Wavelet Continua (TWC) es una herramienta de análisis tiempo-frecuencia que permite descomponer una señal como combinaciones de una función $\psi(t)$ llamada Wavelet Madre (WM), dilatada y/o trasladada en función de los parámetros a y b respectivamente. Para una señal $x(t)$, esta transformación se puede obtener como:

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

Una de las fortalezas de esta transformada radica en que la WM puede ser escogida de entre una gran variedad de funciones y familias predefinidas, de forma que se ajuste lo mejor posible a las características del análisis. Incluso en aplicaciones más complejas, la MW puede ser diseñada específicamente a partir de un patrón concreto que reúna ciertas características de interés [14]. Bajo esta premisa, y

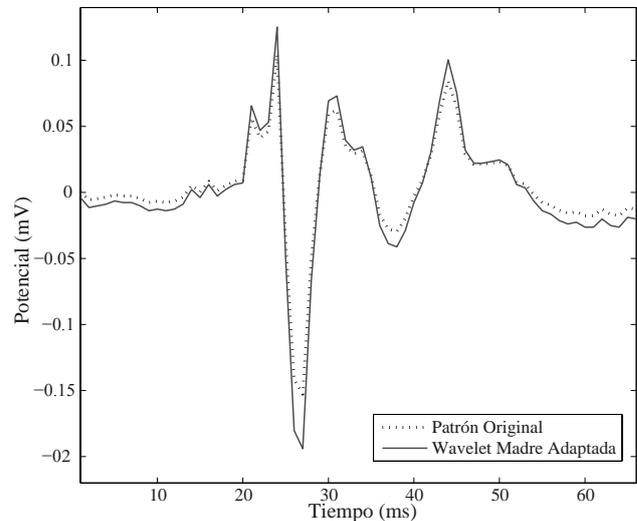


Figura 2. La línea punteada muestra la OA original extraída como patrón. Tras la transformación basada en mínimos cuadrados, la línea en negrita representa la WM adaptada en base a las condiciones de la teoría de wavelets.

para obtener un modelo capaz de adaptarse lo mejor posible a las OAs, se procedió a aplicar sobre la señal original la técnica de pre-procesado de Botteron y Smith [9]. Así, todo EGM se filtró paso banda entre 40 Hz y 250 Hz mediante un filtro FIR de orden 20. A continuación se obtuvo el valor absoluto de la señal resultante, para por último aplicar bidireccionalmente un filtro FIR paso bajo de orden

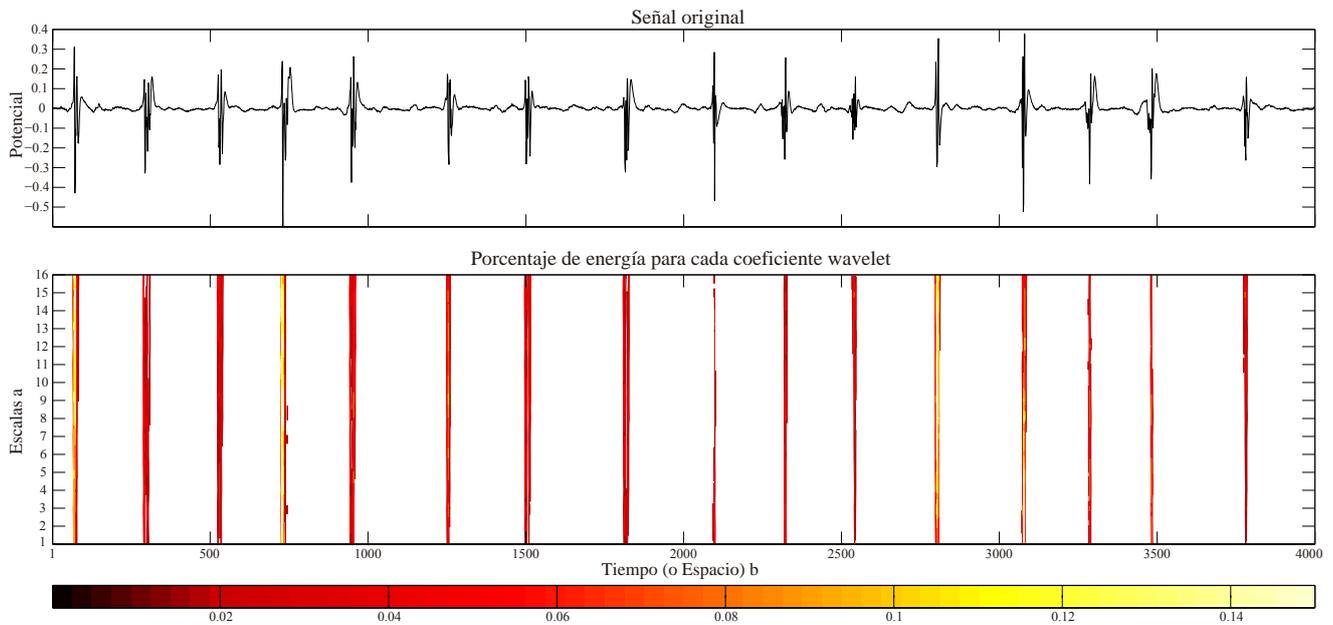


Figura 3. Abajo escalograma que muestra la distribución de la energía wavelet como una función del tiempo y de la escala para el EGM representado arriba. Como se puede observar, dicha energía se concentra fundamentalmente en el centro de las OAs con bajo grado de dispersión.

20 con frecuencia de corte de 20 Hz. De la onda resultante se seleccionaron las 5 máximas amplitudes, tal cual se observa en las líneas (b) y (c) de la figura 1, extrayendo así las 5 OAs más representativas de la actividad auricular desde el punto de vista morfológico y de amplitud. A continuación se correló cada una de ellas con toda la señal, y aquella con mejor correlación promedio se eligió como patrón para ser transformada en WM (OA en rojo en la línea (c) de la figura 1).

Para convertir este nuevo patrón en una WM funcional, se tuvo que asegurar el cumplimiento de los tres criterios matemáticos que aparecen en las siguientes ecuaciones,

$$\int_{-\infty}^{+\infty} |\psi(t)|^2 dt < \infty, \quad (2)$$

$$\hat{\psi}(f) = \int_{-\infty}^{+\infty} \psi(t)e^{-i(2\pi f)t} dt, \quad (3)$$

$$C_g = \int_0^{+\infty} \frac{|\psi(t)|^2}{f} df < \infty. \quad (4)$$

donde $\hat{\psi}(f)$ representa la transformada de Fourier de la WM, y C_g la constante de admisibilidad de la que dependen los rangos de frecuencia cubiertos por cada escala a [14]. En base a estas premisas, y utilizando el método de ajuste basado en mínimos cuadrados, el patrón fue convertido en una WM admisible como la representada en la figura 2, cuyo perfil muestra una alta proximidad con el modelo de referencia. Esto se debe a que el cumplimiento de la admisibilidad de la MW obtenida es relativamente fácil de conseguir para el análisis continuo [14], siendo válida prácticamente cualquier función cuya integral sea 0.

Con la WM generada se llevó a cabo la TWC en 16 escalas ajustadas experimentalmente de forma equiespaciada para que su equivalente frecuencial cumpliera las necesidades

del algoritmo. La figura 3 contiene el escalograma correspondiente a esa descomposición, donde se puede apreciar como la energía aparece estrechamente concentrada justo en cada instante temporal donde se encuentra el centro de una OA. Cualquiera de estas escalas obtenidas hubiera podido utilizarse por tanto para la detección de las OAs. Para mejorar dicha detección, el algoritmo combinó exponencialmente las seis primeras escalas obtenidas [12], y normalizó a continuación la onda resultante de acuerdo con la amplitud de la señal original. Por último se procesaron las detecciones en base a un umbral definido experimentalmente que permitió diferenciar las OAs amplificadas de cualquier otra mínima oscilación debida a ruido u otros artefactos. También se incluyó una modificación para evitar la falta de OAs en la detección. Para cada OA identificada se computó la distancia temporal con su precedente, de forma que si el valor obtenido supera los 350 ms, el algoritmo disminuye el umbral de detección para aumentar la sensibilidad en búsqueda de una posible OA intermedia. También se definió un margen de 75ms alrededor de cada OA detectada para evitar marcaciones redundantes.

4. Resultados

Para la evaluación del algoritmo se emplearon los indicadores de *Sensibilidad (Se)* y *Predictividad Positiva (P⁺)* definidos como la relación entre el número de OAs correctamente identificadas y ese mismo número modificado por las detecciones incorrectas. Así, para el cálculo de la *Se* se consideró como incorrecciones las OAs no detectadas, a las cuales se les denomina falsos negativos (FNs). Por su parte, para la *P⁺*, se consideraron como falsas detecciones los puntos puntos incorrectamente marcados como OAs, siendo también denominados falsos positivos (FPs). Finalmente, el porcentaje de OAs correctamente identificadas con respecto al total de ellas se definió como la *Precisión*

(P) y también se obtuvo para todos los EGMs.

Los dos expertos identificaron manualmente 970 OAs, de las cuales el algoritmo propuesto detectó correctamente 959. De las 11 detecciones erradas, 3 correspondieron a FPs y 8 a FNs, lo cual se tradujo en valores globales de Se , P^+ y P de 99.17%, 99.69% y 98.86% respectivamente. En promedio para todos los registros se obtuvieron valores muy similares. Así, las medias y desviaciones típicas obtenidas fueron $Se = 99,18\% \pm 1,35\%$, $P^+ = 99,69\% \pm 0,66\%$ y $P = 98,90\% \pm 1,51\%$.

5. Discusión

Este trabajo ha introducido por primera vez un algoritmo para la detección de OAs mediante el uso de una TWC basada en una MW adaptada a cada señal bajo análisis. Los resultados obtenidos mostraron una alta eficiencia, así como una ínfima tasa de errores de detección al tratar con diferentes áreas de ambas aurículas. Este comportamiento se podría explicar por el hecho de que, la WM adaptada a cada registro analizado, es capaz de ampliar los tramos temporales donde se ubica cada OA ignorando al mismo tiempo otras oscilaciones debidas a ruido u otros artefactos, como queda patente en la figura 1. Además las áreas entre OAs también sufrieron una minimización que facilitó el establecimiento del umbral de detección. Esto supone, por tanto, una mejora con respecto a otros métodos de detección previos, tales como aquellos basados en el pre-procesado propuesto por Botteron y Smith [9], donde el establecimiento adecuado de este umbral resulta complejo y debe ser adaptado a cada señal [4]. En cualquier caso, debe mencionarse que este método también usa el pre-procesado de Botteron & Smith como paso inicial. Aún así, su empleo se limita a la detección inicial de un número pequeño y limitado de OAs. De esta forma se evita la principal limitación de esta técnica, que consiste en la dificultad de distinguir automáticamente entre el ruido, y las activaciones auriculares de baja amplitud [4]. Esto supone por tanto una limitación que no afecta al funcionamiento del algoritmo propuesto.

En consecuencia, el presente método podría ser un primer paso para el desarrollo de mapas anatómicos más fiables y precisos, los cuales podrían ser empleados para mejorar el guiado de la ablación mediante catéter, así como para mejorar la comprensión de los mecanismos característicos de la FA. En cualquier caso, esta nueva herramienta debe ser validada mediante bases de datos más amplias para demostrar su robustez y reproducibilidad.

6. Conclusiones

El uso de una WM adaptada a cada EGM bajo estudio ha permitido detectar de forma precisa las OAs durante episodios de FA. El algoritmo ha mostrado una reducida tasa de FPs y FNs, y por tanto, gracias a la alta eficiencia mostrada, está preparado para ser validado en un estudio prospectivo.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por los proyectos TEC2014-52250-R del Ministerio de Economía y Compe-

titividad y PPII-2014-026-P de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.

Referencias

- [1] Fuster V, Rydén LE, Cannom DS, Crijns HJ, Curtis AB, Ellenbogen KA, Halperin JL, Kay GN, Le Huezey JY, Lowe JE, et al. 2011 ACCF/AHA/HRS focused updates incorporated into the ACC/AHA/ESC 2006 Guidelines for the management of patients with atrial fibrillation: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines developed in partnership with the European Society of Cardiology and in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *Journal of the American College of Cardiology* 2011;57(11):e101-e198.
- [2] Heeringa J, van der Kuip DA, Hofman A, Kors JA, van Herpen G, Stricker BHC, Stijnen T, et al. Prevalence, incidence and lifetime risk of atrial fibrillation: the rotterdam study. *European heart journal* 2006;27(8):949-953.
- [3] Calkins H, Kuck KH, Cappato R, Brugada J, Camm AJ, Chen SA, Crijns HJ, Damiano RJ, Davies DW, DiMarco J, et al. 2012 hrs/ehra/ecas expert consensus statement on catheter and surgical ablation of atrial fibrillation: recommendations for patient selection, procedural techniques, patient management and follow-up, definitions, endpoints, and research trial design. *Europace* 2012;14(4):528-606.
- [4] Ng J, Sehgal V, Ng JKY, Gordon D, Goldberger JJ. Iterative method to detect atrial activations and measure cycle length from electrograms during atrial fibrillation. *Biomedical Engineering IEEE Transactions on* 2014;61(2):273-278.
- [5] Treo EF, Cervantes DO, Ciaccio EJ. Automated detection and mapping of electrical activation when electrogram morphology is complex. *Biomedical Signal Processing and Control* 2013;8(1):41-49.
- [6] Ng J, Kadish AH, Goldberger JJ. Effect of electrogram characteristics on the relationship of dominant frequency to atrial activation rate in atrial fibrillation. *Heart Rhythm* 2006;3(11):1295-1305.
- [7] Verheule S, Tuyls E, van Hunnik A, Kuiper M, et al. Fibrillatory conduction in the atrial free walls of goats in persistent and permanent atrial fibrillation. *Circulation Arrhythmia and Electrophysiology* 2010;3(6):590-599.
- [8] Faes L, Ravelli F. A morphology-based approach to the evaluation of atrial fibrillation organization. *IEEE Engineering In Medicine And Biology Magazine* 2007;4(26):59-67.
- [9] 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. *Biomedical Engineering IEEE Transactions on* 1995;42(6):579-586.
- [10] Houben RP, de Groot NM, Lindemans FW, Allesie MA. Automatic mapping of human atrial fibrillation by template matching. *Heart Rhythm* 2006;3(10):1221-1228.
- [11] Lin C. YJ, Lowe J. E. MT, Lin C, Chang Li-Wei HD, et al. Nonlinear analysis of fibrillatory electrogram similarity to optimize the detection of complex fractionated electrograms during persistent atrial fibrillation. *Journal of cardiovascular electrophysiology* 2013;24(3):280-289.
- [12] Houben RP, De Groot N, Allesie M, et al. Analysis of fractionated atrial fibrillation electrograms by wavelet decomposition. *Biomedical Engineering IEEE Transactions on* 2010;57(6):1388-1398.
- [13] Alcaine A, Soto-Iglesias D, Calvo M, Guiu E, Andreu D, Fernández-Armenta J, Berrueto A, Laguna P, Camara, et al. A wavelet-based electrogram onset delineator for automatic ventricular activation mapping. *Biomedical Engineering IEEE Transactions on* 2014;61(12):2830-2839.
- [14] Misiti M, Misiti Y, Oppenheim G, Poggi JM. *Wavelets and their Applications*. John Wiley & Sons, 2013.

Verificación sobre la Fidelidad de los Mapas de Fase para Representar Actividad Eléctrica en Fibrilación Auricular

J. Felix¹, V. Jacquemet², R. Alcaraz¹, J.J. Rieta³

¹Grupo de Investigación en Ingeniería Electrónica, Biomédica y de Telecomunicaciones, Universidad de Castilla-La Mancha, Cuenca, España, {jorge.felix, raul.alcaraz}@uclm.es

²Department of Molecular and Integrative Physiology, University of Montreal, Canada, vincent.jacquemet@umontreal.ca

³Biomedical Synergy, Dpto. de Ingeniería Electrónica, Universidad Politécnica de Valencia, Gandia, España, jjrieta@upv.es

Resumen

El mapeo de Fase (MF) permite representar rotores estables para guiar la ablación por catéter en Fibrilación Auricular (FA). Para su obtención se aplica la Transformada de Hilbert (TH) a los Electrogramas (EGM) provenientes de los Mapas de Potencial (MP). En la literatura no se han reportado trabajos que localicen rotores estables con el uso de los MPs, ni siquiera con mapeos de alta densidad. Este trabajo estudia la transformación sufrida por los MPs al ser convertidos a MFs debida a los diferentes preprocesados, interpolaciones y aplicaciones de la TH en sí misma. Se ha empleado un modelo biofisiológico en 3D de las aurículas humanas sobre el que se simuló un episodio de FA de 3.5 segundos mediante la generación de 5594 EGMs. Con él se crearon dos MFs: a) Simulación de un catéter tipo 'basket' de 64 EGMs en cada aurícula y posterior interpolación hasta un total de 10921 EGMs para procesarlos con la TH y obtener el MF. b) A partir de la interpolación anterior, se aplicó un doble filtrado: Paso bajo a 30 Hz y paso banda con ancho de banda de 2 Hz centrado en la frecuencia dominante. Finalmente, con la TH se obtuvo el MF. La similitud entre cada uno de estos MF y su correspondiente MP fue comparada mediante el algoritmo 'Earth Mover's Distance'. En el caso a) se obtuvo una similitud media del 72,26% ± 11,24% mientras que en el caso b) descendió hasta el 34,43% ± 7,81%. En conclusión, los MFs pueden transformar notablemente los MPs originales, añadiendo cierta remanencia a la actividad fibrilatoria que no se ha documentado en MPs de alta densidad.

1. Introducción

La Fibrilación Auricular (FA) es la arritmia cardíaca más común encontrada en la práctica clínica, con una prevalencia en el mundo desarrollado del 12% en los estratos poblacionales de mayor edad [1]. Debido al envejecimiento poblacional, se espera que en los próximos 50 años se doblen estas estadísticas [2]. Además, la morbilidad de la FA hace que cada vez aumenten más las consultas médicas y hospitalizaciones debidas a esta enfermedad, y en consecuencia, los costes que ocasionan [3]. Se ha demostrado que la FA tiende a perpetuarse debido, principalmente, a los cambios biológicos y electrofisiológicos que esta arrit-

mia produce en el tejido auricular [4]. No obstante, todavía existe un notable desconocimiento sobre los mecanismos que desencadenan y mantienen esta arritmia y, por tanto, su estudio debe marcarse como objetivo para la mejora de los tratamientos y soluciones terapéuticas en FA [2]. Dentro de este contexto no han dejado de surgir nuevas técnicas de mapeo en los últimos años [5,6] tratando de representar la actividad fibrilatoria. Entre ellas se encuentra el Mapeo de Fase (MF) que representa los cambios en el ciclo auricular por mediación de una distribución de su fase a lo largo del tiempo [7]. Para ello esta fase se usa como descriptor que distribuye el valor de la señal del mencionado ciclo en un intervalo de 2π radianes. El análisis de estos patrones de fase puede dar lugar a conclusiones importantes sobre la actividad auricular durante la FA, ayudando a la mejor comprensión de los mecanismos que la originan e incluso permitiendo el guiado de ciertas técnicas ablativas [8,9].

La obtención de los valores de fase precisa una conversión desde los potenciales originales del EGM. Esto se lleva a cabo, generalmente, mediante el uso de la Transformada de Hilbert (TH) [7]. También existe la alternativa de computar la fase como diferencia entre el valor del potencial $v(t)$ en un determinado instante, y el mismo valor respecto de cierto retardo $v(t + \tau)$ [8]. Los MFs fueron introducidos por Winfree hace casi 30 años [10], aunque su auge, así como el de las Singularidades de Fase (SF), llegó tras su aplicación al estudio de la dinámica de los procesos fibrilatorios cardíacos [11]. En esta línea Bray et al. [12] desarrollaron un método para la detección de las SFs, definidas como puntos alrededor de los cuales se completa una evolución de la fase desde $-\pi$ a $+\pi$. A partir de aquí, otros autores destacaron la importancia de estas SFs como puntos centrales alrededor de los cuales ciertos frentes de onda ruedan en espiral creando vórtices llamados rotores presentes en fibrilaciones cardíacas [11].

Diversos trabajos en la literatura han relacionado los rotores y sus correspondientes SFs como puntos de fragmentación de los frentes de onda durante la fibrilación ventricular [13], y los han considerado también sustentadores de la FA [9]. Recientemente, Narayan et al. [14] han asegurado que la ablación de esas SFs, como centro de rotores

estables, puede terminar exitosamente con los episodios de FA en un número importante de pacientes. Por ello, y dado que estos MFs han sido creados desde los Mapas de Potenciales (MP), ambos tipos de mapas deben ser comparados para establecer sus diferencias tanto cualitativas como cuantitativas. Sin embargo, existe carencia de este tipo de comparativas en la literatura. Por tanto el objetivo de este trabajo es cuantificar las diferencias entre las imágenes obtenidas por los MPs originales y sus correspondientes transformaciones en MFs mediante el uso del algoritmo 'Earth Mover's Distance (EMD)' [15], capaz de evaluar el coste de transformación de una imagen en otra. Se pretende, por tanto, valorar en qué medida la actividad fibrilatoria auricular mostrada en los MFs refleja lo que realmente está ocurriendo durante el episodio de FA.

2. Materiales

Dado que las técnicas de mapeo actuales son incapaces de proporcionar medidas de alta densidad sobre toda la superficie auricular simultáneamente durante un episodio de FA, en su lugar se ha empleado un modelo biofisiológico [16]. El modelo fue desarrollado en 3D a partir de 1,04 millones de elementos cúbicos con una resolución de 0,33 mm. su geometría se basó en imágenes obtenidas por resonancia magnética de las aurículas humanas. A partir de aquí, se realizó la simulación de un episodio de FA de 3,5 segundos de duración, del que se obtuvieron un total de 5.594 EGMs con frecuencia de muestreo de 1kHz. Información ampliada del modelo, así como de las particularidades los EGMs que puede generar, se puede consultar en [16, 17].

3. Métodos

Tras ejecutar la simulación de los EGMs de FA, se procedió a la creación de los MPs representando los valores de potencial $v(t)$. Se hizo sobre sus respectivas coordenadas geométricas en la superficie tridimensional de cada aurícula a lo largo de todos los instantes de tiempo.

Por otro lado, para obtener el mapa de fase de una señal, debe aplicarse la TH [7], la cual cuando se procesa sobre una función real $v(t)$ queda matemáticamente definida como,

$$\tilde{v}(t) = \frac{1}{\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{v(\tau)}{t - \tau} d\tau, \quad (1)$$

donde $v(t)$ se convierte en un complejo de la forma $a + jb$. De esta forma, la fase ϕ se extrae fácilmente mediante la operación $\phi = \tan^{-1}(b/a)$.

Partiendo de los MPs obtenidos del modelo, se computaron dos MFs: a) A partir de los EGMs obtenidos se extrajeron 64 de ellos en cada aurícula, simulando la medida tomada por sendos catéteres tipo *basket*. Con estas medidas se interpolaron linealmente 10921 EGMs para alcanzar un mapeo de alta densidad sobre el total de la superficie auricular. Tras la interpolación, se computó la TH [7]. b) El segundo de los MFs también se obtuvo mediante la técnica de interpolación, tras la cual, se calculó la Frecuencia Dominante (FD) de cada uno de los electrogramas. La FD

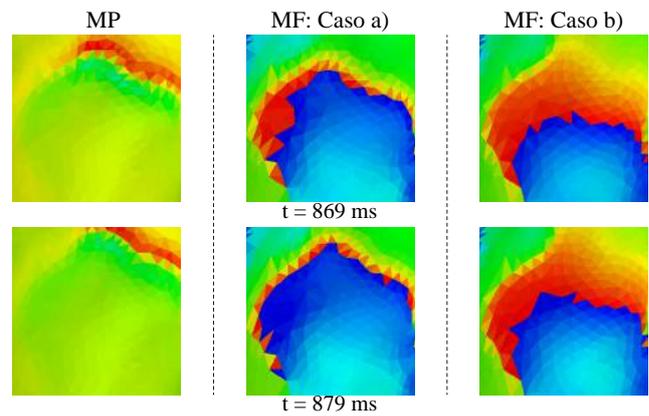


Figura 1. Representación de mapas en color jet. A la izquierda se ve el frente de onda original representado en el MP. El MF del caso a) muestra un rotor casi extinto, mientras que el del caso b) mejora y alarga la duración de la representación del rotor.

se obtiene de cada electrograma como aquel valor de frecuencia con mayor densidad espectral de potencia. A continuación, antes de computar la TH, los resultados fueron pre-procesados previamente [18]. En primer lugar a cada EGM se le aplicó un filtro FIR paso bajo bidireccional de orden 40 con frecuencia de corte fijada en 30 Hz. El siguiente paso fue, sobre la misma señal, aplicar un filtrado bidireccional FIR paso banda con ancho de banda de 2 Hz alrededor de la FD previamente calculada para cada EGM [18, 19].

Los MFs se representan tradicionalmente mediante el clásico *jet colormap* [7, 11, 18]. Sin embargo, esta puede no ser una representación apropiada para la comparación cuantitativa entre imágenes de MP y MF. Así, se pretendió evitar una comparación injusta entre mapas que, en lugar de centrarse específicamente en las formas del frente de onda, estuviese influenciada también por las variaciones de color impropias, como las representadas en la Figura 1, que pudiesen alterar los resultados de la comparativa. Por tanto, cada mapa se representó siguiendo una escala de un solo color proporcional a los valores máximos y mínimos calculados, tal como se puede apreciar en la Figura 2. De cada uno de los mapas se extrajo un conjunto de 45 imágenes compuestas por 256×256 píxeles, obtenidas todas de instantes de tiempo comunes a todos los mapas. Para la localización de las imágenes se eligió la pared libre de la aurícula izquierda, dado que este es el punto en que se localizó un rotor perfectamente definido. El MP también se transformó a la misma escala de color y de él se extrajeron la misma cantidad de imágenes en la misma localización auricular e instantes de tiempo. Finalmente, cada una de las imágenes del MP se comparó por pares con cada una de las imágenes sacadas de sendos casos de MFs en idénticos instantes de tiempo.

La cuantificación de la comparación entre los mencionados MPs y MFs se llevó a cabo usando el algoritmo EMD [15], capaz de calcular el mínimo coste necesario para transformar una imagen en otra. Para ello se convirtió cada imagen en una signatura característica representada por una matriz cuadrada de 256×256 elementos. Cada par de estas matri-

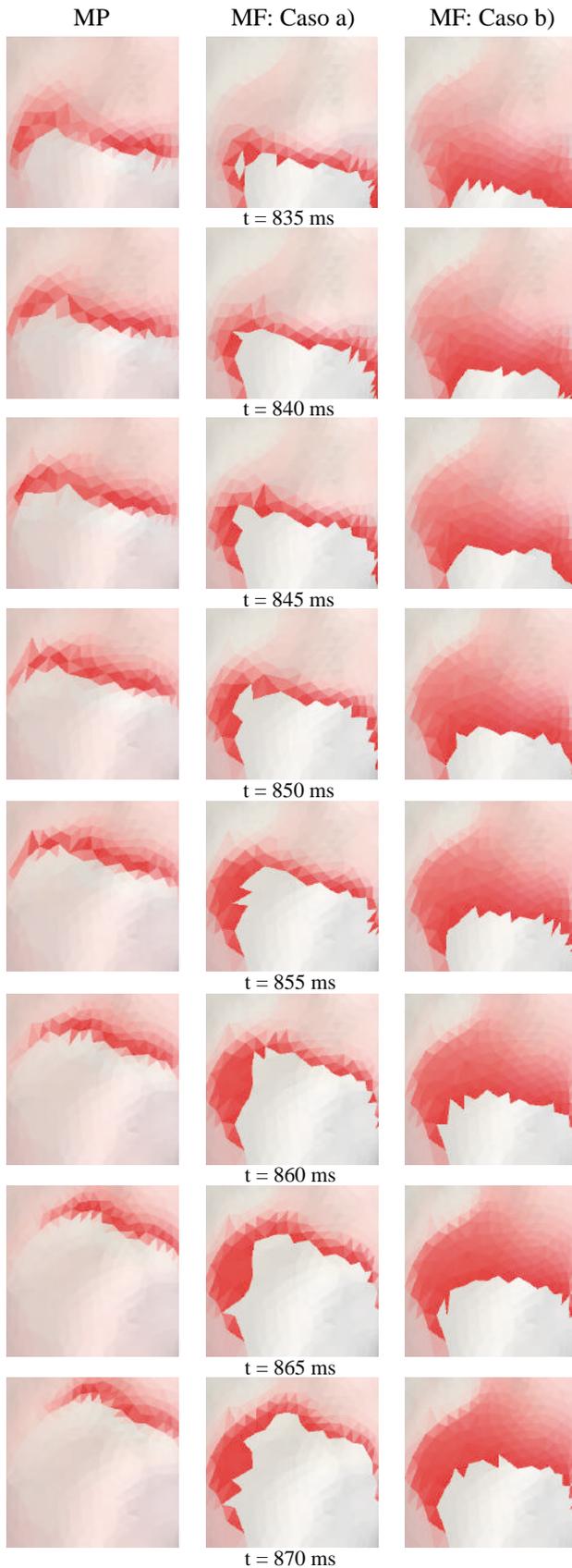


Figura 2. Frente de onda fibrilatorio en la pared libre de la aurícula izquierda. Obsérvese cómo en el MP evoluciona, casi plano, hacia la esquina superior derecha de cada imagen. Sin embargo, en los MF interpolados a) y preprocesados b) se transforma en espiral dando la apariencia de ser un rotor.

ces **P** y **Q** están compuestas por los respectivos elementos p_{ij} y q_{ij} que representan el nivel de rojo entre 0 y 1 de cada uno de los píxeles de la imagen bajo análisis. EMD define también una matriz distancia base **D** del mismo tamaño que las anteriores, y cuyos elementos d_{ij} cuantifican la Distancia Euclídea entre los correspondientes elementos p_{ij} y q_{ij} en el espacio de color CIE-Lab [20]. Con estos valores, el objetivo es encontrar la matriz flujo **F** que minimice el coste total de convertir una de las imágenes de la comparativa en la otra de acuerdo con la función

$$f(\mathbf{P}, \mathbf{Q}, \mathbf{F}) = \sum_{i=1}^{256} \sum_{j=1}^{256} d_{ij} f_{ij}, \quad (2)$$

donde cada elemento f_{ij} aporta el flujo entre el par p_{ij} y q_{ij} . Con ello, finalmente el EMD normalizado se obtiene haciendo

$$\text{EMD}(\mathbf{P}, \mathbf{Q}) = \frac{\sum_{i=1}^{256} \sum_{j=1}^{256} d_{ij} f_{ij}}{\sum_{i=1}^{256} \sum_{j=1}^{256} f_{ij}}, \quad (3)$$

y se convierte al porcentaje de similitud que se presenta a continuación en el apartado de resultados.

4. Resultados

Las FDs del total de señales interpoladas para los MFs oscilaron entre 2,2 Hz y 15,1 Hz con una media y desviación típica de $5 \pm 1,89$ Hz, respectivamente. Se realizaron comparaciones por pares de las 45 imágenes de los MPs y MFs extraídas y representadas con el mismo tamaño, localización, escala de color e instante de tiempo de simulación. Los resultados de similitud media y desviación típica fueron los siguientes: a) Para la comparación entre el grupo de imágenes del MP y el del MF extraído tras la interpolación lineal simulando el catéter tipo *basket* se obtuvo un $72,26\% \pm 11,24\%$; b) Para la comparación en el segundo caso entre el grupo de imágenes del MP y el del MF obtenido añadiendo las etapas de filtrado descritas en la sección de métodos, se obtuvo un $34,43\% \pm 7,81\%$. Más allá de estos resultados, la Figura 2 aporta una representación de la colección de imágenes que permite una comparación visual cualitativa de la actividad en cada uno de los mapas. Se observa cómo el frente de onda que evoluciona casi linealmente hacia su desaparición en la esquina superior derecha en el MP, aparece representado en forma espiral como rotor en los MFs, siendo especialmente significativa su forma en el segundo caso, dando la apariencia de convertirse en un rotor.

5. Discusión

Las técnicas de mapeo de fase han evolucionado con la introducción de nuevas etapas de pre-procesado que intentan mejorar la representación y proporcionar estabilidad en la visualización de rotores [14, 18]. Sin embargo, incluso desde la introducción de este método por parte de Winfree, ha habido una falta de estudios comparativos entre MPs y MFs que permitan validar las consecuencias que la transformación de Hilbert produce. Además, varios autores han planteando los MFs como métodos de representación de la

actividad reentrante durante FA que podrían servir como una herramienta prometedora para el guiado de la ablación por radiofrecuencia [14, 19]. Sin embargo, se ha de tener en cuenta que, tan pronto como estos mapas se complementan con diferentes etapas de pre-procesado como las presentadas aquí, no sólo se transforma la representación de la actividad rotacional de los frentes de onda, sino que también se incrementa la diferencia con respecto a los MPs originales. Esto introduce distorsiones en los frentes de onda que deberían ser consideradas con especial cuidado a la hora de evaluar tanto la existencia de rotores, como su estabilidad en el tiempo [21]. Finalmente, cabe decir que este trabajo presenta la limitación intrínseca de su desarrollo con señales simuladas. Sus resultados deben ser verificados con señales reales de FA, así como extenderse a comparativas en otras escalas de colores.

6. Conclusiones

Tras una comparación tanto cualitativa como cuantitativa entre MPs y MFs en FA por mediación del algoritmo EMD, se ha probado un aumento paulatino de la distorsión en las imágenes así como la inclusión de actividad fibrilatoria reentrante a medida que se incorporan nuevos pre-procesados adicionales. Esto lleva a la conclusión de que los MFs, especialmente cuando se basan en interpolaciones previas y otros filtrados, deben ser manejados con cautela, ya que su representación puede alterar significativamente los MPs originales. Esto puede llevar a la aparición de actividad fibrilatoria o incluso rotores estables que, por contra, son inobservables en mapas de potenciales de alta densidad.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por los proyectos TEC2014-52250-R del Ministerio de Economía y Competitividad y PPII-2014-026-P de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.

Referencias

[1] January CT, Wann LS, Alpert JS, Calkins H, Cigarroa JE, Cleveland JC, et al. 2014 AHA/ACC/HRS guideline for the management of patients with atrial fibrillation: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society. *Journal of the American College of Cardiology*, December 2014.

[2] Gillis AM, Krahn AD, Skanes AC, Nattel S. Management of atrial fibrillation in the year 2033: new concepts, tools, and applications leading to personalized medicine. *The Canadian journal of cardiology* October 2013;29(10):1141-1146.

[3] Sheikh A, Patel NJ, Nalluri N, Agnihotri K, Spagnola J, Patel A, Asti D, Kanotra R, Khan H, Savani C, Arora S, Patel N, Thakkar B, Patel N, Pau D, Badheka AO, Deshmukh A, Kowalski M, Viles-Gonzalez J, Paydak H. Trends in Hospitalization for Atrial Fibrillation: Epidemiology, Cost, and Implications for the Future. *Progress in cardiovascular diseases* July 2015;.

[4] Goette A, Honeycutt C, Langberg JJ. Electrical remodeling in atrial fibrillation time course and mechanisms. *Circulation* 1996;94(11):2968-2974.

[5] Konings K, Kirchhof C, Smeets J, Wellens, et al. High-density mapping of electrically induced atrial fibrillation in humans. *Circulation* 1994;89(4):1665-1680.

[6] 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. *Journal of the American College of Cardiology* 2004;43(11):2044-2053.

[7] Umaphathy K, Nair K, Masse S, Krishnan S, Rogers J, Nash MP, Nanthakumar K. Phase mapping of cardiac fibrillation. *Circulation Arrhythmia and Electrophysiology* 2010; 3(1):105-114.

[8] Iyer AN, Gray RA. An experimentalist's approach to accurate localization of phase singularities during reentry. *Annals of biomedical engineering* 2001;29(1):47-59.

[9] Jalife J, Berenfeld O, Mansour M. Mother rotors and fibrillatory conduction: a mechanism of atrial fibrillation. *Cardiovascular research* 2002;54(2):204-216.

[10] Winfree AT. *When time breaks down: the three-dimensional dynamics of electrochemical waves and cardiac arrhythmias*. Princeton University Press Princeton, 1987.

[11] Gray RA, Pertsov AM, Jalife J. Spatial and temporal organization during cardiac fibrillation. *Nature* 1998; 392(6671):75-78.

[12] Bray MA, Wikswo JP. Considerations in phase plane analysis for nonstationary reentrant cardiac behavior. *Physical Review E* 2002;65(5):051902.

[13] Liu YB, Peter A, Lamp ST, Weiss JN, Chen PS, Lin SF. Spatiotemporal correlation between phase singularities and wavebreaks during ventricular fibrillation. *Journal of cardiovascular electrophysiology* 2003;14(10):1103-1109.

[14] Narayan SM, Krummen DE, Shivkumar K, Clopton P, Rappel WJ, Miller JM. Treatment of atrial fibrillation by the ablation of localized sources: CONFIRM (Conventional Ablation for Atrial Fibrillation With or Without Focal Impulse and Rotor Modulation) trial. *Journal of the American College of Cardiology* 2012;60(7):628-636.

[15] Rubner Y, Tomasi C, Guibas LJ. The earth mover's distance as a metric for image retrieval. *International journal of computer vision* 2000;40(2):99-121.

[16] Virag N, Jacquemet V, Henriquez C, Zozor S, Blanc O, Vesin JM, Pruvot E, Kappenberger L. Study of atrial arrhythmias in a computer model based on magnetic resonance images of human atria. *Chaos An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science* 2002;12(3):754-763.

[17] Jacquemet V, Virag N, Ihara Z, Dang L, Blanc O, Zozor S, Vesin JM, Kappenberger L, Henriquez C. Study of unipolar electrogram morphology in a computer model of atrial fibrillation. *Journal of cardiovascular electrophysiology* 2003; 14(s10):S172-S179.

[18] Rodrigo M, Guillem MS, Climent AM, Pedrón-Torrecilla J, Liberos A, Millet J, Fernández-Avilés F, Atienza F, Berenfeld O. Body surface localization of left and right atrial high-frequency rotors in atrial fibrillation patients: A clinical-computational study. *Heart Rhythm* 2014; 11(9):1584-1591.

[19] Atienza F, Climent AM, Guillem MS, Berenfeld O. Frontiers in noninvasive cardiac mapping: Rotors in atrial fibrillation-body surface frequency-phase mapping. *Cardiac electrophysiology clinics* 2015;7(1):59-69.

[20] Wyszecki G, Stiles WS. *Color science, volume 8*. Wiley New York, 1982.

[21] Allesie M, de Groot N. CrossTalk opposing view: Rotors have not been demonstrated to be the drivers of atrial fibrillation. *The Journal of physiology* August 2014;592(Pt 15):3167-3170.

Potenciales Evocados Auditivos en el Síndrome de Dravet. Otra aplicación de los potenciales evocados auditivos generados por tonos modulados en amplitud mediante chirps.

M. Valencia^{1,3}, E. Urrestarazu^{2,3}, R. Sánchez-Carpintero^{2,3}, S. Cieza^{2,3}, M. Alegre^{2,3}, J. Artieda^{2,3}

¹ Neurofisiología de Sistemas, CIMA, Universidad de Navarra, Pamplona España

² Clínica Universidad de Navarra, Universidad de Navarra, Pamplona, España

³ IdiSNA, Instituto e Investigación Sanitarias de Navarra, Pamplona, España

{mvustarroz, eurrestara, rsanchezc, malegre, jartieda}@unav.es, sciezao@gmail.com

Resumen

Esta comunicación muestra cómo la utilización de los potenciales auditivos evocados por tonos modulados en amplitud mediante chirps podrían servir para caracterizar la evolución de niños con síndrome de Dravet (SD). El SD es una enfermedad que se inicia con crisis epilépticas en el primer año de vida del lactante y que evoluciona con una importante ralentización en el desarrollo psicomotor que deriva en importantes déficits cognitivos. A fin de evaluar hasta qué punto la actividad cerebral está alterada en este tipo de pacientes registramos mediante EEG la respuesta cortical asociada a estímulos auditivos formados por tonos modulados en amplitud mediante chirps. Los análisis muestran cómo los niños con síndrome de Dravet presentan una respuesta mucho más reducida que los niños controles o niños con otro tipo de epilepsias. Es por que ello que los potenciales auditivos evocados por tonos modulados mediante chirps podrían constituirse como una herramienta clínica que permitiera a los neuropediatras evaluar el progreso de la enfermedad de forma cualitativa.

1. Introducción

El síndrome de Dravet (SD) es una enfermedad que se inicia con crisis epilépticas en el primer año de vida del lactante (1). Tras un desarrollo psicomotor previamente normal, la enfermedad evoluciona en el segundo año de vida con la aparición de crisis epilépticas farmacorresistentes que ocasionan múltiples hospitalizaciones. A partir del segundo año de vida también se observa una ralentización en el desarrollo psicomotor y surgen importantes alteraciones en la conducta, con síntomas de inatención, hiperactividad y algunos rasgos del espectro del autismo (2). La evolución es hacia un déficit cognitivo moderado o severo en casi todos los casos, que dificulta la adquisición de una vida autónoma en la edad adulta (3).

Se sabe que el SD tiene un fuerte componente genético ya que más del 80% de los pacientes portan una mutación en un gen que codifica una subunidad de los canales de sodio voltaje dependientes. Dado que este canal se encuentra en un tipo de interneuronas inhibitorias GABAérgicas que se conoce tienen un papel esencial en la generación de

actividades neurofisiológicas en el rango gamma (~40 Hz), es esperable que estos niños presenten anomalías oscilatorias. Esta disfunción en los canales de sodio también podría explicar la existencia de una excitabilidad neuronal anormal que podría estar dando lugar a las crisis epilépticas. La coincidencia en el tiempo de la alteración en el desarrollo psicomotor con la exacerbación de las crisis epilépticas sugiere que serían las propias crisis las responsables del desarrollo cognitivo y conductual anómalos del niño con SD. Sin embargo, cada vez hay mayor evidencia de que los déficit cognitivos no se explican únicamente por las crisis o la actividad epileptiforme.

A fin de profundizar en los mecanismos que pudieran mediar en esta degeneración, en esta comunicación proponemos utilizar una técnica neurofisiológica que permite evaluar la respuesta oscilatoria de un sujeto sin necesidad de que este deba mostrar un alto grado de cooperación, circunstancia muy relevante a la hora de trabajar con niños y especialmente cuando éstos presentan síndromes de hiperactividad, déficit de atención o retraso mental.

2. Material y Métodos

El protocolo de registro empleado ha sido ya descrito en publicaciones previas (4,5,6). Se realiza un EEG mientras los sujetos son sometidos a estimulación auditiva mediante tonos modulados en amplitud según una señal oscilatoria que incrementa su frecuencia entre 1 y 120 Hz en un periodo de 1.6 segundos (ver Figura 1). Se registra la respuesta a varias realizaciones del mismo y a continuación se procede a analizar los mismos evaluando la coherencia entre barridos (inter-trial coherence, ITC).

Se registró la respuesta en 11 niños control, 10 niños con SD y otros 10 niños con epilepsias no asociadas al SD. Al menos se registraron 200 respuestas con buena calidad donde la señal se digitalizó a 5000 Hz filtrándose entre 0.3 y 1000 Hz.

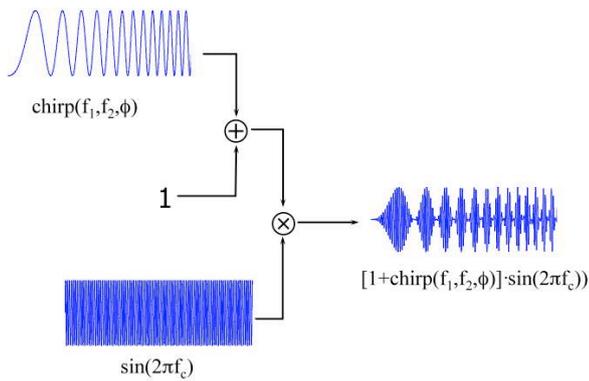


Figura 1. Síntesis del estímulo auditivo que consiste en una frecuencia portadora (f_c) que se fija a una frecuencia audible 1000 Hz y que es modulada en amplitud por una señal cuya frecuencia se incrementa linealmente desde 1 a 120 Hz en un periodo de tiempo de 1.6 segundos (chirp).

Se calculó la ITC para cada canal y sujeto y se seleccionó para el posterior análisis estadístico el canal que mejor relación señal a ruido presentaba (generalmente situado en los electrodos centrales)

Una vez obtenida la respuesta de cada uno de los sujetos, se procedió a realizar el análisis estadístico mediante un ANOVA no-paramétrico utilizando un esquema de permutaciones basado en clústeres.

3. Resultados

Como puede observarse en la Figura 2, cualitativamente puede observarse claramente como el grand-average de los sujetos control posee una respuesta mucho más clara que la que corresponde a los sujetos con SD. Los sujetos con otro tipo de epilepsias presenta una respuesta muy marcada pero la frecuencia de respuesta máxima es menor que en el caso de los controles.

El análisis estadístico basado en clústeres confirma esta percepción de forma que los pacientes con Dravet presentan una respuesta que es significativamente menor ($p < 0.05$) que los niños controles en los rangos 38-65 y 115-127 Hz. Los sujetos epilépticos por su parte muestran una respuesta significativamente menor que los sujetos control en un rango más reducido que abarca frecuencias entre 55 y 64 Hz y 115-125 Hz. Interesantemente, puede apreciarse como los potenciales evocados por tonos modulados por un chirp son capaces de establecer diferencias entre las respuestas generadas en niños con SD y niños con otro tipo de epilepsias. Si bien no existen diferencias a las frecuencias más altas (~80 Hz), sí que se observa que los niños con SD poseen una respuesta de amplitud significativamente menor que la de los niños con otro tipo de epilepsia en rangos entorno a 30 Hz.

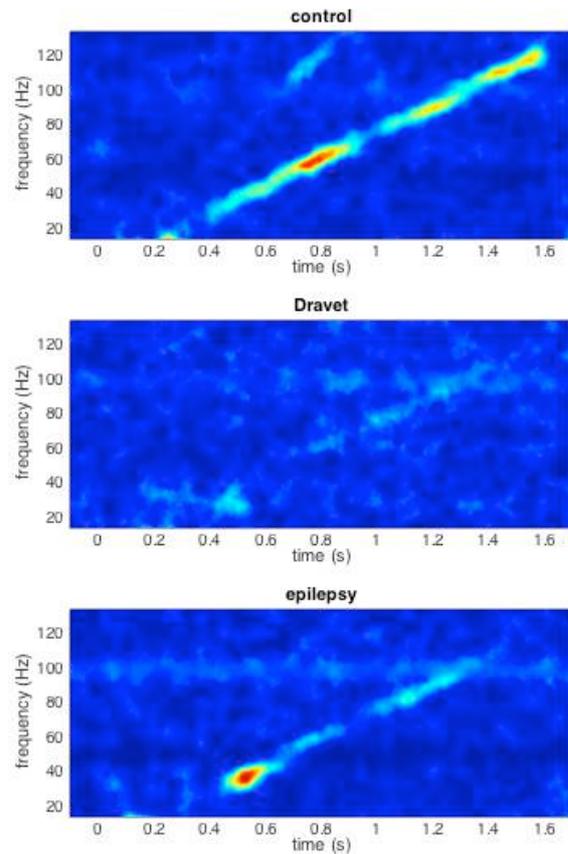


Figura 2. Grand-average de las respuestas obtenidas para cada uno de los grupos. Las respuestas evocadas se caracterizan por una señal con características frecuenciales similares a las de la frecuencia moduladora. Nótese que existen ciertas frecuencias en las que la respuesta es mayor. Como puede apreciarse, existen claras diferencias entre la respuesta generada en cada uno de los grupos de niños.

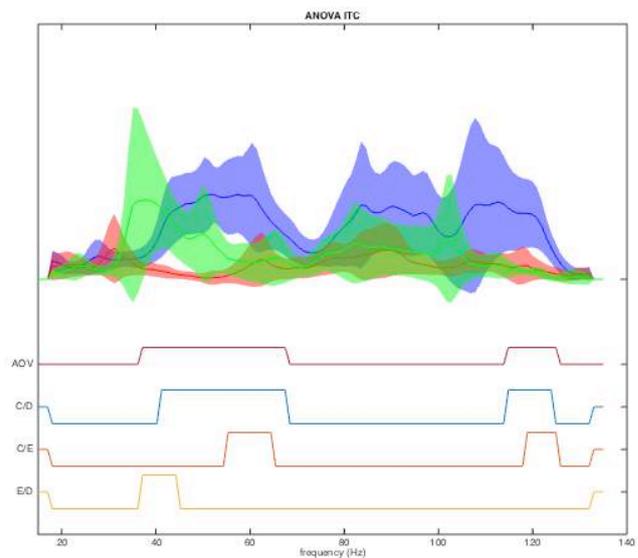


Figura 3. (parte superior) Media e intervalo de confianza del conjunto de respuestas para cada uno de los grupos analizados. (parte inferior) representación gráfica de las regiones en las que se detectan efectos significativos de grupo (AOV) y resultado de los post-hoc llevados a cabo: C/D comparación control/dravet, C/E control/epilépticos y E/D epilépticos/dravet.

4. Conclusiones

Los resultados preliminares obtenidos en este estudio indican que las respuestas de estado estable están severamente alteradas en pacientes con SD, sugiriendo un deterioro global de los mecanismos envueltos en la generación de actividad oscilatoria cortical. Si bien se requieren más estudios para establecer, si esta anomalía se debe a la mutación, a la presencia de una encefalopatía, o a la administración de fármacos epilépticos, resulta evidente que es posible llevar a cabo este test neurofisiológico en niños en los que frecuentemente existen problemas de cooperación y que es posible detectar diferencias significativas entre los distintos grupos, por lo que esta herramienta podría constituirse como posible marcador clínico bien de la evolución de la enfermedad bien del efecto terapéutico que puedan tener los tratamientos orientados a luchar contra la misma.

Agradecimientos

Este estudio ha sido parcialmente financiado por la Fundación Síndrome de Dravet.

Referencias

- [1] Dravet Cles èpilepsies graves de lénfant Vie Med 1978; 8:543-548.
- [2] Hurst DL. Epidemiology of severe myoclonic epilepsy of infancy. *Epilepsia*. 1990 Jul-Aug;31(4):397-400.
- [3] Wolff M, Casse-Perrot C, Dravet C. Severe myoclonic epilepsy of infants (Dravet syndrome): natural history and neuropsychological findings. *Epilepsia*. 2006;47 Suppl 2:45-48
- [4] J. Artieda, M. Valencia, M. Alegre, O. Olaziregi, E. Urrestarazu, and J. Iriarte, "Potentials evoked by chirp-modulated tones: a new technique to evaluate oscillatory activity in the auditory pathway," *Clinical Neurophysiology*, vol. 115, no. 3, pp. 699–709, Mar. 2004.
- [5] M. Alegre, C. Barbosa, M. Valencia, M. Perez-Alcazar, J. Iriarte, and J. Artieda, "Effect of reduced attention on auditory amplitude-modulation following responses: A study with chirp-evoked potentials," *Journal of Clinical Neurophysiology*, vol. 25, no. 1, pp. 42–47, Feb. 2008.
- [6] G. Arrondo, M. Alegre, J. Sepulcre, J. Iriarte, J. Artieda, and P. Villoslada, "Abnormalities in brain synchronization are correlated with cognitive impairment in multiple sclerosis," *Multiple Sclerosis Journal*, vol. 15, no. 4, pp. 509–516, Apr. 2009.

Simulación y Planificación Quirúrgica

Miércoles 4 de Noviembre

Planificación de cirugía láser endoscópica para el tratamiento optimizado de tumores de colon

M. L. Pelayo-Fernández, F. Fanjul-Vélez, P. A. Valero-Díaz, I. Salas-García, J. L. Arce-Diego

Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Santander, España, {fanjulf,arcedj}@unican.es

Resumen

Los tumores gastrointestinales presentan una gran incidencia hoy en día. Patologías como la ectasia vascular antral gástrica o la proctitis actínica pueden requerir cirugía endoscópica de coagulación con argón plasma (APC) o radiofrecuencia. Sin embargo, estas técnicas presentan desventajas como un área de tratamiento reducida o incompatibilidad con resonancia magnética. La cirugía óptica podría salvar estas limitaciones para la eliminación de tumores de colon. En este trabajo se emplea un modelo de Monte Carlo para estudiar la propagación óptica y un modelo de ablación óptica que permite estimar el volumen de tejido eliminado. Atendiendo a la geometría y localización del tumor, se ha obtenido el requerimiento de potencia láser necesario a diferentes longitudes de onda para eliminar tumores cuyo tamaño y posición varían dentro de la estructura histológica del colon. Los resultados obtenidos presentan un gran interés para planificar adecuadamente la eliminación de tumores de colon mediante cirugía láser endoscópica.

1. Introducción

El uso de la radiación óptica en los tejidos biológicos con fines terapéuticos permanece en constante aumento. La cirugía láser es una prometedora técnica en varios campos de la práctica clínica como en oftalmología o dermatología [1]. Las patologías del colon son muy frecuentes en los humanos y pueden afectar de forma severa a su correcto funcionamiento [2]. Actualmente existe una gran variedad de métodos quirúrgicos para el tratamiento del cáncer de colon y de recto como la electrocirugía multipolar, la radiofrecuencia, la crioterapia o la terapia fotodinámica [3]. La mayoría de ellas permiten la eliminación de un segmento de colon dañado. Sin embargo, estos tipos de tratamiento tienden a ser muy agresivos con el paciente o presentan otras desventajas como la incompatibilidad magnética, el uso de sustancias extrínsecas o la falta de un control preciso de la extensión del tejido sometida al tratamiento [4]. El uso de cirugía láser evita estos problemas.

Uno de los aspectos más relevantes en el tratamiento endoscópico de patologías es el control del volumen de tejido que recibe los efectos del tratamiento. En este trabajo se analiza en detalle el proceso de ablación óptica en función de las características del tejido biológico y los parámetros de la fuente óptica. La propagación óptica a diferentes longitudes de onda se analiza mediante una aproximación de Monte Carlo sobre un tejido tumoral cuyo tamaño y posición varían dentro de la estructura

histológica del colon. Se emplea un método de ablación óptica blow-off que permite estimar el volumen de tejido eliminado para la muestra de tejido tumoral en función de los parámetros del láser. La implementación actual permite optimizar el tratamiento endoscópico del tejido del colon controlando el efecto de ablación deseado y evitando efectos colaterales indeseados en el tejido sano. El artículo está estructurado en las siguientes secciones. En la sección 2 se presenta la fundamentación de los métodos empleados para el cálculo de la propagación óptica y del proceso de ablación. A continuación, en la sección 3 se aplican los métodos presentados anteriormente al caso particular de tumores de colon con diferente morfología y localización. La sección 4 recoge los resultados obtenidos y su discusión y finalmente, en la sección 5 se presentan las conclusiones.

2. Propagación óptica y ablación

Los tejidos biológicos son medios turbios con un índice de refracción mayor que el del aire. En este tipo de medios, los efectos de las interfases son cruciales ya que una porción de la radiación incidente se refleja en la interfaz aire-tejido. A medida que la luz se propaga por el tejido se atenúa debido a la absorción y el scattering de los fotones.

2.1. Propagación óptica

Los tejidos biológicos se pueden modelar como un conjunto de partículas de scattering distribuidas aleatoriamente. Los efectos de scattering múltiple producen un campo fuertemente incoherente por lo que se puede despreciar la contribución de los términos de interferencia a la potencia del medio.

La Teoría de Transporte de la Radiación (RTT) describe matemáticamente el transporte de energía óptica a través del medio. El estudio del transporte de la luz en un tejido biológico implica conocer la distribución de campo difuso que en la mayoría de los casos es la componente principal de la penetración de la luz. En aquellos casos en los que la absorción es dominante, la luz no alcanza profundidades elevadas en el tejido. Si por el contrario, la absorción es lo suficientemente baja, la penetración de la luz es importante y el proceso que domina el transporte de energía en el medio es el scattering. Este último caso se produce en un rango de longitudes de onda conocido como ventana terapéutica, en el cual se logra que la penetración de la luz en el tejido sea máxima [5]. Las

propiedades ópticas de los tejidos más relevantes son el índice de refracción, los coeficientes de absorción y de scattering y la anisotropía de scattering. Dichas propiedades determinan la transmisión total del tejido a una determinada longitud de onda [5, 6].

La aplicación del método de Monte Carlo a la propagación de fotones proporciona una aproximación flexible y rigurosa al transporte óptico en los tejidos turbios y permite resolver la ecuación del transporte de la radiación como se indica en la ecuación (1). El parámetro básico de la luz es la intensidad específica $I(\vec{r}, \hat{s})$ definida como la potencia de luz por unidad de área por unidad de ángulo sólido. La luz se propaga desde la dirección \hat{s}' a la dirección \hat{s} . Los eventos de scattering se tratan de acuerdo a la función de fase de scattering $p(\hat{s}, \hat{s}')$, μ_a es el coeficiente de absorción, μ_s es el coeficiente de scattering y Ω es el ángulo sólido.

$$\hat{s} \cdot \nabla I(r, \hat{s}) = -(\mu_a + \mu_s)I(r, \hat{s}) + \frac{\mu_s}{4\pi} \int_{4\pi} p(\hat{s}, \hat{s}') I(r, \hat{s}') d\Omega' \quad (1)$$

El método de Monte Carlo es un método de naturaleza estadística que proporciona varias variables físicas simultáneamente y requiere bastante tiempo de computación porque calcula la propagación de un gran número de fotones. Una de las aproximaciones más utilizadas de este método es la conocida como MCML [7], en la que cada fotón tiene un paso variable y un peso asignado que se modifica en cada interacción del fotón con el tejido. Es necesario especificar las propiedades ópticas del tejido así como el grosor de cada sección del tejido multicapa. El procedimiento emplea una asignación dinámica de datos y como consecuencia los elementos diferenciales de la malla se pueden modificar (Δz , Δr , N_z , N_r) en el tiempo de ejecución. Los fotones se propagan en tres dimensiones, registrándose el punto de depósito de los fotones para calcular la absorción en cada elemento de la matriz de la malla espacial y la fluencia (J/cm^2) dividiendo la deposición por el coeficiente de absorción local. Esta aproximación también registra el escape de fotones en la zona superior e inferior.

2.2. Método de ablación

Existe una gran variedad de mecanismos de interacción que se producen cuando se aplica luz láser en un medio biológico. Estos mecanismos se pueden clasificar en cinco tipos fundamentales: interacción fotoquímica, interacción fototérmica, fotoablación, ablación inducida por plasma y fotorruptura [8]. La ablación fototérmica generalmente se asocia con periodos de exposición largos [6], por ejemplo con un láser de CO_2 de onda continua.

Un modelo complejo de ablación de tejidos debe considerar las propiedades mecánicas de los tejidos biológicos, el mecanismo de ablación dominante, la desnaturalización térmica, las transiciones de fase o las propiedades ópticas dinámicas [8]. Se pueden emplear aproximaciones simplificadas, desde los modelos mecanicistas, como el modelo termomecánico o el modelo de vaporización en estado estacionario, hasta los modelos heurísticos como el de blow-off o los modelos de estado estacionario. Los modelos heurísticos de estado

estacionario son válidos para fuentes láser pulsadas de microsegundos y se asume un umbral de densidad de energía para que se produzca la ablación óptica. Un modelo de blow-off establece un umbral de exposición radiante finita para que comience la ablación. Se asume que la eliminación de material comienza tras finalizar la irradiación. Estas consideraciones requieren que exista confinamiento térmico, lo que se cumple en términos generales para pulsos por debajo de 100 ns [8].

El uso de modelos de umbral de ablación está muy extendido ya que se pueden medir los parámetros directamente. La ablación óptica mediante pulsos de nanosegundos se puede explicar generalmente mediante los mecanismos fundamentales de la ablación inducida por plasma. La descripción del proceso en un rango espectral amplio requiere la consideración de factores como la ionización multifotón y la ionización por absorción óptica. Se ha propuesto un modelo de umbral de ablación para una duración de pulso mayor [9] mediante la ecuación (2) que desprecia la ionización multifotón. En dicha expresión $\tilde{\beta}$ es la ionización de avalancha reducida que tiene en cuenta las colisiones inelásticas.

$$\frac{\delta \rho}{\delta t} = \tilde{\beta} \rho(t) - g \rho(t) \quad (2)$$

Es posible resolver analíticamente la ecuación (2) y obtener un valor umbral para la fluencia F_{th} [9] tal y como se indica en la expresión (3).

$$\eta F_{th} = \frac{1}{2} \ln \left(\frac{N_{th}}{N_0} \right) + \sqrt{\left(\frac{1}{2} \ln \left(\frac{N_{th}}{N_0} \right) \right)^2 + \frac{\tau}{2\tau_c} + \frac{\tau}{\tau_d}} \quad (3)$$

Dicha ecuación depende de la duración del pulso láser τ , las constantes de tiempo para la colisión inelástica y difusión τ_c y τ_d respectivamente, la densidad de electrones inicial N_0 , y la densidad de electrones umbral N_{th} . En el caso particular de los tejidos biológicos con un alto contenido de colágeno, como la mucosa del colon, el valor semiempírico de este umbral es aproximadamente $5 J/cm^2$ [9].

3. Aplicación del modelo a la cirugía láser de tumores en el colon

El colon es la porción del intestino grueso comprendida entre final del ciego y el final del recto. El ciego, el colon, el recto y el canal anal constituyen el intestino grueso, última porción del tracto digestivo. Su función es absorber el agua y los nutrientes minerales de la comida así como almacenar los desechos. Existen muchas patologías que pueden afectar a su correcto funcionamiento como el cáncer colorrectal, los pólipos de colon, la colitis ulcerosa, la diverticulitis o el síndrome de colon irritable [2]. En la mayoría de los casos, dependiendo del tipo de patología, se elimina un segmento del colon de forma invasiva [3-4].

A continuación se aplica el modelo presentado previamente para predecir el requerimiento de potencia

láser necesario para eliminar tumores cuyo tamaño y posición varían dentro de la estructura histológica del colon (interior de la mucosa/submucosa). Las longitudes de onda consideradas son 415, 530, 630 y 1064 nm. Esta última incluida dentro de la ventana terapéutica. La localización de los diferentes tumores (con grosores de 0.1 cm, 0.05 cm y 0.01 cm) adopta un distancia variable desde la superficie del colon hasta un límite de 0.2 cm de profundidad. En cada uno de estos casos, la aplicación del modelo de ablación inducida por plasma presentado en la sección 2 permite obtener la potencia láser mínima requerida para eliminar el tejido cancerígeno mediante cirugía láser.

4. Resultados y discusión

En la Tabla 1 se recoge la potencia mínima requerida para la eliminación de un tumor de 0.1 cm de grosor localizado a diferentes profundidades (0.01, 0.04, 0.08, y 0,1 cm). Como se puede observar, la localización del tumor a una mayor profundidad requiere un aumento del aporte de potencia óptica para lograr su completa eliminación. Igualmente se puede observar la influencia de la longitud de onda de la fuente. Observándose variaciones despreciables en la potencia requerida para tratar los tumores más superficiales (0.01 cm de profundidad) y diferencias cada vez más significativas entre las diferentes longitudes de onda a medida que aumenta la profundidad del tumor debido a la particular distribución de energía óptica en el tejido. Atendiendo al requerimiento de potencia en función de la localización del tumor, se puede observar que a 1064 y 630 nm dicha localización a penas obliga a realizar un fuerte cambio en la potencia láser suministrada, mientras que en los demás casos la diferencia de potencia mínima requerida para tratar un tumor superficial y uno más profundo es muy elevada.

λ (nm)	0.01 (cm)	0.04 (cm)	0.08 (cm)	0.1 (cm)
1064	0.17	0.2	0.22	0.23
630	0.17	0.25	0.32	0.35
530	0.15	0.5	0.9	1.5
415	2	3.2	5.8	7

Tabla 1. Potencia mínima necesaria (J) para la resección de un tumor de 0.1cm de grosor a distintas profundidades.

En la Figura 1 se representa el área de ablación (rojo) en la muestra de colon con el tumor de mayor profundidad cuando se aplica la potencia láser requerida a diferentes longitudes de onda para su eliminación. El área azul representa las zonas de tejido preservadas y las líneas negras indican la posición del tumor. Como se puede comprobar, el suministro de potencia mínima previamente calculado para cada caso permite obtener una distribución de energía adecuada para provocar la ablación del tejido hasta los 0.2 cm de profundidad necesarios para eliminar el tejido maligno en este caso y evitar una posible persistencia tumoral derivada de un ajuste inadecuado de los parámetros del láser.

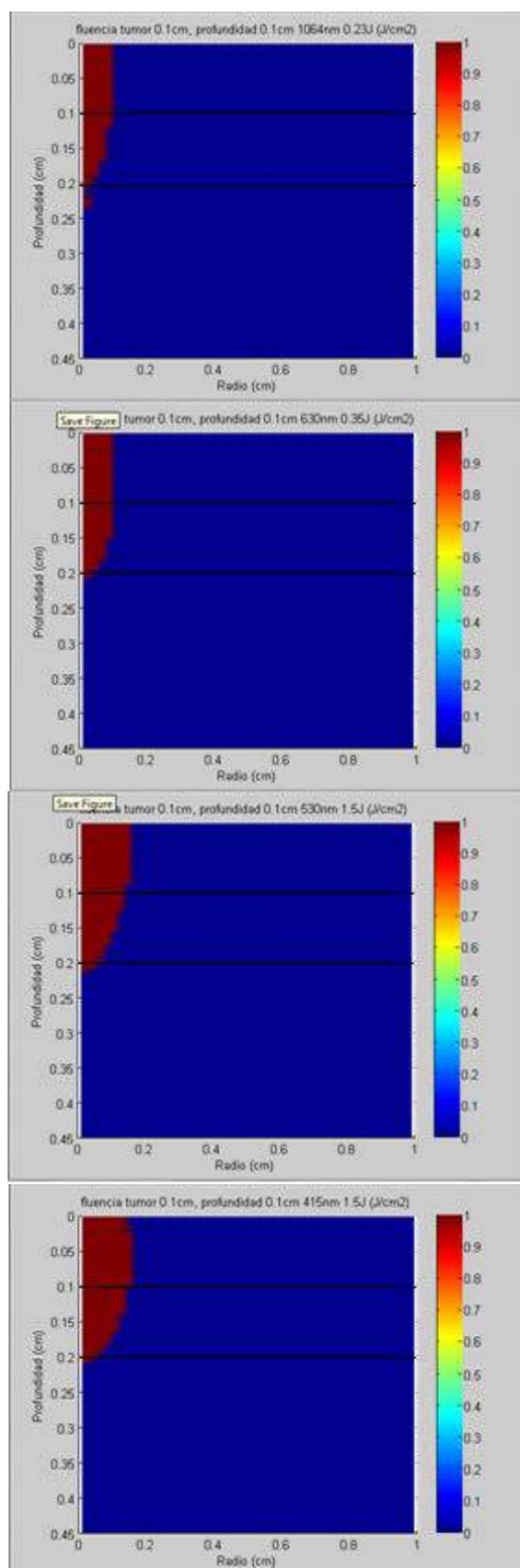


Figura 1. Área de ablación en la muestra de tejido con tumor (grosor 0.1 cm, profundidad 0.1 cm) tratada con las potencias calculadas para su completa eliminación a 1064 nm (superior), 630 nm (centro superior), 530 nm (centro inferior) y 415 nm (inferior).

A continuación se muestran los resultados obtenidos cuando el grosor del tumor es variable. En la tabla 2 se recoge la potencia mínima necesaria para lograr la resección completa de un tumor con diferentes grosores (0.1, 0.05 y 0.01 cm) a diferentes longitudes de onda.

G.T. (cm)	P.T. (cm)	P. min. (cm)	Potencia (J)
Longitud de onda 1064 nm			
0.1	0.1	0.2	0.23
0.05	0.15	0.2	0.21
0.01	0.19	0.2	0.21
Longitud de onda 630 nm			
0.1	0.1	0.2	0.33
0.05	0.15	0.2	0.35
0.01	0.19	0.2	0.39
Longitud de onda 530 nm			
0.1	0.1	0.2	1.5
0.05	0.15	0.2	1.9
0.01	0.19	0.2	2.5
Longitud de onda 415 nm			
0.1	0.1	0.2	3.2
0.05	0.15	0.2	2.3
0.01	0.19	0.2	2

Tabla 2. Potencia mínima requerida (J) para la ablación de un tumor con grosor variable (G.T.: grosor tumor; P.T.: posición del tumor; P. min: punto mínimo de ablación requerido)

Atendiendo a los resultados recogidos en la tabla 2, se puede observar que para las longitudes de onda de 1064 y 415 nm la potencia necesaria para la eliminación del tumor aumenta cuanto mayor es el grosor del tumor. Mientras que cuando la longitud de onda es de 530 o 630 nm, la potencia mínima requerida sigue una tendencia inversa, requiriéndose menos energía para eliminar los tumores mayores. Esto es debido a la dependencia con la longitud de onda de las propiedades ópticas del tejido sano que tendrá que atravesar la radiación para alcanzar el tejido tumoral y a la cantidad de tejido sano que tendrá que atravesar.

5. Conclusiones

En este trabajo se aplicó un modelo predictivo para estimar el requerimiento de potencia láser necesaria para eliminar tumores de colon cuyo tamaño y posición varían dentro de la estructura histológica del colon (interior de la mucosa/submucosa). El cálculo de la distribución óptica se realizó mediante el método de Monte Carlo y se empleó un modelo de ablación inducida por plasma para obtener el volumen tumoral eliminado. Los resultados obtenidos demuestran la importancia de considerar factores como la morfología y la localización del tumor

para ajustar adecuadamente los parámetros de la fuente láser. Y en definitiva para planificar el procedimiento de cirugía láser endoscópica asegurando una eliminación completa del tejido maligno.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto MAT2012-38664-C02-01 y cofinanciado con fondos FEDER y de la Fundación San Cándido.

Referencias

- [1] Fanjul-Vélez F, Salas-García I, Arce-Diego JL. Analysis of laser surgery in non-melanoma skin cancer for optimal tissue removal. *Laser Physics*, vol 25, 2015, pp 025606-14.
- [2] Watson JMA, Collins PD. Colon Cancer: A Civilization Disorder. *Digestive Diseases*, vol 29, sup 2, 2011, pp 222-8.
- [3] Muguruma N, Okamoto K, Kimura T, Kishi K, Okahisa T, Okamura S, Takayama T. Endoscopic ablation therapy for gastrointestinal superficial neoplasia. *Digestive Endoscopy*, vol 24, 2012, pp 139-149.
- [4] American Society for Gastrointestinal Endoscopy. Mucosal ablation devices. *Gastrointestinal Endoscopy*, vol 68, sup 6, 2008, pp 1031-1042.
- [5] Vo-Dinh T. Biomedical Photonics Handbook. Boca Raton CRC Press, 2003.
- [6] Niemz MH. Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications. Springer, 2004.
- [7] Wang L, Jacques SL, Zheng L. MCML - Monte Carlo modelling of light transport in multi-layered tissues. *Computer methods and programs in biomedicine*, vol 47, 1995, pp 131-146.
- [8] Vogel A, Venugopalan V. Mechanisms of Pulsed Laser Ablation of Biological Tissues. *Chem. Rev.*, vol 103, 2003, pp 577-644.
- [9] Loesel FH, Niemz MH, Bille JF, Juhasz T. Laser-Induced Optical Breakdown on Hard and Soft Tissues and Its Dependence on the Pulse Duration: Experiment and Model. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, vol 32, 1996, pp 1717-1722.
- [10] Wei HJ, Xing D, Wu GY, Gu HM, Lu JJ, Jin Y, Li XY. Differences in optical properties between healthy and pathological human colon tissues using a Ti:sapphire laser: an in vitro study using the Monte Carlo inversion technique. *Journal of Biomedical Optics*, vol 10, sup 4, 2005, pp 044022.
- [11] Ao H, Xing D, Wei H, Gu H, Wu G, Lu J. Thermal coagulation-induced changes of the optical properties of normal and adenomatous human colon tissues in vitro in the spectral range 400–1100 nm. *Physics in Medicine Biology*, vol 53, sup 8, 2008, 2197-2206.
- [12] Wei HJ, Xing D, Lu JJ, Gu HM, Wu GY, Jin Y. Determination of optical properties of normal and adenomatous human colon tissues in vitro using integrating sphere techniques. *World J Gastroenterol.*, vol 11, sup 16, 2005, pp 2413-9.
- [13] Bashkatov AN, Genina EA, Kochubey VI, Rubtsov VS, Kolesnikova EA, Tuchin VV. Optical properties of human colon tissues in the 350 - 2500 nm spectral range. *Quantum Electronics*, vol 44, sup 8, 2014, pp 779-784.

Evaluación de la carga de trabajo y la calidad quirúrgica en el uso de un novedoso instrumental robotizado en sutura laparoscópica intracorpórea

J.A. Sánchez-Margallo¹, F.M. Sánchez-Margallo¹, J. Hermoso¹

¹ Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España,
{jasanchez, msanchez, jchermoso}@ccmijesususon.com

Resumen

El objetivo principal de este estudio es evaluar la carga de trabajo y la calidad quirúrgica en la realización de la sutura laparoscópica intracorpórea mediante el uso de un novedoso instrumental robotizado (DEXTM, Dextérité Surgical, Francia). En el estudio participaron cuatro cirujanos expertos (>100 procedimientos laparoscópicos) y dos cirujanos noveles (<10 procedimientos laparoscópicos), los cuales realizaron tres suturas intracorpóreas en tejido orgánico. Los sujetos empezaron cada tarea de forma aleatoria haciendo uso del instrumental robotizado (Grupo R) o con un portaagujas laparoscópico convencional (Grupo L). Esta tarea se repitió cinco veces en el periodo de un mes. Durante la primera (T1) y última (T5) repetición se evaluó la calidad de la sutura mediante un checklist validado y carga de trabajo mediante el índice NASA-TLX. Los resultados muestran una evolución positiva en el uso del nuevo instrumental laparoscópico robotizado respecto al tiempo de ejecución, carga de trabajo y calidad en la realización de la sutura laparoscópica intracorpórea.

1. Introducción

Existen numerosas ventajas, especialmente para el paciente, que han llevado a una mayor implantación de la cirugía laparoscópica y llegar a ser la técnica quirúrgica de elección para muchos procedimientos quirúrgicos. Entre sus ventajas podemos destacar la reducción del trauma tisular [1], reducción del dolor postoperatorio, mayor recuperación para el paciente [2], con la consecuente reducción de las estancias hospitalarias, y mejores resultados estéticos [3].

Sin embargo, este tipo de técnicas quirúrgicas conllevan una serie de limitaciones para el cirujano como la pérdida de la sensación de profundidad y táctil o la restricción de los movimientos [4]. Esta restricción en el uso del instrumental a 4 grados de libertad se debe principalmente a la posición fija de los puertos quirúrgicos de entrada a la cavidad abdominal del paciente, lo cual dificulta el acceso a determinados puntos intracorpóreos durante el transcurso de la intervención. Estas limitaciones pueden reducir las destrezas de los cirujanos y ocasionar posibles problemas musculoesqueléticos [5].

Para poder afrontar algunas de estas limitaciones técnicas, se deben entrenar estas técnicas quirúrgicas y desarrollar nuevas soluciones innovadoras. En este sentido, hoy en día existen nuevos instrumentales quirúrgicos articulados

que hacen uso de tecnología mecánica y robótica [6], que se presentan como alternativas a los instrumentales convencionales de cirugía laparoscópica e incluso para nuevos abordajes quirúrgicos como la cirugía por puerto único. Estos dispositivos ofrecen un incremento en el número de grados de libertad del instrumental quirúrgico y facilitan la realización de determinadas maniobras o tareas quirúrgicas complejas como la sutura intracorpórea. Sin embargo, previa implantación en un entorno quirúrgico real, estos dispositivos deben ser evaluados y validados de forma exhaustiva en entornos experimentales sin poner en compromiso la seguridad del paciente.

El objetivo principal de este estudio es evaluar la carga de trabajo y la calidad quirúrgica en la realización de la sutura laparoscópica intracorpórea mediante el uso de un novedoso instrumental robotizado (DEXTM, Dextérité Surgical, Francia).

2. Material y métodos

2.1. Instrumental robotizado

El sistema DEXTM (Dextérité Surgical, Francia) es un portaagujas laparoscópico robotizado diseñado para tareas y procedimientos que impliquen suturas laparoscópicas (Figura 1). Este instrumental ofrece 7 grados de libertad, permitiendo articular su punta, así como su rotación ilimitada. Dispone de un diseño ergonómico del mango de agarre y el manejo de la punta se lleva a cabo mediante los controles instalados en el mango. El instrumental puede ser esterilizado mediante vapor.

2.2. Sujetos

En el estudio participaron cuatro cirujanos expertos (>100 procedimientos laparoscópicos) y dos cirujanos noveles (<10 procedimientos laparoscópicos), todos ellos diestros y sin experiencia previa en el uso del instrumental robotizado.

2.3. Tareas

Los cirujanos realizaron tres suturas laparoscópicas intracorpóreas en tejido orgánico y en el interior de un simulador físico de formación laparoscópica (Figura 2). Cada sutura intracorpórea consistió en un punto con un nudo doble y dos nudos simples en sentidos opuestos. Todos los cirujanos utilizaron el mismo equipo de

laparoscopia y equipamiento quirúrgico. Previa realización de la tarea, cada cirujano adaptó la altura y posición de mesa quirúrgica y monitor según sus necesidades. Los sujetos empezaron cada tarea de forma aleatoria haciendo uso del instrumental robotizado (Grupo R) o con un portaagujas laparoscópico convencional (Karl Storz GmbH & Co. KG, Alemania) (Grupo L). En todos los casos se usó un disector laparoscópico en la mano izquierda (Richard Wolf GmbH, Alemania). Cada sujeto repitió esta tarea cinco veces en el periodo de un mes.



Figura 1. Visión general del instrumental robotizado DEX™ y detalle del mango ergonómico y la punta del instrumental.

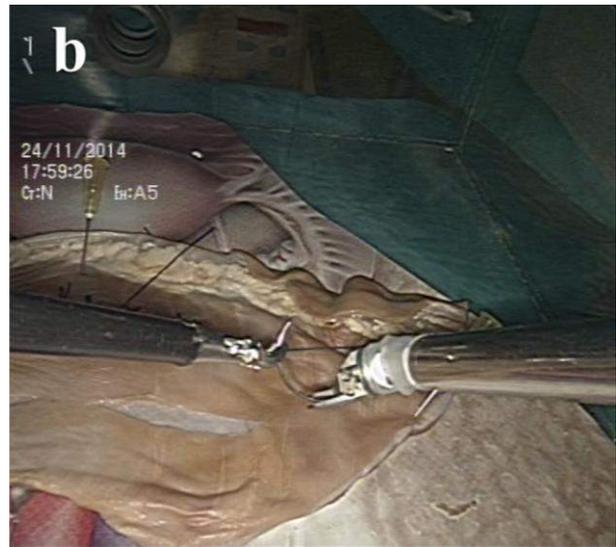
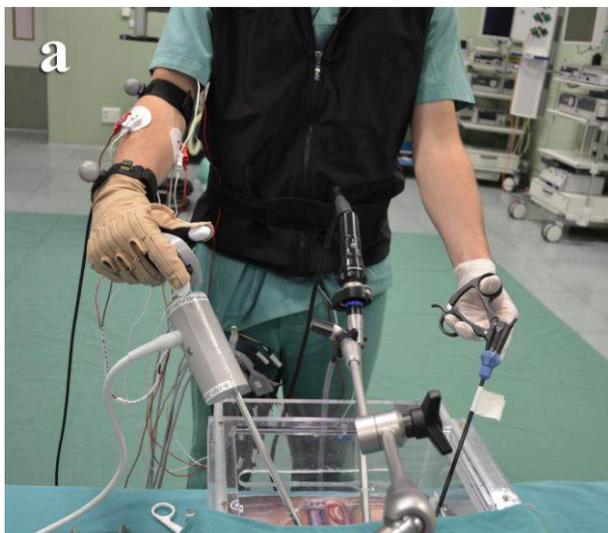


Figura 2. Uso del instrumental robotizado (a) durante una sutura laparoscópica intracorpórea en tejido orgánico (b).

2.4. Evaluación

Durante la primera (R1) y última (R5) repetición se evaluó el tiempo de ejecución, la calidad en la realización de la sutura y la carga de trabajo del cirujano.

Para llevar a cabo la evaluación de la calidad en la realización de la sutura intracorpórea se utilizaron las grabaciones de cada una de las tareas realizadas por los cirujanos y un checklist de evaluación previamente validado [7]. Este checklist valora diferentes aspectos respecto a la técnica empleada en la realización de la sutura, así como la calidad final de los nudos. El checklist está dividido en cuatro bloques según los aspectos a evaluar: (1) posición de la aguja; (2) manejo de la aguja; (3) técnica del anudado; y (4) calidad del nudo. La evaluación la llevaron a cabo dos cirujanos expertos (>100 procedimientos laparoscópicos), los cuales desconocían en todo momento sus evaluaciones correspondientes, así como la identidad y experiencia de los cirujanos participantes en el estudio.

La carga de trabajo se evaluó mediante el índice NASA-TLX [8][9]. NASA-TLX utiliza una escala analógica visual de 20 puntos para medir la carga de trabajo a lo largo de 6 subclases: Exigencia mental, exigencia física, exigencia temporal, rendimiento, esfuerzo y frustración. La exigencia mental evalúa la actividad mental y perceptiva necesaria para completar la tarea, la exigencia física la actividad física necesaria, y la temporal el tiempo requerido. El rendimiento valora el grado de satisfacción respecto a la ejecución de la tarea. El esfuerzo evalúa el trabajo (mental y físico) necesario para llevar a cabo la tarea y la frustración el grado de inseguridad, irritación, tensión o preocupación durante la ejecución de la tarea. La evaluación se llevó a cabo solicitando a los sujetos que valorasen cada una de estas subescalas para cada tarea realizada.

El estudio comparativo entre métricas de evaluación se realizó entre los 2 tipos de instrumentales laparoscópicos y para cada instante de tiempo (R1 y R5). El análisis

estadístico se llevó a cabo mediante el software SPSS (versión 19.0, SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.). Se utilizó el test de Wilcoxon para comparar las diferencias estadísticas entre ambos grupos de instrumental, tomando como valor de significancia $p < 0,05$.

3. Resultados y discusión

El tiempo necesario para la realización de los tres puntos intracorpóreos fue significativamente menor con el uso del portaagujas convencional durante la primera repetición (L: $588,000 \pm 235,671$; R: $944,667 \pm 469,988$), aunque el tiempo de ejecución con el uso del instrumental robotizado mejoró significativamente de la primera a la última repetición (Figura 3).



Figura 3. Tiempo medio de ejecución para las tres suturas intracorpóreas mediante el uso del portaagujas convencional (L) y robotizado (R) durante la primera (R1) y última repetición (R5). * $<0,05$



Figura 4. Calidad de la realización de la sutura intracorpórea mediante el uso del portaagujas convencional (L) y robotizado (R) durante la primera (R1) y última repetición (R5). * $< 0,05$

La calidad en la realización de la sutura intracorpórea fue similar con ambos instrumentos tanto en la primera repetición (L: $19,766 \pm 1,574$; R: $20,433 \pm 1,865$) como en la última (L: $22,466 \pm 1,792$; R: $22,550 \pm 2,781$). Sin embargo, los resultados mejoraron significativamente de

la primera repetición a la última con el uso del portaagujas convencional (Figura 4).

En cuanto a la carga de trabajo de los cirujanos en el uso de cada tipo de instrumental quirúrgico, durante la primera repetición (Figura 5), el uso del novedoso instrumental robotizado obtiene valores significativamente superiores respecto a la exigencia mental (L: $6,333 \pm 3,502$; R: $11,667 \pm 4,802$), física (L: $4,500 \pm 3,619$; R: $10,167 \pm 5,036$) y temporal (L: $5,833 \pm 2,136$; R: $12,333 \pm 3,829$), esfuerzo (L: $6,667 \pm 4,546$; R: $13,000 \pm 5,477$), frustración (L: $1,833 \pm 1,169$; R: $4,667 \pm 2,503$), y valor total del índice NASA-TLX (L: $41,667 \pm 14,988$; R: $64,167 \pm 19,041$). Sin embargo, no se muestran diferencias significativas en el grado de satisfacción del cirujano con respecto a la ejecución de la tarea (rendimiento).

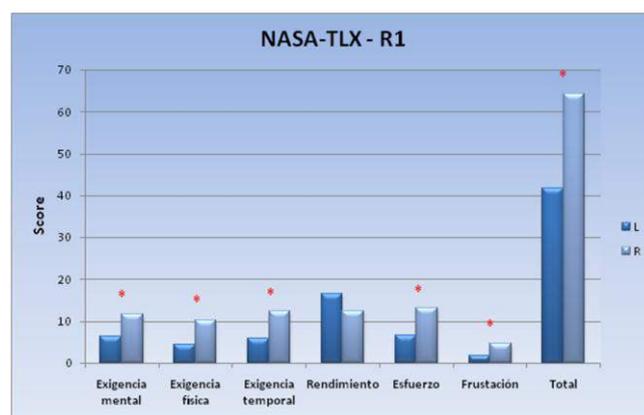


Figura 5. Valores promedio para cada una de las subclases de carga de trabajo en el uso del portaagujas laparoscópico (L) y robotizado (R) durante la primera repetición. * $p < 0,05$.

Durante la última repetición (Figura 6), únicamente se obtuvo diferencias estadísticamente significativas en el grado de exigencia mental en el uso del instrumental quirúrgico, siendo superior en el caso del instrumental robotizado (L: $5,667 \pm 3,932$; R: $9,667 \pm 4,676$).

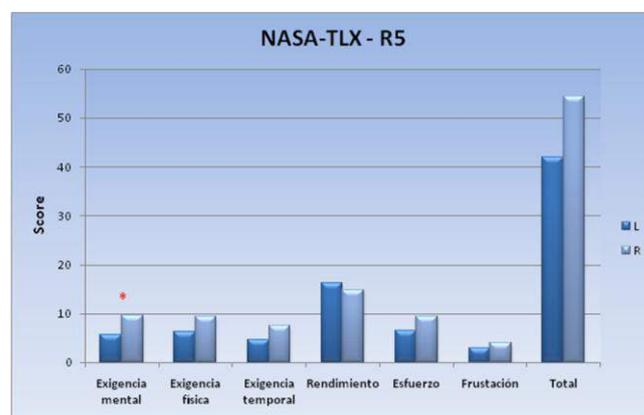


Figura 6. Valores promedio para cada una de las subclases de carga de trabajo en el uso del portaagujas laparoscópico (L) y robotizado (R) durante la última repetición. * $p < 0,05$.

Después de llevar a cabo las cinco repeticiones con el uso del nuevo instrumental, los cirujanos alcanzaron una

situación en el cual el tiempo de ejecución, la calidad de la realización de la sutura intracorpórea y la carga de trabajo eran similares respecto al instrumental laparoscópico convencional, manifestando una curva de aprendizaje positiva respecto al nuevo dispositivo.

La carga de trabajo relacionada con el uso del nuevo instrumental fue mayor durante la primera repetición, lo cual tiene sentido teniendo en cuenta que se trata de un instrumental nuevo para los cirujanos que participaron en este estudio y por consiguiente, requiere un periodo de aprendizaje. Sin embargo, en la última repetición no se observaron diferencias significativas respecto a ambos instrumentales, a excepción de la exigencia mental, la cual sigue siendo significativamente superior en el caso del uso del nuevo dispositivo. Esto puede deberse a que muchas de las maniobras de sutura con el instrumental laparoscópico convencional son realizadas de forma intuitiva por los cirujanos debido a su experiencia previa. Sin embargo, el instrumental robotizado requiere de una mayor planificación para su manejo y ejecución al tratarse de un equipo con el cual los cirujanos no tienen práctica, lo cual puede llevar a una mayor carga mental para el cirujano.

Cabe destacar, que incluso con el portaagujas laparoscópico convencional, los cirujanos mejoran en la calidad de la realización de la sutura intracorpórea después de llevar a cabo las cinco repeticiones establecidas en el estudio. Esto puede ser consecuencia de este periodo de entrenamiento, así como a una mejor adaptación al entorno de trabajo en el cual se han llevado a cabo las pruebas de evaluación.

Como trabajos futuros se plantea analizar el uso de este instrumental robotizado en tareas laparoscópicas más complejas como la anastomosis uretrovesical e incrementar el número de cirujanos que participen en el estudio de evaluación. Del mismo modo, se tendrán en cuenta otros parámetros de evaluación como la postura del cirujano y su actividad muscular durante el uso del instrumental, y la calidad final de la anastomosis.

4. Conclusión

Los resultados muestran una evolución positiva en el uso del nuevo instrumental laparoscópico robotizado respecto al tiempo de ejecución, carga de trabajo y calidad en la realización de la sutura laparoscópica intracorpórea. Después del periodo de formación los cirujanos obtienen valores de evaluación similares en el uso del portaagujas laparoscópico convencional y el nuevo dispositivo, excepto en el caso de la exigencia mental requerida, la cual es mayor en el uso del instrumental robotizado. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este estudio, consideramos que el cirujano puede seguir mejorando en la calidad y carga de trabajo necesaria en el uso del nuevo instrumental mediante un incremento del periodo de formación con el dispositivo.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en parte por la Consejería de Empleo, Empresa e Innovación del Gobierno de

Extremadura, y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional y el Fondo Social Europeo.

Referencias

- [1] Cordera F, Long KH, Nagorney DM, McMurtry EK, Schleck C, Ilstrup D, Donohue JH. Open versus laparoscopic splenectomy for idiopathic thrombocytopenic purpura: clinical and economic analysis. *Surgery* 2003; 134(1): 45-52.
- [2] Delaney CP, Chang E, Senagore AJ, Broder M. Clinical outcomes and resource utilization associated with laparoscopic and open colectomy using a large national database. *Annals of Surgery* 2008; 247(5): 819-24.
- [3] Seitz G, Seitz EM, Kasperek MS, Königsrainer A, Kreis ME. Long-term quality-of-life after open and laparoscopic sigmoid colectomy. *SLEPT* 2008; 18(2): 162-7.
- [4] Pellen MGC, Horgan LF, Barton JR, Attwood SE. Construct validity of the ProMIS laparoscopic simulator. *Surgical Endoscopy* 2009;23(1):130-9.
- [5] Pérez-Duarte FJ, Sánchez-Margallo FM, Martín-Portugués I, Sánchez-Hurtado MA, Lucas-Hernández M, Sánchez-Margallo JA, et al. Ergonomic analysis of muscle activity in the forearm and back muscles during laparoscopic surgery: influence of previous experience and performed task. *SLEPT* 2013; 23(2):203-7.
- [6] Shiba K, Higure A, Yamaguchi K. Laparoendoscopic single-site common bile duct exploration using the manual manipulator. *Surgical Endoscopy* 2013;27(8):3009-15.
- [7] Kroeze SGC, Mayer EK, Chopra S, Aggarwal R, Darzi A, Patel A. Assessment of laparoscopic suturing skills of urology residents: a pan-European study. *European Urology* 2009; 56(5): 865-72.
- [8] Hart SG, Staveland LE. Development of NASA-TLX: results of empirical and theoretical research. In: Hancock PA, and Meshkati N, eds. *Human Mental Workload*. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 1987.
- [9] Koca D, Yildiz S, Soyupek F, Gunyeli I, Erdemoglu E, Soyupek S, et al. Physical and Mental Workload in Single-Incision Laparoscopic Surgery and Conventional Laparoscopy. *Surgical Innovation* 2015;22(3):294-302.

Endoscope tracking algorithm for minimally invasive surgeries

T. Arroyo¹, P. Sánchez-González^{1,2}, I. Oropesa^{1,2}, B. Rodríguez-Vila^{1,2}, E.J. Gómez^{1,2}

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

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

Abstract

Minimally invasive surgery (MIS) has revolutionized surgical care, providing significant benefits for the health of the patients. In contrast to the positive impact on patient safety, MIS implies completely changing the way surgeons face surgical interventions. One of the aspects that are completely altered by MIS workflow is the way surgeons guide their interaction within the operated area. The video-based visual feedback is a source of significant difficulties in terms of spatial orientation and instrumental handling. The proposed method applies automatic MIS video processing based on Structure from Motion in order to define a software-based tracking system to provide orientation support in laparoscope handling during surgeries. The implemented algorithm shows the potential of geometric video analysis to follow camera motion in an objective and transparent manner.

1. Introduction

Minimally invasive surgery (MIS) is progressively replacing open surgery procedures in the Operating Room (OR) thanks to the significant benefits that it introduces for the patients [1]. By minimizing the size of the incisions, MIS procedures reduce tissue damage and the risk of infection, leading to greater security for the patients and shorter recovery times.

MIS techniques have fully modified surgical procedures. Minimally invasive interventions require specially designed instruments which should be able to work into the body through a limited number of small incisions. Visual feedback is obtained via laparoscope, which provides a 2D video signal that is displayed live in a monitor. This visualization model contrasts with the way surgeons perceive the operated area in open surgery procedures [2].

It becomes a real challenge for surgeons to acquire the skills and capabilities to get used to this new context. Traditionally, surgeons have operated guiding their movements by a direct natural view of the surgical field. This direct interaction between surgeon's eyes and the operated cavity is replaced by a more complex communication chain in MIS techniques. The inclusion of a camera-monitor set results in a loss of information with regard to the one available in open surgery procedures. The stereoscopic and self-controlled view shifts to a flat and distorted partial representation of the target region. This change is one of the main responsible aspects of the prolonged training process in MIS, in comparison with the average learning process in open surgery [3].

Laparoscopes provide a surface view of the organs and tissues in the surgical field. On the basis of this information, surgeons have to mentally glimpse underlying anatomy. However, depth information can be sensed by using monocular perception techniques over the camera output. By considering specific video details, such as relative size, perspective or shadow and movement analysis, clinicians are able to roughly infer the 3D structure of the scene [4].

The loss of the third dimension is not the only constraint that surgeons deal with during MIS interventions. The small size of the entry ports that characterize these surgical techniques limits the camera range of motion. Laparoscopic instrumentation is constrained to pivot about the small incision on the abdominal wall. This makes instrument handling an entire counterintuitive task [5]. Laparoscope' limited scope, tissues homogeneity and the poor quality in textures representation through the surgical video hamper the location of proper and unambiguous reference points in the scene. Under such conditions, surgeons have to coordinate their actions to simultaneously operate and follow each performed step through the camera. The current mode of laparoscopy employs an assistant to hold the scope and position it according to the surgeon's instructions. However, this results in suboptimal visual feedback [6].

The above-mentioned characteristics of MIS procedures reveal the difficulty when it comes to accurately move and orientate the camera in the laparoscopic environment. With the aim of improving camera operation and enhancing the surgeon's capabilities in terms of spatial orientation, a significant research work has been performed to raise and develop solutions in the line of laparoscopic camera and instrument tracking [7] [8] [9]. Two main trends can be identified, depending on if they are hardware or software based. The firsts require incorporating additional hardware, mainly to install optical or electromagnetic tracking systems. Software based technologies rely on the information provided by the surgical video, so they do not include extra equipment and do not alter the surgeons' workflow.

The solution proposed in this paper is included in this second trend. It implements a model that aims to provide a transparent tool to follow laparoscopic optics during surgical procedures. The estimated camera path is used as a reference in 3D reconstruction of the surgical scene. This information can help surgeons to navigate through

the operated cavity during procedures and enrich surgical video information for academic purposes. To that end, the presented algorithm applies a computer vision technique known as Structure from Motion.

2. Structure from Motion

Structure from Motion (SfM) is an image processing technique originally used in robotics and photogrammetry applications [10] [11] [12]. In a simple way it consists in estimating three-dimensional structures from two-dimensional image sequences from the analysis of the motion in the scene.

Formally, SfM reconstruction problem can be formulated as follows:

Given n projection points over m different images or views of the same scene

$$u_{ij}, \quad i \in \{1 \dots m\}, \quad j \in \{1 \dots n\} \quad (1)$$

The overall objective is to determine the projection matrices (P) and a 3D reconstruction of each single point (X), expressed as:

$$\text{Projection Matrices} \rightarrow P_1 \dots P_m \quad (2)$$

$$\text{3D Reconstructions} \rightarrow X_1 \dots X_n \quad (3)$$

Pinhole projection (Figure 1) is the most common model to approximate camera behavior. According to it, each projection matrix (P_i) can be decomposed into intrinsic and extrinsic parameters. Intrinsic matrix (K) represents the internal characteristics of the camera. Extrinsic components include a description of camera motion at each instant, characterized by the pair rotation (R) plus translation (T).

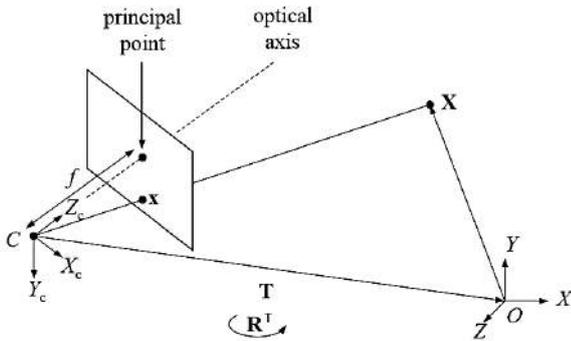


Figure 1: Pinhole projection of a 3D point X

Given the corresponding projection matrices (P), a 3D world point (X) can be computed from its measured pixel positions ($u_1, u_2 \dots$) in two or more views.

$$P \sim K [R \ T] \rightarrow u \sim PX \quad (4)$$

Camera pose is deduced from estimated motion components following the expression below:

$$C_i = \theta[-(R^t)T] + C_0 \quad (5)$$

SfM geometry assumes a free parameter related to camera translation scale. This effect is represented as θ in the equation above. The independent term, C_0 , adjusts the

computed poses considering the initial location of the camera.

3. Implemented solution

Based on a theoretical implementation of a SfM algorithm [13], the presented tool adapts the 3D reconstruction technique to develop a tracking application able to follow laparoscope motion during surgeries.

3.1. General functionality

The main scheme of the algorithm relies on a set of function modules that contain all the necessary processes to accomplish the following tasks:

- Calibration: estimate camera internal parameters and define intrinsic matrix (K).
- Image preprocessing: remove noise, distortion and artifacts that degrade surgical video.
- Image characterization: detect and match distinctive features along the different scene views. For this purpose, Scale Invariant Feature Transform, SIFT, has been used to define singular image features [14].
- Motion geometry: apply SfM principles in order to determine the path described by the camera in the analyzed sequence.
- Optimization: deploy bundle adjustment procedures to compute the solution that minimizes the error value.

3.2. Algorithm framework

The processing phases listed above have been organized to configure the final algorithm. The designed model tries to solve the problems related to dragging errors and to optimize the use of resources to minimize the associated computational cost.

In a simple way, the model can be described as a process consisting of two levels of analysis. This analysis is sequentially applied to the current video sequence in order to obtain camera trajectory estimation.

The initial processing level pairs and analyzes the sequence's frames by keeping a common element between consecutive frame sets. This process can be interrupted if the analyzed image pair exceeds a predefined reprojection error threshold (Figure 2). In this case, the conflictive pair of frames is discarded, taking up the first level process from that point in the next iteration.

The reference metric used to measure the accuracy of the estimation is the above-mentioned reprojection error. This parameter is defined as the sum of squared errors between the measured feature points and the ones predicted by applying reverse geometry to the reconstructed points.

$$\sum_i \sum_j (\tilde{x}_i^j - K[R_i|t_i]X^j)^2 \quad (6)$$

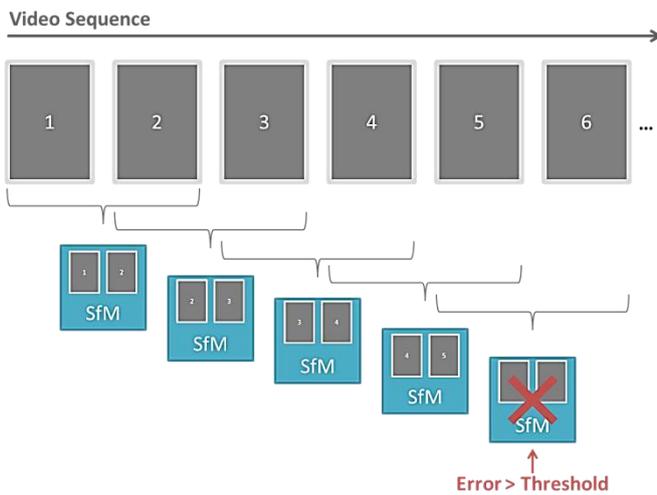


Figure 2: Algorithm, phase 1. Interlaced frame pairs are evaluated to obtain relative camera motion. A reprojection error threshold is defined to control inaccuracy propagation.

The second level uses the estimates extracted from the pair analysis to determine the complete camera path on the sequence frame under study (Figure 3). The initial frame defines a reference coordinate system. Camera pose estimations for the remaining views are adjusted to the reference system by successively chaining pairs to the resulting path. This is possible thanks to the shared element between consecutive pairs.

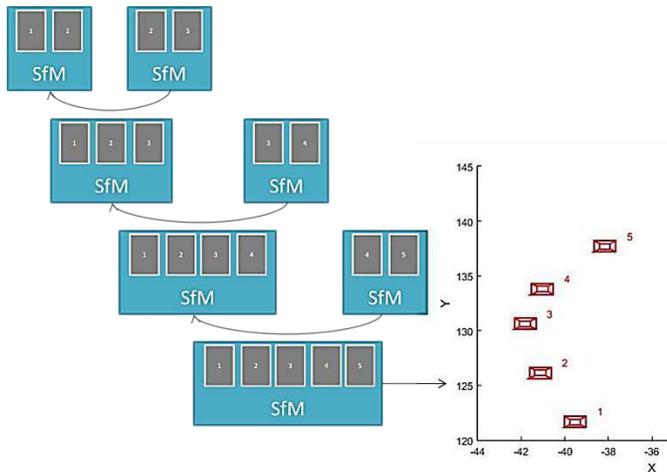


Figure 3: Algorithm, phase 2. Pair motion estimates are combined using a common coordinate origin to compute the complete camera trajectory.

4. Experimental evaluation

The algorithm adjustment, optimization and validation were conducted through four sets of experiments with a collection of reference video sequences provided by the Minimally Invasive Surgery Centre Jesús Usón (MISCJU). These sequences record an environment that simulates laparoscopic interventions conditions by using different motion patterns.

Specifically, vertical, horizontal, diagonal and circular motion sequences were tested to evaluate the algorithm performance. Ground truth camera path information was

obtained using the Aurora© (NDI Medical, USA) electromagnetic tracking system during video acquisition.

To properly compare the computed camera path with the corresponding ground truth information, common temporal reference and spatial coordinate system were defined. Results show how the presented technique allows recovering laparoscope motion from surgical video analysis. Figure 4 illustrates the algorithm outcomes for a sample video footage presenting a diagonal motion pattern. Above, a comparison of the estimated camera path and the ground truth data is represented over the XY plain. Below, the same results, computed and measured paths, are shown separately for each 3D coordinate.

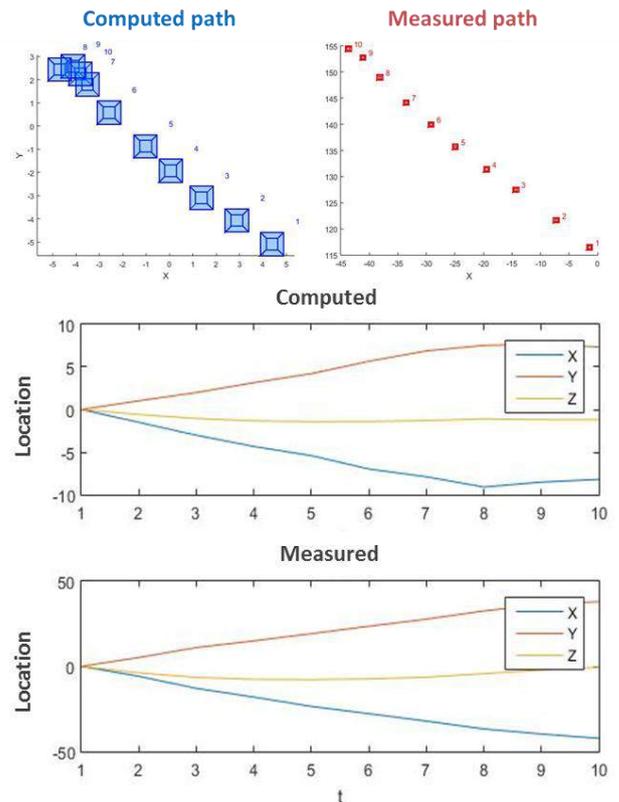


Figure 4: Camera path reconstruction for diagonal motion video sequence. Path comparison (XY plain). 3D coordinates trajectory decomposition.

The algorithm is able to follow camera motion in a qualitative manner. From a quantitative viewpoint, the estimates and reference measures are not aligned. This is due to an implicit constraint in SfM geometric principles. Dimension mismatch is not necessarily identical in all space coordinates. To correct the effect of the misalignment in the computed paths, it is necessary to apply a reverse transformation by introducing the appropriate scaling vector (θ).

Though, it is possible to correct the scale mismatch automatically by using epipolar geometry based on the image data [15] a semiautomatic method was introduced in the presented algorithm to reduce the negative impact in computational efficiency.

5. Discussion and future works

MIS procedures involve a high level of complexity. Surgeons require a long training period in order to acquire the necessary skills and develop the dexterity to get used to the radical context change that MIS introduces.

The presented algorithm proposes a method to provide valuable information to deal with the problems related to navigation and camera orientation over the operated region. Specifically, its purpose is to define a tool to assist laparoscope handling by computing camera pose during MIS procedures.

A remarkable characteristic of this tracking method is that it is a software based solution. This means that the tool is transparent to surgeons, without the need to incorporate additional hardware besides the standard laparoscopic equipment. This transparency is in contrast to other common solutions, such as optical or electromagnetic tracking systems, that involve the integration of extra machinery.

Relying on SfM geometry, the proposed method demonstrates how surgical video processing can be a real alternative to enrich the information available to surgeons during MIS procedures. The correspondences between sequence views allow laparoscope tracking during MIS interventions, providing valuable information to follow and locate the laparoscope in the surgical cavity.

Some aspects of the algorithm remain to be studied. The current implementation does not solve the spatial scale misalignment automatically; it would be worth studying the possibility to complete the algorithm with functionality to compute the correction factor using video information. Another improvement to be addressed could be the combination of sequential and factorization image analysis to avoid missing camera pose reference when the retroprojection error threshold condition is not met.

6. Conclusions

Camera handling entails certain difficulties during MIS interventions. Computer vision techniques applied to surgical video analysis appears as a powerful tool to minimize visual disorientation related to the lack of spatial reference during image-guided procedures. Specifically, SfM methods can be used in order to track and guide laparoscope motion during MIS procedures.

The implemented solution shows the feasibility of applying automatic image analysis on laparoscopic video sequences to estimate camera path during surgical interventions. This approach could help to enhance surgeons' orientation and navigation, meaning improved results and safety for the patients.

Acknowledgements

This work has been carried out under project NAVISurg of the Biomedical Research Networking Center in

Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN).

References

- [1] Fuchs K. Minimally invasive surgery. *Endoscopy*, vol 34, n° 2, 2002, pp.154-159 (ISSN: 0013-726X).
- [2] Liu A, Tendick F, Cleary K, Kauffman C. A survey of surgical: applications, technology, and education. *Presence*, vol 12, sup 6, 2003, pp. 599-614 (ISSN: 1054-7460).
- [3] Assalia A, Gagner M, Schein, M. Controversies in laparoscopic surgery. 1st ed. Berlin: Springer, 2006. (ISBN: 978-3-540-30964-2)
- [4] Cuschieri A, Steele RJC, Moosa AR. Essential surgical practice: higher surgical training in general surgery. 5th ed. CRC Press, 2015. (ISBN: 9781444137606).
- [5] Nezhat F. Minimally Invasive Surgery in Gynecologic Oncology: Laparoscopy Versus Robotics. *Gynecologic Oncology*, vol 111, sup 2, 2008, pp. 29-32. (ISSN: 0090-8258)
- [6] Uecker DR, Lee C, Wang YF, Wang Y. Automated instrument tracking in robotically assisted laparoscopic surgery. *Journal of Image Guided Surgery*, vol 1, sup 6, 1995, pp. 308-325.
- [7] Speidel S, Delles M, Gutt C, Dillmann R. Tracking of Instruments in Minimally Invasive Surgery for Surgical Skill Analysis. *Lecture Notes in Computer Science*, vol 4091, 2006. pp.148-155. (ISBN: 978-3-540-37221-9).
- [8] Deligianni F, Chung AJ, Yang GZ. pq-Space Based 2D/3D Registration for Endoscope Tracking. *MICCAI*, 2003, pp. 311-318. (ISBN: 3-540-20462-8)
- [9] Chmarra MK, Kolkman W, Jansen FW, Grimbergen CA, Dankelman J. The influence of experience and camera holding on laparoscopic instrument movements measured with the TrEndo tracking system. *Surgical Endoscopy*, vol 21, sup 11, pp. 2069-2075. (ISSN: 0930-2794)
- [10] Hartley R, Zisserman. Multiple view geometry in computer vision. 2nd ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2004. (ISBN: 0521540518)
- [11] Szeliski, R. (2011). Computer vision: algorithms and applications. *Springer*, vol 2, sup 5, 2010, pp. 264-351.
- [12] Parker, J. (1994). *Practical computer vision using C*. New York: Wiley.
- [13] Princeton Vision Group Web Page (Prof. Jianxiong Xiao, 2015). <http://vision.princeton.edu/courses/SFMedu/> (Accessed: July 2015).
- [14] Lowe, D. Distinctive Image Features from Scale-Invariant Keypoints. *International Journal of Computer Vision*, vol 60, sup 2, 2004, pp.91-110. (ISSN: 0920-5691).
- [15] Sturm P, Triggs W. A Factorization Based Algorithm for multi-Image Projective Structure and Motion. *4th European Conference on Computer Vision (ECCV'96)*, Cambridge, United Kingdom, Springer-Verlag, 1065, pp. 709-720.

Diseño e implementación de un juego serio 3D para el entrenamiento del control del Bypass Cardiopulmonar

N. Bonet¹, D. Tost¹, A. von Barnekow¹, C. Gomar², M. T. Mata²

¹ Centro de Investigación en Ingeniería Biomédica (CREB), Universidad Politécnica de Cataluña (UPC), Barcelona, España, nuria.bonet-codina@upc.edu, dani@cs.upc.edu, ariel.von.barnekow@upc.edu

² Servicio de Anestesia y Reanimación, Hospital Clínic, Barcelona, España, cgomar@clinic.ub.es, maitemata@gmail.com

Resumen

Se presenta el diseño, implementación y validación de un juego serio (o videojuego educativo) en 3D para el entrenamiento de la técnica de perfusión o Bypass Cardiopulmonar que consiste en el manejo de una bomba de circulación extracorpórea durante una intervención quirúrgica a corazón parado. Se pretende que sea un videojuego para complementar la formación práctica de los encargados de manejar esta máquina de quirófano, los perfusionistas, además de una herramienta de entrenamiento para mejorar las habilidades de los profesionales.

En este artículo se describen los modelos gráficos implementados; los modelos funcionales que simulan el comportamiento de la bomba de circulación extracorpórea virtual en respuesta a los cambios fisiológicos del paciente y las interacciones del jugador; y el sistema de evaluación diseñado.

Por último, se presenta también el proceso de la primera fase de validación, con los resultados de estas pruebas.

1. Introducción

En las intervenciones quirúrgicas a corazón abierto en las que es necesario parar el latido cardíaco, se utiliza la llamada bomba de circulación extracorpórea (en adelante, bomba CEC), una máquina que permite sustituir temporalmente la función del corazón y los pulmones (bypass cardiopulmonar BCP) [1]. Los profesionales encargados del manejo de la bomba CEC son llamados perfusionistas. La mayoría de los accidentes en un BCP están ocasionados por errores humanos, por lo que es necesario proporcionar una formación académica adecuada a los perfusionistas.

Los modelos educativos actuales preconizan métodos de aprendizaje más activos que fomenten la transformación de la experiencia en conocimiento [2]. Por ello, actualmente, la formación práctica de estos profesionales incluye, además de la necesaria observación en el quirófano, la utilización de herramientas de simulación, como por ejemplo el simulador físico *Orpheus Perfusion Simulator* [3]. El *Orpheus* es un dispositivo que simula el comportamiento del sistema circulatorio de un paciente que se conecta físicamente a un BCP real. Se puede utilizar de forma aséptica o dramatizada en el marco de una sesión teatralizada. El principal inconveniente de estos simuladores es su elevado coste y la compleja infraestructura que requieren ya que solo se pueden utilizar en un quirófano o en un laboratorio pedagógico muy especializado.

Los recientes avances en la tecnología gráfica han popularizado los llamados *juegos serios*, aquellos diseñados con fines no puramente lúdicos, que permiten de una manera más motivadora y repetible el entrenamiento de determinadas habilidades para un público específico. Habitualmente, los juegos serios se pueden jugar en un computador estándar ofreciendo así una opción menos realista pero más económica e ubicua que los simuladores físicos y con un número ilimitado de usuarios. Su principal atractivo como herramientas de formación es que aportan un componente lúdico de reto que los hace atractivos y que contribuye a desdramatizar el aprendizaje.

En este artículo se presenta el diseño, implementación y validación de un juego serio de entrenamiento a la perfusión que pretende complementar la formación de estos profesionales a la vez que ofrecer una herramienta sistemática de evaluación de los estudiantes de esta especialidad.

2. Visión de conjunto

El desarrollo de una intervención con BCP se compone de una fase preliminar en la que se monta el circuito de CEC y se conectan sus componentes, una fase principal en la que se pone en marcha la bomba CEC y se mantiene en funcionamiento en sustitución del sistema cardiopulmonar y una fase final de desconexión y desmontaje. Aunque las tres fases son importantes y forman parte de la formación de un perfusionista, el juego se centra en la fase principal. Durante esta etapa, el rol del perfusionista consiste en mantener el corazón parado y el nivel de oxígeno en sangre del paciente, su presión arterial y su tiempo de coagulación activa dentro de un rango de valores admisibles. Para mantener el corazón parado durante la intervención, es necesario administrar soluciones de cardioplegia, siempre a petición del cirujano.

Para mantener las constantes vitales en valores adecuados, el perfusionista ha de regular el flujo de la bomba arterial, la temperatura arterial, adecuar la composición de la mezcla de gases de oxigenación y eventualmente inyectar heparina u otros fármacos.

Los objetivos pedagógicos del juego son pues:

- que el jugador experimente la situación del perfusionista sentado delante de la bomba en un quirófano;

- que esté atento a las indicaciones del cirujano para iniciar y parar la CEC así como suministrar cardioplegia;
- que sepa leer e interpretar correctamente las constantes vitales del paciente en los distintos monitores;
- que entienda la relación entre los parámetros de la bomba CEC y las constantes vitales del paciente, pueda manejar adecuadamente la bomba y el mezclador y administrar correctamente los fármacos;
- que tenga capacidad de reacción ante imprevistos.

Para satisfacer estos requerimientos se ha diseñado un juego tridimensional en primera persona que reproduce el ambiente de un quirófano de forma realista, y en el que el jugador asume el rol de perfusionista. La trama narrativa del juego sigue el desarrollo de una intervención real introduciendo situaciones imprevistas. El rol del cirujano es asumido por el sistema que interviene mediante mensajes.

3. Diseño

3.1. Modelización funcional

La modelización funcional del sistema máquina-paciente establece la relación entre los parámetros de la máquina y las constantes vitales del paciente. Para su elaboración se han clasificado los parámetros del paciente y los de la máquina en 3 categorías: aquellos parámetros que se pueden modificar externamente a través de la interacción del jugador (de color verde en las figuras 1 y 2); aquellos que se alteran de forma programada (de color naranja en las figuras 1 y 2), y los que varían dependiendo de los otros (de color blanco en las figuras 1 y 2).

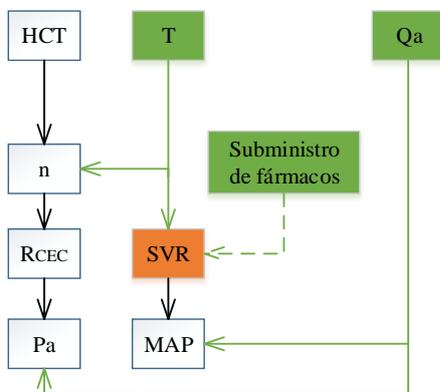


Figura 1. Diagrama de la relación entre los parámetros centrados en el control de las presiones

Como muestra la figura 1, para mantener la presión arterial media del paciente (MAP) y la presión en la línea arterial del circuito (P_a) dentro de los rangos adecuados, el jugador ha de regular la velocidad de flujo de la bomba arterial (Q_a) y mantener la resistencia vascular sistémica del paciente (SVR) ya sea ajustando la temperatura (T) ya sea suministrando fármacos. Cuando la sangre entra en CEC se mezcla con la solución de cebado del circuito, lo que produce una hemodilución que provoca una disminución de la concentración de hematocrito (HCT) y por lo tanto una disminución del coeficiente de viscosidad de esta sangre (η) que hace bajar tanto la resistencia hemodinámica en el circuito de CEC (R_{CEC}) como la SVR. Por otra parte, el

sistema puede alterar el valor de esta SVR de forma programada.

Asumiendo un régimen laminar y una presión ventricular central (CVP) nula, la presión arterial se calcula como el producto de la Q_a con la R_{CEC} , para la P_a , y con la SVR para la MAP.

Para calcular la R_{CEC} se considera que los conductos del circuito son cilíndricos y se aplica la ley de Poiseuille. La SVR (en unidades Wood) depende de la temperatura T (en °C) y del área de superficie corporal del paciente BSA en m^2) (1), que se calcula en función del peso y la altura del paciente según la fórmula de Mosteller.

$$SVR = \frac{-25 \cdot T + 2425}{BSA \cdot 80} \quad (1)$$

El valor de SVR se altera de forma programada para añadir situaciones imprevistas al juego, en este caso, un episodio de vasoconstricción o vasodilatación. El jugador restituye el valor normal administrando el fármaco pertinente.

Se ha aplicado el modelo de variación lineal del coeficiente de viscosidad de la sangre (η) en función de la temperatura [4] con coeficientes distintos según el valor de HCT segmentado en 4 rangos (ver tabla 1).

HCT entre 20-24%	$\eta = -0.05 \cdot T + 3.75$
HCT entre 24-28%	$\eta = -0.05 \cdot T + 4$
HCT entre 28-32%	$\eta = -0.0575 \cdot T + 4.435$
HCT entre 32-36%	$\eta = -0.0625 \cdot T + 4.85$

Tabla 1. Relación entre el coeficiente de viscosidad (η), la temperatura (T) y el hematocrito (HCT) del paciente

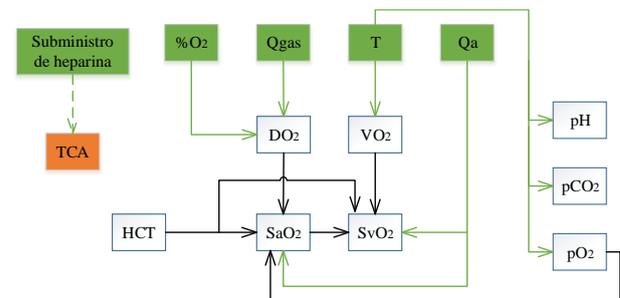


Figura 2. Diagrama de la relación entre los parámetros centrados en la regulación del oxígeno

Para controlar la saturación parcial de oxígeno en sangre venosa (S_vO_2) el jugador actúa sobre la temperatura, la Q_a y la mezcla de gases (ver figura 2). La temperatura regula la cantidad de oxígeno que consume el paciente (VO_2) y la presión parcial de oxígeno en sangre arterial (pO_2). La concentración de oxígeno de la mezcla de gases ($\%O_2$) y la velocidad de flujo de esta mezcla (Q_{gas}) determinan la cantidad de oxígeno suministrado al paciente (DO_2). La saturación parcial de oxígeno en sangre arterial (S_aO_2) se calcula en función de DO_2 , de Q_a y pO_2 y, finalmente la S_vO_2 se calcula en función de VO_2 y de S_aO_2 .

Se ha simplificado el cálculo de los parámetros de la gasometría, considerando que solo dependen de la temperatura: para cada 1°C que disminuye la temperatura, el potencial de hidrógeno (pH) aumenta 0,0147 unidades su

valor, la pO_2 disminuye un 7,2%, y la presión parcial de dióxido de carbono (pCO_2) lo hace en un 4,4%. Se asume que a 37°C el pH es de 7.4, la pO_2 de 100 mmHg y la pCO_2 de 40 mmHg [1].

El DO_2 se calcula directamente como el producto de la % O_2 con la Q_{gas} ya que la fracción de oxígeno que se transfiere en el oxigenador se ha considerado nula [5]. El porcentaje de S_aO_2 se calcula según el modelo de la ecuación 2, en la que DO_2 se expresa en $ml O_2/min$, Q_a en $l sangre/min$, pO_2 en $mmHg$ y HCT en porcentaje. Se asume que la cantidad de oxígeno disuelto en el plasma (en 100 ml de sangre), para cada mmHg de pO_2 , es de 0.031 ml/l sangre (coeficiente de Bunsen) y que en cada g de hemoglobina ($0.33 \cdot HCT$) se pueden unir 1.38 ml de oxígeno [1].

$$S_aO_2 = \frac{DO_2 - Q_a \cdot pO_2 \cdot 0.031}{Q_a \cdot 1.38 \cdot HCT \cdot 0.33} \cdot 100 \quad (2)$$

Para simplificar el cálculo de VO_2 , se ha hecho una aproximación (3) teniendo en cuenta que en condiciones fisiológicas (a 37°C) se tienen valores de VO_2 entre 20 y 90 $ml O_2/min$ por cada kg de peso del paciente; y que este valor se reduce aproximadamente un 50% por cada 7°C que disminuye la temperatura [1].

$$VO_2 = 0.5127 \cdot e^{0.099 \cdot T} \quad (3)$$

Así, el porcentaje de S_vO_2 se calcula con la ecuación 4 en función del hematocrito HCT (en porcentaje):

$$S_vO_2 = \left[\frac{S_aO_2}{100} - \frac{VO_2}{Q \cdot 1.38 \cdot HCT \cdot 0.33} \right] \cdot 100 \quad (4)$$

El valor del tiempo de coagulación activa (TCA) que controla el nivel de heparina se mantiene a 560 segundos, para que no haya peligro de coagulación durante la CEC [6], pero se verá alterado por el sistema de forma programada para que el usuario reaccione.

3.2. Jugabilidad y sistema de evaluación

Para proporcionar al juego un nivel de reto adecuado, se ha diseñado, con la ayuda de profesionales perfusionistas experimentados, un sistema de evaluación basado en puntos y vidas que penaliza los errores en la práctica de la perfusión. De esta manera, se pretende que el juego sirva para evaluar el tercer peldaño de la pirámide de Miller [7] “demostrar cómo se hace”.

Para cada constante vital, se ha establecido una escala de 0 a 3 de validez, correspondiendo 0 a valores inaceptables, fatales para el paciente y 3 a valores adecuados. El estado global del paciente también se mide en una escala del 0 al 3 (puntuación global) y se calcula como el nivel mínimo de validez de todas las constantes vitales. A cada rango de esta escala global está asociado un tiempo y unas vidas de manera que el usuario va perdiendo vidas dependiendo del tiempo que permanece en un valor de puntuación global erróneo. El nivel 0 es fatal y supone una pérdida instantánea de todas las vidas y el final del juego. El juego proporciona retroalimentación continua de la puntuación global. Se han establecido distintos niveles de dificultad en función de si el juego proporciona o no mensajes de alarma sobre los valores fuera del rango normal, de la frecuencia de los sucesos imprevistos y de la escala temporal del juego.

Todas las acciones del jugador quedan registradas para una eventual post-evaluación, por lo que el juego puede servir también como herramienta de evaluación en el aula.

4. Implementación

El videojuego presenta un entorno realista de un quirófano en 3D, para proporcionar una mayor sensación de inmersión al jugador (figura 3).

La posición de la cámara es fija, simulando que el jugador está sentado delante de la máquina, evitando el desplazamiento por el entorno para así reducir la complejidad de la interfaz. Sin embargo, se permite que el jugador rote la cámara como si girase la cabeza desde la silla. Se le permite también hacer *zoom in* y *zoom out*, simulando que se acerca con el cuerpo para centrar la vista en un determinado punto (por ejemplo para ver bien el valor de un visor) y luego volver a la vista panorámica para no desorientarse.



Figura 3. Quirófano virtual

La bomba de CEC virtual se ha modelado de forma realista con sus elementos principales como las bombas de rodillo, el mezclador de gases, etc. Además también se ha modelado un intercambiador de calor, algunos fármacos útiles, así como elementos decorativos que enriquecen la escena.

En la figura 4 se han agrupado los diferentes monitores que muestran los parámetros principales que el perfusionista necesita consultar durante una intervención. La figura 5 presenta los elementos de interacción.



Figura 4. Monitores e indicadores

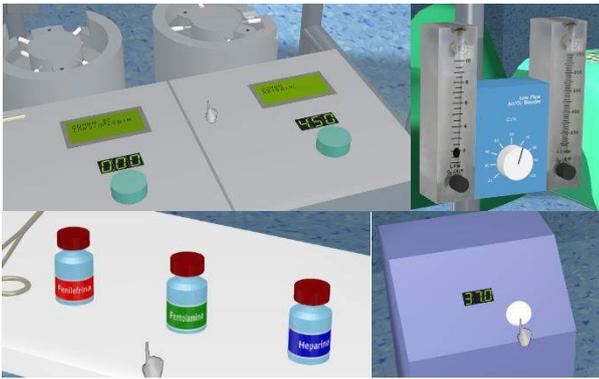


Figura 5. Elementos de interacción

Durante el juego, se reproduce un audio de fondo que simula los sonidos habituales en un quirófano. También se reproducen los mensajes del cirujano virtual tanto en voz como escritos. Además, el jugador puede ver en pantalla los diferentes mensajes de retroalimentación y su puntuación según el sistema de evaluación diseñado, descrito en el apartado 3.2.

Para la implementación del juego se ha utilizado el motor de juego de *Blender (open-source)* que proporciona el bucle estándar de juego y el renderizado. Cada vez que el jugador interactúa con algún parámetro, éste se actualiza y desencadena los cálculos de los parámetros dependientes, la mensajería y el sistema de evaluación.

Se ha implementado un sistema para la actualización gráfica de los visores y los monitores. Cada dígito de un visor numérico está asociado a una textura compuesta por la imagen del dígito. Cada vez que se actualiza el valor, se cambia la textura por la del dígito correspondiente. Los visores gráficos del ECG, la MAP y la CVP muestran sólo una parte de una textura que representa todas las fases del ciclo del parámetro. Por ejemplo, en la figura 6 se muestra la textura del ECG con tres fases: el corazón latiendo, parado, y volviendo a latir. Inicialmente se muestra por el monitor la parte que corresponde al corazón latiendo; en el momento que el corazón virtual deja de latir gracias al subministro de cardioplegia, el visor se desplaza hacia la fase siguiente y cuando acaba el BCP, se vuelve a desplazar hacia la tercera fase.



Figura 6. Textura del electrocardiograma (ECG) con una transición de parada cardíaca

5. Validación

Para la validación funcional del modelo, se ha verificado cada una de las fórmulas implementadas con los datos de las fuentes bibliográficas correspondientes. La validación funcional del sistema en su conjunto se ha basado, por una parte en la opinión de perfusionistas profesionales y, por otra en una comparación con el modelo de comportamiento del

simulador físico *Orpheus* [3] obteniendo una buena correlación entre ambos modelos.

Para validar la usabilidad tecnológica del juego, durante su desarrollo y periódicamente se han realizado pruebas cualitativas con dos grupos de 4 y 8 perfusionistas y un grupo de 7 usuarios no perfusionistas, todos voluntarios. Los usuarios fueron sometidos a una encuesta de opinión sobre el entorno gráfico, la navegación, el zoom y la interacción obteniendo una buena valoración (4 sobre 5) incluso por parte de usuarios no acostumbrados a los juegos 3D. Los aspectos a mejorar son relativos al manejo de la cámara, demasiado sensible al movimiento del ratón y la necesidad de tener una cámara adicional para poder controlar simultáneamente todos los visores.

Respecto al potencial pedagógico del juego, aunque aún no se ha podido hacer una evaluación comparativa con otros métodos de enseñanza, los usuarios profesionales que han probado el juego han opinado que tiene un alto potencial como herramienta pedagógica.

6. Conclusiones

Los juegos serios pueden constituir en el futuro cercano una herramienta amable y sistemática de entrenamiento y evaluación en el ámbito de la educación en medicina. En este artículo se ha presentado el diseño, implementación de un juego serio de entrenamiento a la perfusión. Para su desarrollo ha sido necesaria una estrecha cooperación entre clínicos especializados y técnicos. Los resultados de la primera evaluación cualitativa del juego son alentadores porque muestran un interés real de los profesionales por este tipo de herramientas.

Las líneas de trabajo futuro son la validación funcional del modelo con datos masivos de pacientes, la mejora de la interfaz atendiendo a los comentarios de los usuarios y el diseño de un experimento de validación de su utilidad pedagógica.

Referencias

- [1] Gomar, C., Mata, M. T., Pomar, J. L. Fisiopatología y técnicas de circulación extracorpórea. Barcelona, Ergon 2012 (2ª Ed).
- [2] Curry L. *Cognitive and learning styles in medical education*. Acad Med 1999; 74: 409-13.
- [3] Morris RW, Pybus DA. *Orpheus"cardiopulmonary bypass simulation system*. J Extra Corpor Technol. Dec; 39(4):228-33. 2007.
- [4] Brodie JE, Johnson RB. *The manual of clinical perfusion*. Augusta Glendale Medical Corporation, 1994, 9-14.
- [5] Alston RP., Glassford NJ., Torrie A. *Measurement of systemic carbon dioxide production during cardiopulmonary bypass: a comparison of Fick's principle with oxygenator exhaust output*, Perfusion 2003; 18: 339/344.
- [6] Regueira T., Andresen M. *Manipulación del transporte y consumo de oxígeno en la sepsis*, Rev Med Chile 2010; 138: 233-242.
- [7] Miller GE. *The assessment of clinical skills/competence/performance*. Acad Med 1990; 65 (Suppl.):S63-S67.

Diseño y desarrollo de modelos deformables personalizados para la planificación de intervenciones de cateterismo aórtico

M. Sanz-Gómez¹, B. Rodríguez-Vila^{1,2}, E.J. Gómez-Aguilera^{1,2}

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

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

Resumen

*El aneurisma aórtico abdominal (AAA) consiste en el debilitamiento y dilatación anormal de la arteria aorta, pudiendo provocar la rotura de la misma. Una alternativa a la cirugía abierta utilizada para el tratamiento de esta enfermedad es la **reparación endovascular del aneurisma (EVAR, por sus siglas en inglés)**. Se trata de una técnica mínimamente invasiva que consiste en la fijación de una endoprótesis para aislar la pared vascular dañada. La planificación preoperatoria de la intervención EVAR se lleva a cabo con imágenes de angiografía que permiten seleccionar la endoprótesis más adecuada en función de las características del paciente. Sin embargo, no se tienen en cuenta las deformaciones de la arteria durante la intervención, lo que se traduce en imprecisiones en la planificación. Planteando una planificación en EVAR que tenga en cuenta las posibles interacciones entre el stent, la pared arterial y el trombo, se podría conseguir un mejor diseño de la endoprótesis, más apropiado para la anatomía de cada paciente. En este contexto, se pretende desarrollar una aplicación que permita automatizar la obtención de un modelo virtual deformable personalizado de la pared aórtica y el trombo intraluminal para el estudio de interacción entre el stent, la aorta y el trombo. Para ello se ha utilizado la información geométrica de las imágenes de MRA preoperatorias y el modelado de las características físicas de la pared aórtica y el trombo intraluminal mediante un software open-source que implementa el modelo masa-muelle para simular deformaciones en animaciones por ordenador.*

1. Introducción

El AAA consiste en una dilatación de la aorta abdominal en más del 50% de su tamaño original, que puede llevar a la ruptura del aneurisma con una tasa de mortalidad del 90% [1]. Además de este riesgo, con el paso del tiempo, la arteria enferma no mantiene sus propiedades elásticas ideales, pierde su forma recta y aumenta su tortuosidad. Para evitar la rotura, sobre todo con aneurismas de gran tamaño, existen dos intervenciones: la reparación del aneurisma por cirugía abierta y la EVAR [2].

El desarrollo de AAA está claramente asociado con alteraciones del tejido conectivo de la pared aórtica. El desarrollo del aneurisma aórtico abdominal viene asociado también con trombos intraluminales en la mayoría de los pacientes.

La reparación de un aneurisma aórtico abdominal por cirugía abierta consiste en una incisión en el abdomen para visualizar directamente el aneurisma. Es decir, este proceso consiste en la sustitución del segmento aneurismático por un injerto protésico recto o bifurcado, en función de la afectación del territorio iliaco por enfermedad aterosclerótica. Por otro lado, la EVAR del AAA consiste básicamente en la colocación de un injerto con un stent a lo largo del aneurisma y su fijación a la pared aórtica e ilíaca [3].

En el estudio realizado por G. Moneta et al en 2005 [2], se demostró un beneficio de supervivencia a corto plazo de la EVAR, reduciendo en 2/3 la mortalidad respecto a cirugía abierta a los 30 días y durante la estancia en el hospital. Este estudio sugiere beneficios de EVAR pasados dos años, debido a la mayor mortalidad de la cirugía abierta los primeros días. Pero cabe destacar todas las complicaciones que surgen en EVAR y que han llevado a cuestionar que los beneficios de esta intervención a largo plazo no son muy diferentes a la cirugía convencional.

En la reparación endovascular de AAA es fundamental realizar una buena planificación preoperatoria con el fin de asegurar el éxito tanto durante como después de la intervención. Se requiere un estudio preoperatorio preciso de la anatomía aórtica, basado en exploraciones de alta calidad con angio-TC para determinar la viabilidad del procedimiento de EVAR y para calcular las dimensiones apropiadas de la endoprótesis, así como para planificar el procedimiento.

La planificación de esta intervención para una aorta recta es relativamente sencilla. Sin embargo, la estimación de cómo la prótesis real va a ajustarse a un segmento curvo y tortuoso no está resuelto. Debido a las interacciones stent-arteria, las geometrías 3D del árbol arterial no serán iguales en imágenes preoperatorias e intraoperatorias, ya que la inserción del catéter y la endoprótesis reduce la tortuosidad de la arteria y la endereza. Esto puede conducir a diseños incorrectos o mala colocación de las fenestraciones, con una posible oclusión de las arterias renales [4].

Además, obtener evidencias clínicas de las propiedades mecánicas de la aorta enferma es complicado. Ésta es la principal razón por la cual los estudios de modelos de elementos finitos (FEM, por sus siglas en inglés) muestran tantas discrepancias. No obstante, como alternativa, las técnicas virtuales de colocación de *stents* pueden ofrecer

información valiosa al proporcionar un conjunto de supuestos generales a gran escala de las propiedades geométricas y mecánicas de la aorta.

Debido al creciente uso de las técnicas de cirugía mínimamente invasiva en los últimos años, son muchos los trabajos que han intentado proponer modelos virtuales de interacción entre los instrumentos quirúrgicos y las estructuras vasculares.

Algunos autores introdujeron el modelado del catéter como una cadena de elementos cilíndricos pequeños y rígidos mediante sistemas masa-muelle, que estaban unidos a sus vecinos [5][6]. Sin embargo, la pared vascular la mantenían como sólido rígido. Sólo en los últimos años se ha presentado algunos estudios que han desarrollado sistemas de navegación con sólidos deformables [7] [8].

Como la técnica FEM es compleja y necesita una gran precisión, sólo está justificado su uso cuando las propiedades mecánicas de los elementos pueden ser determinadas con exactitud. Esto no es posible en este trabajo dado que no se tienen suficientes evidencias clínicas que permitan determinar las propiedades mecánicas en personas con AAA, pues la variabilidad de estos parámetros, que dependen de muchas características de la pared enferma, es elevada. Además de la dificultad de plantear su uso para pacientes concretos, se añade un tiempo de simulación muy elevado debido a la complejidad de los cálculos, que pueden alargarse varios días.

Por todo ello, se ha planteado una metodología basada en los sistemas masa-muelle que, aunque no permite obtener resultados de gran exactitud, sí que otorgan, en poco tiempo, predicciones aceptables en los comportamientos de las deformaciones.

2. Material y métodos

En este apartado se presenta las herramientas y la metodología empleadas para el desarrollo del trabajo.

2.1. Herramientas de desarrollo

Dado que nuestro objetivo es realizar el modelo de interacción catéter-aorta en un entorno de simulación de realidad virtual, se eligió el software Blender [9] como herramienta de trabajo. Blender está pensado y diseñado como un software para animación, modelado y simulación en el ámbito del entretenimiento (videojuegos y películas de animación). El reto de este trabajo no era sólo aplicarlo en otro campo, sino cambiar su utilidad final habitual. Además, Blender incorpora la Bullet Physics Library, una librería de código abierto especializada en la detección de colisiones, la cual es ampliamente utilizada en la actualidad por una gran variedad de programas de simulación tridimensional.

Las mallas tridimensionales que definen la geometría se obtienen a partir de imágenes de RM de 4 pacientes (figura 1) gracias a la metodología propuesta Tarjuelo-Gutierrez [9], y se almacenan en formato X3D.

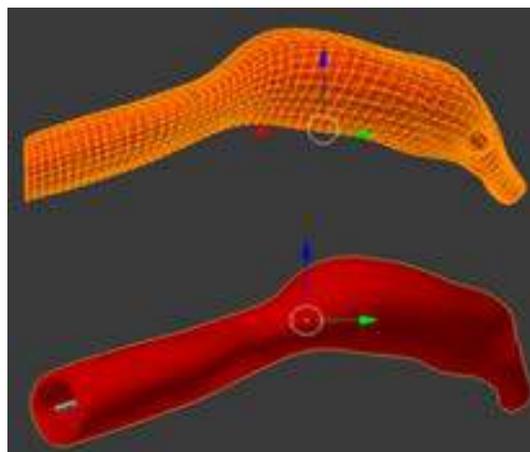


Figura 1. Mallas en Blender. Modo edición (arriba) y modo objeto (abajo).

2.2. Estudio de sólidos deformables y de colisión en Blender

A diferencia de la simulación de cuerpos rígidos, la forma de los cuerpos elásticos puede cambiar, por lo que la distancia relativa entre dos puntos no es fija. Sin embargo el objeto sí que mantendrá su forma, al contrario que un fluido. La simulación de cuerpos blandos en Blender se basa en tratar al objeto como un conjunto de masas conectadas por muelles en lo que se denomina sistema masa-muelle. En estos modelos se pueden modificar parámetros para determinar cómo reaccionan los muelles a las fuerzas externas y cómo esta simulación deforma la propia malla.

En este trabajo se trata la arteria y trombo como objetos deformables que varían sus propiedades según se cambien los parámetros que permite la librería física de Blender. Pero también se debe tener en cuenta que esos objetos deben poder interactuar entre ellos. Para ello se asignó el modificador colisión de Blender. Algunos de los parámetros más importantes de estos modificadores se pueden ver en la Tabla 1:

PARÁMETROS	DESCRIPCIÓN
PULL	De 0 a 1. Indica la rigidez del muelle de los bordes.
PUSH	De 0 a 1. Simula un muelle de compresión, cómo resiste el cuerpo a poner los ejes juntos (arrugarse).
DAMP	De 0 a 1. La fricción en los ejes, valores altos amortiguan el efecto de rigidez
ERROR LIMIT	Define la calidad de la solución entregada. Por defecto es 0.1. Es el parámetro más crítico , dice cómo de precisa tiene que ser la comprobación de que hay colisiones.
BENDING	Especifica la rigidez del cuerpo blando. A mayor valor, más rígido
OUTER/INNER	Indican la distancia externa e interna de colisión, el tamaño de la zona de colisión

Tabla 1. Parámetros del modificador de colisión.

La endoprótesis se modeló inicialmente como un tubo rígido que se expandía e interactuaba con la arteria y el trombo. Con el objetivo de aumentar la calidad de simulación obteniendo un tiempo de ejecución aceptable, se utilizó la herramienta de subdivisión para rellenar de vértices paralelos las mallas, perteneciendo todos estos vértices al mismo objeto y por tanto no interactúan entre

sí. Esto mejoraba los resultados pero aún aparecían ciertas roturas fruto de esa imprecisión.

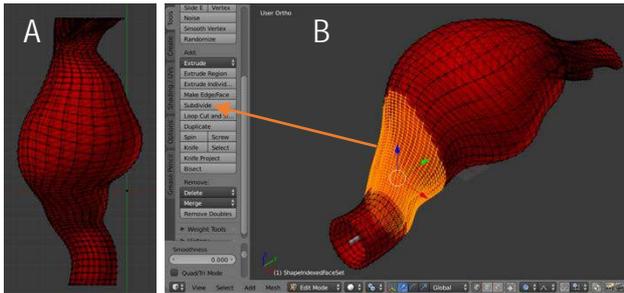


Figura 2.A: Malla aórtica del paciente 1 sin subdividir. B: Malla aórtica del paciente 1 con la zona del cuello proximal subdividida usando la función *subdivide* que se observa a la izquierda de la imagen.

Ante la imposibilidad de subdividir la malla entera por el aumento inasumible en el tiempo de simulación, se decidió subdividir aquellas zonas con contacto directo con la endoprótesis, lo que denominamos zonas críticas (figura 2). De esta manera se consigue disminuir el gasto computacional aumentando la precisión sólo en las zonas críticas.

2.3. Modelado y liberación de la endoprótesis

Se implementó un código en Python que permite trazar una curva teniendo en cuenta los puntos en el espacio descritos por las coordenadas (x,y,z) dadas para cada paciente, que describen la trayectoria central del lumen de la arteria aneurismática, y a partir de dicha curva crea un tubo.

Posteriormente se planteó la liberación de la endoprótesis. Con el objetivo de acercar ésta a la realidad, se decidió idear un sistema de liberación por pasos. Debido a la enorme dificultad de automatizar este proceso mediante fuerzas que tiendan a expandirlo o comprimirlo cuando llegue a cierto punto, se realizó el modelado de los pasos manualmente, de manera que el usuario debe modelar la expansión por pasos de la endoprótesis (figura 3). No obstante, gracias a las facilidades que nos ofrece Blender en este aspecto no supone un trabajo demasiado complejo.

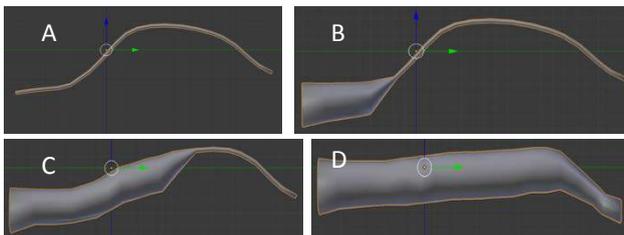


Figura 3.Situación del stent en distintos frames de la simulación. A: Frame 0 B: Frame 50 C: Frame 600 D: Frame 1351.

2.4. Automatización de los procesos mediante Python

Uno de los objetivos de este trabajo era realizar una herramienta automática para el estudio de la interacción en sólidos deformables.

El script creado permite la importación automática de mallas exportadas en X3D a Blender, modelado del stent

teniendo en cuenta las coordenadas del centro del lumen de la arteria de cada paciente, asignación de modificadores de sólido deformable y colisión al trombo y arteria y de colisión al stent para tratarlo como objeto rígido. El último paso es el de modelado del enderezamiento y expansión de la endoprótesis.

Una vez finalizado el proceso, el usuario puede comprobar en la interfaz los valores asignados a las mallas de interés y variarlos si así lo desea.

2.5. Evaluación cualitativa

Se pretende validar cualitativamente los resultados para observar si las deformaciones obtenidas son coherentes. No se trata de valorar resultados de forma cuantitativa, pues los modelos masa muelle no permiten obtener resultados tan exactos como puede hacer FEM, sino de valorar si las deformaciones obtenidas son realistas.

Como el enderezamiento de la endoprótesis se ha planteado como un proceso manual, se plantean 3 formas diferentes de enderezarse con el fin de conseguir una validación adecuada (figura 4): manteniendo fija la posición de la bifurcación (izquierda), manteniendo fija la posición del cuello aórtico (centro) y manteniendo fijas ambas posiciones (derecha).

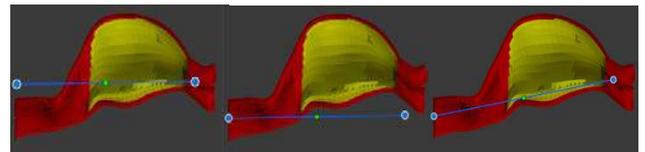


Figura 4.Se muestran las geometrías de enderezamiento del stent. La línea azul representa la línea central de la situación de la endoprótesis una vez enderezada.

Para cada una de estas geometrías se proponen distintas pruebas con variaciones en los valores de los parámetros de los modificadores con la intención de estudiar con cuáles se obtienen resultados realistas.

3. Resultados y discusión

Se proponen 4 combinaciones de parámetros seleccionadas a partir de las pruebas previas. Al utilizar 3 geometrías de enderezamiento diferentes sobre 4 pacientes, y usando 4 combinaciones de parámetros, se obtiene un total de 48 simulaciones.

Casos	Pull	Push	Bending	Error Limit	SB.Damping
Caso 1	0.7	0.7	0	0.1	0.1
Caso 2	0.85	0.7	2	0.01/0.1	0.3
Caso 3	0.85	0.8	3	0.01/0.1	0.4
Caso 4	0.90	0.90	3	0.01/0.1	0.4

Tabla 2. Valores de los parámetros del modelo masa-muelle para los cuatro casos estudiados.

Se observa que los parámetros más críticos y los que van a producir mayor variación en el resultado de la simulación son *pull*, *push*, *bending* y *error limit*. Los tres primeros afectan a la geometría del objeto y el último está relacionado con la precisión a la hora de calcular las colisiones y deformaciones en cada vértice. En la Figura 5

se presenta uno de los casos para un paciente en concreto, con las tres geometrías planteadas para la evaluación.

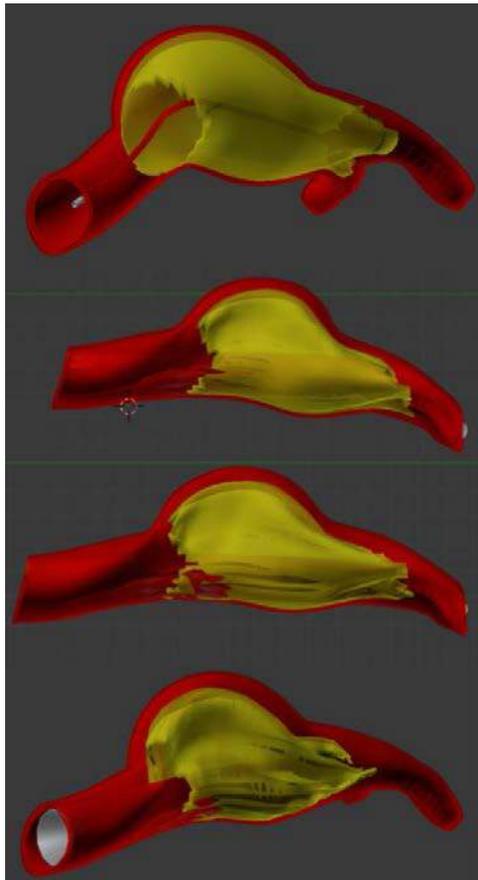


Figura 5. Situación inicial (arriba) y simulación de las deformaciones con las tres geometrías planteadas para un paciente.

Después de evaluar cualitativamente el resultado de las 48 simulaciones, se proponen en la Tabla 3 los valores de los parámetros que mejor comportamiento han presentado. Sin embargo, se necesita un proceso de validación comparando estas deformaciones con imágenes postoperatorias o con otros métodos que ya estén validados, por ejemplo con FEM como se ha hecho algunos estudios.

Pull	Push	Bending	Error Limit	SB.Damp ng
0.7-0.9	0.7-0.8	0.1-3	0.1	0.1

Tabla 3. Valores del modelo masa-muelle propuestos.

4. Conclusiones y trabajos futuros

En este trabajo se ha logrado implementar una herramienta semiautomática que permite, dadas las mallas aórticas obtenidas a partir de imagen por resonancia magnética, crear una escena para la simulación de la liberación del stent en la técnica EVAR.

La principal ventaja que nos ofrece la plataforma Blender es que es abierta, e integra numerosas de funcionalidades. Mientras en algunos trabajos de la literatura necesitaban otros softwares adicionales para el modelado, implementación de código para sólidos deformables e integración de la escena para su simulación, Blender ya nos ofrece esta posibilidad sin plataformas adicionales. De esta

manera, a lo largo del desarrollo del trabajo se ha podido implementar código para automatizar procesos, modelar mallas y animar la simulación solamente usando Blender.

Sin embargo, cabe destacar que la herramienta presentada está todavía lejos de poder ser utilizada en la rutina clínica, pero teniendo en cuenta las soluciones tecnológicas que hay hasta el momento en este tema, se puede concluir que el trabajo realizado en Blender abre la puerta a otros estudios que permitan mejorar el realismo de las soluciones que se han planteado y, sobre todo, validar cuantitativamente los resultados obtenidos.

Actualmente se está trabajando en una validación cuantitativa de los resultados, comparando las deformaciones obtenidas con imágenes postoperatorias de los pacientes, así como automatizar totalmente el proceso de liberación de la endoprótesis simulando las fuerzas reales que hacen que esta se expanda y enderece.

5. Bibliografía

- [1] V. Riambau, F. Guerrero, X. Montañá and R. Gilabert, 'Aneurisma de aorta abdominal y enfermedad vascular renal', *Revista Española de Cardiología*, vol. 60, no. 6, pp. 639-654, 2007.
- [2] G. Moneta, 'Comparison of Endovascular Aneurysm Repair With Open Repair in Patients With Abdominal Aortic Aneurysm (EVAR Trial 1), 30-Day Operative Mortality Results: Randomised Controlled Trial', *Yearbook of Vascular Surgery*, vol. 2006, pp. 147-148, 2006.
- [3] R. Jackson, D. Chang and J. Freischlag, 'Comparison of Long-term Survival After Open vs Endovascular Repair of Intact Abdominal Aortic Aneurysm Among Medicare Beneficiaries', *Journal of Vascular Surgery*, vol. 56, no. 4, p. 1180, 2012.
- [4] J. Sobocinski, H. Chenorhokian, B. Maurel, M. Midulla, A. Hertault, M. Le Roux, R. Azzaoui and S. Haulon, 'The Benefits of EVAR Planning Using a 3D Workstation', *Journal of Vascular Surgery*, vol. 58, no. 4, p. 1143, 2013.
- [5] V. Guilloux, P. Haigron, C. Gosku, C. Kulik, A. Lucas, "Guide wire Modeling for the planning of catheterization," *Universidad de Rennes*
- [6] V. Luboz, J. Lai, R. Blazewski, D. Gould, F. Bello, "A Virtual Environment for Core Skills Training in Vascular Interventional Radiology," *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, vol. 5104 (2008), pp. 215-220.
- [7] S. Guo, M. Qu, GAO, B. Gao, J. Guo, "Deformation of the catheter and 3D blood vessel model for a VR-based Catheter System", *IEEE International Conference on Mechatronics and Automation*, 2013, pp. 861-866.
- [8] D. Chen, M. Muller-Eschner, F. Rengier, D. Kotelis, D. Bockler, Y. Ventikos, Y. Xu, Y. Zeng, Y. Peng and H. von, 'A Preliminary Study of Fast Virtual Stent-Graft Deployment: Application to Stanford Type B Aortic Dissection', *Int J Adv Robotic Sy*, p. 1, 2013.
- [9] Página web oficial de Blender. <http://www.blender.org/>
- [10] J. Tarjuelo-Gutierrez, B. Rodriguez-Vila, D.M. Pierce, T. Fastl, P. Verbrugghe, I. Fournau, G. Maleux, P. Herijgers, G.A. Holzpfel, E.J. Gómez. High-quality conforming hexahedral meshes of patient-specific abdominal aortic aneurysms including their intraluminal thrombi. *Med. Biol. Eng. Comput.* (2014) 52:159-168.

Free-hand 3D reconstruction and tumor segmentation of Laparoscopic Ultrasounds for pancreatic MIS interventions

A. Fernández Pena¹, M. Viana Matesanz¹, B. Rodríguez-Vila^{1,2}, I. Oropesa^{1,2}, P. Sánchez-González^{1,2}, J.A. Sánchez Margallo³, J.L. Moyano García-Cuevas³, F.M. Sánchez Margallo³, E.J. Gómez Aguilera^{1,2}

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

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

³ Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España, {jasanchez, jlmoyano, msanchez}@ccmijesususon.com

Abstract

Pancreatic cancer's treatment dilemma comes while trying to determine the precise nature of the lesion. The best approach is defined by diagnose of the tumor cells' staging. This paper presents a fast approach towards acquiring an estimation of the tumor positioning and size through laparoscopic ultrasound (LUS) images. The method segments 2D images of pancreas and lesions before reconstructing the extracted tumors into a full 3D volume. The whole method is integrated into a visualization and analysis specialized software (3D Slicer) as a module to provide users with a better experience. Reconstruction positioning is aided by a tracking system for the LUS probe which generates the images. In order to validate the method, an experiment using ex vivo porcine pancreas was conducted. We demonstrate the feasibility of the tracked LUS navigation approach for the delimitation of tumor structures allocated in the pancreas. Results show time constrains, while accuracy suffers in some stretches according to the image quality. Distinguishable structures are successfully depicted on the reconstruction. Time constrains for image segmentation are considerably reduced to nearly a second per image when the method is integrated into 3D Slicer as a module over a common laptop computer. Full reconstruction is achieved in 33 seconds. This proves the usefulness of the application in addition to being able to display both 2D segmentation and 3D reconstruction methods results.

1. Introduction

Main pancreatic interventions are performed to diagnose or extract tissues associated to the organ's functions. Both cases are related to the appearance of cancer-like symptoms. The correct staging of pancreatic cancer determines life expectancy and clarifies in most cases the best approach or treatment necessary in each situation [1].

Treatments for pancreatic cancer depend on the staging of the pathology, where most successful cases come from resection and removal of tumorous cells through surgery [2]. The main difficulty in staging resides in the poor accessibility to the pancreas, due to its location inside the abdominal cavity. Surrounded by numerous blood vessels, it is also in contact with other organs and stretches of the gastrointestinal tract.

Pancreas resection is performed through laparoscopy, requiring instrumental feedback to assist the surgeon's movements inside the cavity. These interventions demand knowledge of the anatomy and expertise in these procedures around the pancreas. These are risky and complicated interventions, requiring aid for navigation

using image guidance. In addition to preoperative images and navigation tracking, procedures are supported by intraoperative imaging. These reflect actual positioning of the instruments being used and anatomy of the organ. However, it demands accuracy and quick processing for correct mapping of the elements.

Preoperative studies are focused on the accurate localization of tumors across the organ tissue, becoming vital towards decision making [3]. For a long period, the best perspective from the pancreas was obtained through MRI. However, the high difficulty to segment the organ from other tissues shown in the image hinder decision making. Therefore diagnosis through preoperative studies is a challenging tasks, suggesting the addition of information from other imaging source for the actual surgical procedure.

The utilization of laparoscopic ultrasound (LUS) to obtain intraoperative images for mapping is proposed [4]. This technique is able to penetrate the organ, showing internal tissues in addition to superficial ones. Navigation systems can only provide superficial positioning of the LUS probe sweeping the pancreas surface. No accurate information for exact positioning of elements allocated inside the organ can be obtained. However, it is possible to provide a perspective of these by using surface location of the probe. Developing 3D reconstructions using the current two-dimensional LUS images being obtained by the probe allows a better perspective for decision making [5]. Sustainment for mapping is achieved through a six-dimensional tracking system, with the sensor embedded in the probe. Research on this approach has been made, using freehand ultrasounds, demonstrating its feasibility [6][7]. However alterations on tumor positioning and resulting volume can be caused due to contact between organ surface and probe.

We propose a navigation approach based on freehand 2D LUS and focused on the neighborhood of the tumor. The objective is to provide a technique for tumor localization, displaying a 3D ultrasound model acquired through 2D segmented images. The following paper presents a solution based on the reconstruction of the volume using tracking information of each 2D LUS image associated to the probe position and orientation. Testing of this approach is obtained through an ex vivo experiment where the surgeon navigates the probe along tumor locations and

results are compared to a previously obtained MRI of the same organ.

2. Materials and methods

2.1. Experimental set-up

An ex vivo porcine pancreas has been used in this study. The pancreas was placed stretched and fixed to a rigid surface so as to prevent shifts in its position during all imaging acquisition. MRI and CT were used as preoperative imaging, and LUS as intraoperative imaging. For the registration of the different imaging modalities, both preoperative and intraoperative, five fiducial markers made with vitamin A capsules, visible in both MRI and CT studies, were used.

For the MRI data, we used a T2 weighted sequence (Fig. 1a) with 20 coronal slices of 1mm slice thickness with no intersection gap and 0.67x0.67mm spatial resolution using a 1.5T MR scanner (Phillips, The Netherlands). Previous to the CT study a medium contrast was injected into the pancreatic duct through the orifice of the common bile-duct and pancreatic duct. CT images (Brilliance CT, Phillips, The Netherlands) were acquired using a slice thickness of 0.1mm and no gap between slices (Fig. 1b).

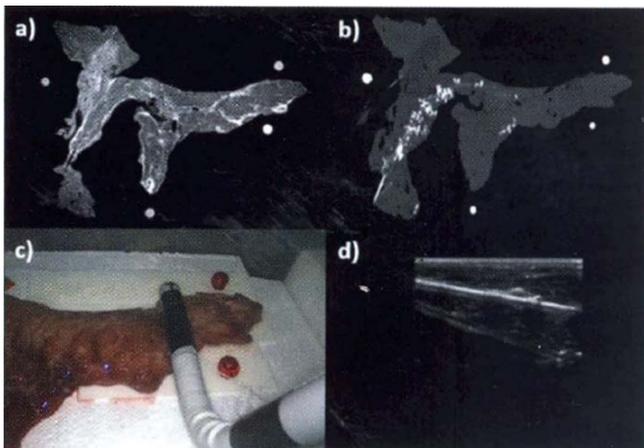


Figura 1. a) RM; b) contrasted CT; c) endoscopic video; d) LUS

Once the MRI and CT studies have been obtained, the pancreatic model was placed inside a box trainer for the intraoperative imaging. A HDI 5000 laparoscopic ultrasound system (Phillips, The Netherlands) and endoscopic video were used as intraoperative imaging systems (Fig. 1c and 1d). An electromagnetic tracking system (Aurora, Northern Digital Inc., Canada) was used to record the 3D position and orientation of the four fiducial markers using a tracked pointer (Fig. 2, left).

A miniature 6DOF sensor was attached to the flexible end of the LUS probe for recording its motion during the scanning (Fig. 2, right). The scanning sequence of LUS was performed from the tail to the head of the pancreas. The probe was moved smoothly while it acquired the ultrasound images and the tracking system recorded its 3D position and orientation. The video outputs from the ultrasound system and the laparoscope were synced and recorded.



Figura 2. left) Experimental set showing the porcine pancreas, fiducial markers as red spheres and the Aurora electromagnetic tracking system; right) 6DOF sensor attached to the LUS probe.

Pseudotumors simulated by injecting alginate into the pancreas are identified in the LUS video as high reflecting tissue. A shadow appears underneath the pseudotumor location in the image. Information about the shape of these structures is difficult to obtain (Fig. 3). In addition, a bubble between the organ and the surface was formed during the experiment. Only after obtaining the video was it recognizable. This surface caused another reflection in LUS images that could be easily confused with a tumor. These two are the main structures that can be identifiable in LUS images obtained during the experiment.



Figura 3. left) Pseudotumor in LUS video; right) synced endoscopic view of the LUS probe.

2.2. 3D Slicer

3D Slicer project provides an interface for visualization and interaction of different medical image formats in 2D and 3D [8]. In addition, it includes a development platform, incorporating a set of widely used software libraries such as VTK [9] and ITK [10]. 3D Slicer's main advantage resides in the use of module-oriented development, allowing implementation of functional modules. The process is fully transparent to the platform where development through Slicer is taking place.

The work-flow in this research consists in two main steps: first, methods were developed using VTK and ITK libraries; secondly, 3D Slicer modules were designed integrating said method into them, where process information and results would be displayed.

2.3. Free-hand 3D reconstruction

The objective of LUS volume reconstruction is to construct a 3D volume from a set of 2D frames and place

it in the same coordinate space as the MRI. The volume reconstruction method uses VTK and is based on the work of Gobbi et al. [5] and Lasso et al. [6].

First step is to calculate the affine transformation matrix that determines the place of each frame in the volume. Aurora tracker provides the orientation and position of the LUS that define the transformation matrices to place images in the tracker coordinate space. An additional matrix is needed to translate tracker matrices to the MRI coordinate space. This matrix is obtained applying a rigid registration between the markers' coordinates in Aurora space and MRI space. Final transform matrix is the result of multiplying tracker matrices by rigid registration matrix.

After this, 2D image slices are inserted into a 3D volume. Two methods are tested to interpolate pixels, nearest-neighbor interpolation and linear interpolation. In the first one pixels are inserted into the nearest voxel not considering the values of neighboring points. This is the faster method but results are generally poor. The second method, trilinear interpolation, considers a kernel of 2x2x2 surrounding voxels and distributes pixels into them using weighted coefficients. This method is computationally intensive and may introduce blur, but is expected to provide higher quality reconstruction than nearest-neighbor.

To avoid the need of a hole-filling method in this experiment we are taking advantage of the use of a high sampling rate while tracking. Aurora tracker gives 40 positions every second while video has 25 frames per second. Oversampling the video gives 40 frames per second that can be used to compound the volume with no loss of voxels.

2.4. 2D images segmentation

LUS images suffer from different types of artifacts, shadowing effects and attenuation, making segmentation a demanding task. Due to this fact, conventional methods are not enough to achieve accuracy or allow automation of the process. Level set based methods suggest a better approach to the case [12].

The solution proposed consists on describing an algorithm for seed searching across the image. The main goal is to follow patterns such as shadows for tumors allocated in the inside or high intensity values in proximity to the organ boundaries on superficial ones. Seeds found are stored and later used as the initial positioning for the center of active contours. These will propagate across surfaces and determine the area to be segmented, defining a set of points which constitute the boundaries of the area.

Additionally, these images present secondary echoes. These might cause the algorithm to mistakenly find seeds in unwanted positions. For this reason, previous to seed searching, the primary echo is preserved and secondary ones are erased for later considerations. The frontier between echoes is clearly defined in most images in terms of intensity value. By specifying its thickness, the method is able to determine the boundary positions for the main echo. Keeping only the main echo implies that the search

time needed is reduced and seed criteria accuracy increases, benefiting the method.

After seeds are finally found, the method proceeds to segment the structures. Despite the connectivity between the elements that shape the tumor being poor, it is possible to find an intensity relation. Threshold level sets perform best in this situation, defining the propagation of the active contour as a function of pixel intensity. Some contours are initialized with a certain size due to the nature of the seed based on the criteria obtained performing the algorithm.

3. Results and discussion

The ex vivo pancreas featured two superficial pseudo-tumors. LUS video showed little to none information of these elements. Instead, shady patterns and high reflection areas were distinguishable. They also provided information of internal tissue.

The exploration of the MRI of the organ confirmed presence of the two elements detected through LUS, shadows related to the bubble and the pseudo-tumors. However, comparisons could only be made between the items not related to the latter.

Under this scenario, the segmentation algorithm was designed towards obtaining the high reflecting or shady structure caused by the pseudo-tumors and bubble alike. Defined by a range of intensities, isolation was possible. As for the volume reconstruction, zones in LUS images matching the pseudo-tumors cast big shadows underneath them. As a result, holes show up in the reconstructions giving few information of the damaged area.

Segmentation and 3D reconstruction methods were successfully integrated in 3D Slicer as command line interface (CLI) and loadable modules respectively. This provided additional visual reference for further results comparisons. Also, processing time required was reduced by locally storing images and data inside 3D Slicer's application environment.

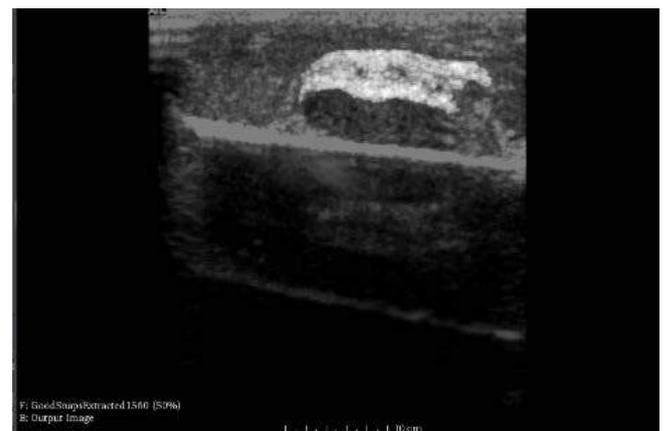


Figure 4. Recognizable structure segmentation. Highlighted area matches a shadow originated by a bubble trapped under the organ.

A first approach through reconstruction of pre-segmented LUS images offered a perspective of the difference between volumes. Spatial correlation between the pseudo-tumors in the reconstructed volume and the MRI model

differ in ± 2 millimeters between surface registrations. This means error might be caused by the pressure the probe applies to the pseudo-tumor and pancreas surface.

While pseudo-tumors could not be segmented (*Fig.4*), 2D LUS image segmentation succeeded on non-pseudo-tumor mentioned tissues. The algorithm, already integrated as a 3D Slicer module, obtained results and displayed the segmented image close to a second after being applied.

When applying reconstruction using LUS images extracted from the video showing the organ structure, the nature of segmented tissues was determined. Through MRI volume comparison, the structure matched one of the bubbles indicated before, allocated between the pancreas and the surface where it laid.

The trilinear interpolation method took an average of 1 minute and 50 seconds to process a set of 1500 images. The resulting images seemed to be insusceptible to noise, but the out-coming gaps associated to the pseudo-tumors exceed their actual dimensions considerably. Nearest neighbor interpolation reconstruction method was the fastest one, taking approximately 33 seconds to process 1500 images. When measuring the quality of the results, the images given by the nearest neighbor interpolation contained a higher level of noise. On the other hand, its high performance defined the pseudo-tumors' borders more precisely. In addition, the holes the pseudo-tumor shadow originates in the volume, match up quite accurately in morphology and size with the pseudo-tumor shown in the MRI (*Fig. 5*). The obtained pseudo-tumor has the same shape but differs with model in roundness in one of its sides. The obtained volume of the pseudo-tumor LUS shadow is 250 mm^3 while model pseudo-tumor has a size of 304.70 mm^3 .

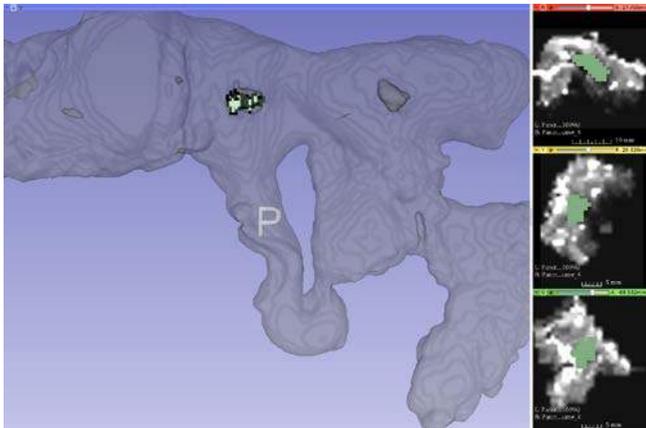


Figura 5. Free-hand 3D reconstruction superimposed on a pancreas model obtained from the MRI. Green areas in the reconstruction correspond to the shadow the pseudo-tumor drops.

4. Conclusions

3D volume reconstruction showed convincing results despite having to identify the movement caused to tissues by sweeping the probe over them. Image segmentation was able to isolate tissues similar to those typically associated to the pseudo-tumor, such as shades and high intensity regions over them.

Full volume reconstruction from segmented images is achievable with time constrains. Real-time processing depends on the size and duration of the video used. In addition, quality of the images in terms of pseudo-tumor visualization becomes a priority.

3D Slicer provides several advantages to users. Among them are visualization and processing time requirements. Module implementation's problems are often related to the poor guidance given to users. Being able to dispose different modules under the same environment simplifies quantitatively the effort required to visualize and compare images and volumes obtained from different sources, e.g. LUS, MRI or CT.

Acknowledgments

This work has been carried out under project NAVISurg of the Biomedical Research Networking Center in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN).

References

- [1] Ghaneh P., Costello E., Neoptolemos, JP. Biology and management of pancreatic cancer. *Gut*.2007; 56: 1134-52.
- [2] Liu RC, Traverso LW. Laparoscopic staging should be used routinely for locally extensive cancer of the pancreatic head. *J Gastrointest Surg*. 2004; 8(8):923-924.
- [3] Buchs N., Chilcott M., Morel P. Vascular invasion in pancreatic cancer: Imaging modalities, preoperative diagnosis and surgical management
- [4] Minnard E A, Conlon K C, Hoos A, Dougherty E C, Hann L E, Brennan M F. Laparoscopic ultrasound enhances standard laparoscopy in the staging of pancreatic cancer. *Ann Surg* ; 228:182–187.
- [5] D. G. Gobbi, T. M. Peters. Interactive intra-operative 3d ultrasound reconstruction and visualization. *MICCAI* (2), 2002, pp. 156–163.
- [6] Catheline J M, Turner R, Rizk N, Barrat C, Champault G. The use of diagnostic laparoscopy supported by laparoscopic ultrasonography in the assessment of pancreatic cancer. *Surg Endosc*. (1999); 13:239–245.
- [7] Liu RC, Traverso LW. Laparoscopic staging should be used routinely for locally extensive cancer of the pancreatic head. *J Gastrointest Surg*. 2004; 8(8):923-924.
- [8] 3D Slicer home page <http://www.slicer.org/>
- [9] VTK home page <http://www.vtk.org/>
- [10] ITK home page <http://www.itk.org/>
- [11] Andras Lasso, Tamas Heffter, Adam Rankin, Csaba Pinter, Tamas Ungi, and Gabor Fichtinger. PLUS: Open-source toolkit for ultrasound-guided intervention systems. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2014 Oct; 61(10):2527-37. doi: 10.1109/TBME.2014.2322864
- [12] Anis Ahmad; Derek Cool; Ben H. Chew; Stephen E. Pautler; Terry M.Peters. 3D segmentation of kidney tumors from freehand 2D ultrasound. *Proc. SPIE* 6141, Medical Imaging 2006: Visualization, Image-Guided Procedures, and Display, 61410S (March 10, 2006); 10.1117/12.653848.

Sistemas de ayuda a la decisión

Miércoles 4 de Noviembre

Diseño y desarrollo de un módulo de informes para la ayuda a la toma de decisión en pacientes con Daño Cerebral Adquirido

V.J. Sánchez-Pollo¹, P. Chausa^{1,2}, A. García-Rudolph³, A. García-Molina³, J.M. Tormos³, E. Menasalvas⁴, E.J. Gómez^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España
vj.sanchez@alumnos.upm.es, {pchausa, egomez}@gbt.tfo.upm.es

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

³ Instituto Universitario de Neurorehabilitación Guttmann-UAB, Barcelona, España, {agarciar, agarciam, jmtormos@guttmann.com}

⁴ CTB- Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España {emenasalvas@fi.upm.es}

Resumen

El Daño Cerebral Adquirido (DCA) es un grave problema social y sanitario y constituye una de las principales causas de discapacidad adulta en el mundo occidental. La rehabilitación cada vez consigue mejores resultados, pero aún existe un gran desconocimiento sobre los ejercicios terapéuticos más eficaces según el perfil de afectación de cada paciente. Con el objetivo de contribuir al cuerpo del conocimiento de la rehabilitación de pacientes con DCA para la elaboración de terapias personalizadas, se crea el proyecto "COGNITIO: Análisis multiparamétrico de imagen, clínica y terapia para optimización de la rehabilitación cognitiva en DCA.". Como parte de este proyecto se diseña y desarrolla un módulo de informes para ofrecer información de interés al equipo médico que ayude a la toma de decisión y el análisis de datos. Para ello se construye una solución basada en el Procesamiento Analítico en Línea (OLAP) utilizando las herramientas de la suite Pentaho y se crea un portal web para el acceso a los informes generados.

1. Introducción

El Daño Cerebral Adquirido (DCA) constituye una de las principales causas de discapacidad adulta en los países occidentales [1]. Se trata de un grave problema social y sanitario, de incidencia creciente y de gran dificultad diagnóstica y terapéutica. Esta lesión se produce normalmente como consecuencia de un traumatismo craneoencefálico, un accidente cerebrovascular, una anoxia o hipoxia o un tumor cerebral. La mejora de la atención sanitaria ante este suceso ha permitido aumentar la tasa de supervivencia de los afectados, lo que infiere aún mayor importancia a una rehabilitación efectiva que permita mejorar el déficit cognitivo y aumentar la autonomía de las personas con DCA.

La rehabilitación cada vez consigue mejores resultados; sin embargo, todavía queda un amplio camino por recorrer, ya que supone un campo especialmente complejo en comparación con otras disciplinas médicas. Se precisa de un tratamiento individualizado, integral, de carácter multidisciplinar, centrado en actividades relevantes para el paciente y con una gran implicación por parte de la familia. Además, no existe conocimiento suficiente sobre los ejercicios terapéuticos que resultan más eficaces según el

perfil de afectación, ni la relación entre los aciertos obtenidos en dichos ejercicios y el resultado final del proceso.

La complejidad de las funciones cognitivas, de manera aislada y más aún cuando se contemplan en su conjunto, la heterogeneidad de las lesiones, el elevado número de opciones terapéuticas, así como de las potenciales estrategias de interacción, convierte la representación del conocimiento clínico en un problema complejo, cuyos requerimientos tecnológicos exceden a los métodos utilizados de manera convencional.

El proyecto "COGNITIO: Análisis multiparamétrico de imagen, clínica y terapia para optimización de la rehabilitación cognitiva en DCA" tiene como finalidad contribuir al cuerpo de conocimiento no conocido de la teoría de rehabilitación en pacientes con DCA para la elaboración de terapias personalizadas basadas en la evidencia [2]. Este proyecto crea un marco de colaboración entre la Universidad Politécnica de Madrid, el Instituto de Investigación de Inteligencia Artificial del CSIC y el Hospital de Neurorehabilitación Institut Guttmann.

COGNITIO pretende el desarrollo de métodos y herramientas fundamentadas en la investigación en modelos de los mecanismos fisiopatológicos, algoritmos de procesamiento y análisis de neuroimagen para la clasificación de las lesiones estructurales, técnicas de aprendizaje automático para la adaptación en tiempo real de la terapia y modelos de conocimiento para personalizar y predecir la eficacia de dicha terapia.

Dentro de este proyecto de investigación se desarrolla el presente trabajo con el objetivo de proporcionar un módulo de informes que ofrezca información de interés al equipo médico, permitiendo la evaluación de la evolución de los pacientes y la efectividad de los tratamientos y ayudando así en la toma de decisiones y en el análisis de datos.

2. Materiales y métodos

El Institut Guttmann es un centro de referencia especializado en la rehabilitación integral (tanto psicológica como social) y el tratamiento

médico/quirúrgico de las personas afectadas por una lesión medular, un DCA o cualquier otra discapacidad física grave de origen neurológico. Una de las áreas de experiencia del Institut Guttmann es la rehabilitación cognitiva de pacientes con DCA. Al ingresar en el centro los pacientes realizan una batería de pruebas neuropsicológicas para evaluar sus funciones cognitivas. La batería utilizada por el Institut Guttmann consta de 27 test que cubren los principales dominios cognitivos. Tras esta evaluación, los pacientes realizan un tratamiento de rehabilitación cognitiva por medio de la plataforma de telerrehabilitación cognitiva Guttmann, NeuroPersonalTrainer® [3]. El tratamiento tiene una duración promedio de 3 a 5 meses, adecuado al nivel de afectación y evolución de cada paciente. Una vez finalizado el programa de rehabilitación, los pacientes son valorados nuevamente con la misma batería. La diferencia entre las valoraciones pre-tratamiento y post-tratamiento nos indican la evolución del paciente en las distintas funciones cognitivas.

Los informes a elaborar como parte de este trabajo de investigación consisten en un conjunto de valores, fundamentalmente de carácter estadístico, en torno a los pacientes, la evolución de sus funciones y los resultados obtenidos en los diversos test de evaluación, atendiendo a su agrupación respecto a distintos parámetros. Debido a la naturaleza de éstos, se opta por una solución basada en el Procesamiento Analítico en Línea (OLAP, por sus siglas en inglés), el cual consiste en la realización de consultas sobre estructuras multidimensionales para conseguir un acceso a los datos ágil, selectivo y desde distintas perspectivas [4]. Estas estructuras, conocidas como cubos OLAP, se construyen típicamente sobre esquemas en estrella, los cuales se componen de una tabla de hechos, con los datos para el análisis, y varias tablas de dimensiones. Las consultas sobre estos cubos se realizan utilizando el lenguaje MDX, basado en expresiones multidimensionales.

Para la implantación de este tipo de soluciones, se emplean herramientas de inteligencia de negocios. En este proyecto se utiliza la versión comunitaria de la suite Pentaho [5], la cual ofrece un conjunto de herramientas libres y de código abierto que permiten desarrollar el proceso completo desde la extracción de los datos hasta la elaboración de los informes.

2.1. Acondicionamiento de datos

Los datos originales se encuentran almacenados en una base de datos MySQL con InnoDB como motor de almacenamiento. Estos datos se acondicionan para formar las estructuras en estrella que sirven de base a los cubos OLAP. Para ello se desarrolla un procedimiento de extracción, transformación y carga (ETL). Éste debe realizarse con el menor impacto posible sobre la base de datos original y la base de datos de informes, de forma que se eviten bloqueos y tiempos de caída. Con este fin se emplea un conjunto de bases de datos intermedias y auxiliares entre las que se llevan a cabo todas las transformaciones y actualizaciones de datos [6]. La extracción de la base de datos origen se realiza mediante mysqldump, un programa cliente de MySQL que permite

hacer un volcado en un estado consistente sin provocar bloqueos. Para que la carga en la base de datos de informes se produzca de manera atómica, se almacenan las tablas de datos resultantes en una base de datos auxiliar y se realiza un renombramiento de todas las tablas desde ésta en una única transacción.

Todo el proceso de ETL se realiza empleando la herramienta Pentaho Data Integration (PDI), utilizando Spoon para el diseño y Kitchen para la ejecución del trabajo principal dentro de un script calendarizado, automatizando así el proceso.

2.2. Creación de cubos OLAP

A partir de los esquemas en estrella, se construyen los cubos OLAP empleados en el procesamiento analítico. Para su elaboración se emplea la herramienta Pentaho Schema Workbench (PSW), que permite crear de forma gráfica, probar y publicar los esquemas multidimensionales utilizados por Mondrian, el motor de procesamiento empleado por Pentaho.

Para este proyecto, se construye un esquema formado por tres cubos, el de pacientes, el de funciones y el de test. Cada uno de estos cubos está ligado a una tabla de hechos y se compone de un conjunto de dimensiones y medidas. Cada dimensión se estructura en una o más jerarquías compuestas de uno o más niveles y permite el filtrado y agrupación de los datos almacenados en la tabla de hechos. Algunas de estas dimensiones son comunes entre los cubos, por lo que se opta por emplear dimensiones compartidas. Las medidas determinan los cálculos que se realizan sobre los valores almacenados en la tabla de hechos. Además de las medidas sencillas, también se emplean miembros calculados, los cuales permiten utilizar expresiones MDX y se crean funciones definidas por el usuario, programadas en Java, para realizar algunas operaciones no disponibles.

2.3. Procesamiento analítico en línea

El procesamiento analítico se realiza mediante Mondrian, un motor de tipo ROLAP, cuya finalidad es ejecutar las consultas multidimensionales sobre la base de datos relacional.

Este motor forma parte de Pentaho Business Intelligence Server (Pentaho BI Server), la plataforma de inteligencia de negocios empleada, que proporciona un entorno para el desarrollo y ejecución de soluciones completas y ofrece un conjunto de herramientas para el análisis y la consulta de datos y la creación de informes y cuadros de mando [7].

2.4. Creación de informes

La generación de informes supone el objetivo principal del proceso. En este proyecto se desarrollan tanto cuadros de mando como informes tradicionales.

Los cuadros de mando están orientados a una consulta en línea, interactiva y visual de los datos. Permiten ofrecer a los usuarios distintos puntos de vista de la información, moviéndose a través de ella y seleccionando las condiciones de visualización. Estos se elaboran mediante las Community Tools (CTools) [8], un conjunto de

herramientas que funcionan sobre Pentaho, orientadas, pero no limitadas, a la creación de cuadros de mando. En particular se utiliza el editor Community Dashboard Editor (CDE), junto a las tecnologías sobre las que funciona: Community Data Access (CDA), para el acceso de datos; Community Chart Components (CCC), una librería de gráficos construida sobre Protovis; y Community Dashboard Framework (CDF), el marco para la creación de cuadros de mando utilizando HTML5, CSS y JavaScript.

Los informes, en cambio, son documentos tradicionales, que pueden ser guardados y consultados posteriormente. Se diseñan utilizando la herramienta Pentaho Report Designer (PRD), que utiliza la librería JFreeChart y permite exportar los resultados a los formatos PDF, HTML, XSL, RTF y CSV.

2.5. Desarrollo del portal web

Los usuarios deben acceder a los informes desarrollados de forma sencilla y abstraída de las herramientas empleadas. Para ello se desarrolla un portal web en el que se integran éstos utilizando HTML5 y CSS para el diseño, JavaScript en el lado del cliente y PHP en el lado del servidor. El desarrollo se realiza sobre un servidor web Apache utilizando el entorno proporcionado por XAMPP.

El acceso al portal debe estar limitado a los usuarios autorizados, por lo que se implementa un sistema de autenticación. Para facilitar su gestión se incorpora un módulo de administración accesible únicamente por los administradores y desde el que asignan a cada usuario un rol, un centro y un nivel de acceso.

2.6. Otros aspectos

- Control de caché: El uso de la caché permite agilizar las consultas, lo que resulta fundamental cuando se trabaja con grandes volúmenes de datos. Sin embargo, cuando éstos se actualizan, es necesario vaciarla, para acceder a información actualizada. Otra de las CTools, la herramienta Community Distributed Cache (CDC), permite implementar una caché distribuida sobre un nodo independiente.
- Acceso diferenciado a los datos: No todos los usuarios tienen un acceso completo a los datos, sino que algunos solo pueden acceder a los de su centro. Para ello se opta por crear dinámicamente usuarios en el servidor Pentaho y hacer uso de las variables de sesión para almacenar el centro y el nivel acceso. Estas variables se establecen haciendo uso de la herramienta Startup Rule Engine, que permite programar la ejecución de transformaciones y trabajos de PDI en el inicio de sesión.

3. Resultados

El resultado directo del proyecto es el módulo de informes desarrollado, que proporciona el acceso al conjunto de informes a través de un portal web y permite la calendarización del proceso para obtener datos actualizados. Se trata de una solución fácilmente ampliable y escalable, que posibilita la incorporación directa de usuarios y centros.

La arquitectura resultante (Figura 1) se compone de una capa de datos que incluye el proceso ETL que puebla la base de datos de informes, constituida por los esquemas en estrella que sirven de base para los tres cubos OLAP generados: Pacientes, Funciones y Test (Figura 2); una capa de aplicación, con los módulos de procesamiento analítico y administración; y una capa de presentación, formada por la interfaz web en la que se integran los cuadros de mando (Figura 3) y los informes (Figura 4). Además, existe un módulo de seguridad transversal a estas tres capas.

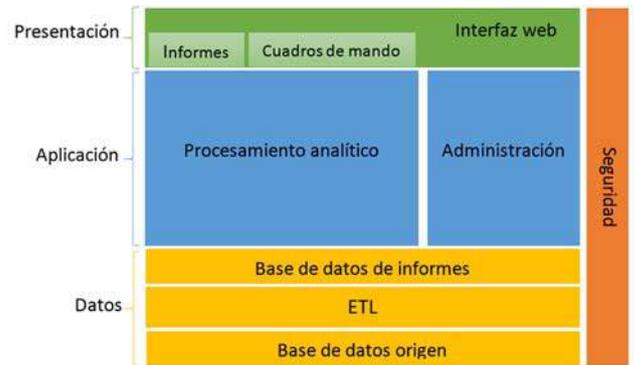


Figura 1. Arquitectura del módulo de informes

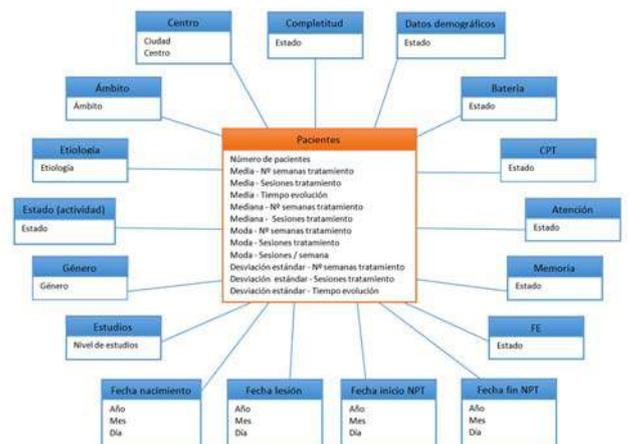


Figura 2. Diagrama de la estructura del cubo Pacientes



Figura 3. Uno de los cuadros de mando elaborados



Figura 4. Primera página de uno de los informes en formato PDF

El desarrollo de este módulo se ha realizado como parte del proyecto COGNITIO y en contacto con el Institut Guttmann, con la finalidad de implantarse para ser usado por los distintos centros participantes.

4. Conclusiones

El Procesamiento Analítico en Línea (OLAP), utilizado fundamentalmente en el campo de la inteligencia de negocios y con un enfoque empresarial, supone una solución poderosa y eficaz para la generación de informes y plenamente aplicable al ámbito clínico. El modelo multidimensional se adapta de manera muy adecuada al tipo de datos con el que se trabaja y a la visualización requerida, y las consultas necesarias se simplifican en gran medida gracias al lenguaje MDX.

Existen numerosas suites de inteligencia de negocios, pero la gran mayoría están dirigidas exclusivamente al sector empresarial y con elevados costes de sus licencias. La versión comunitaria de la suite Pentaho, si bien no cuenta con todas las herramientas de la versión dirigida a empresas, resulta bastante completa y permite el desarrollo íntegro de este tipo de soluciones. Se encuentra en continuo desarrollo, no está libre de bugs y la documentación resulta en ocasiones algo precaria, lo que conlleva algunas limitaciones, pero cuenta con una comunidad activa y con gran participación de los desarrolladores.

El rendimiento de los motores OLAP es bueno con grandes volúmenes de datos y diversos tipos de cálculos. Sin embargo, éste se ve notablemente mermado cuando se trabaja con funciones estadísticas que requieren realizar ordenaciones y comparaciones. Ante estos escenarios y otros de bajo rendimiento resulta fundamental el uso de la

memoria caché e incluso la utilización de tablas agregadas con valores precalculados.

Agradecimientos

Este trabajo de investigación ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (proyecto TIN2012-38450- C03, COGNITIO)

Referencias

- [1] World Health Organization. Neurological Disorders: Public Health Challenges. World Health Organization, 2006 (ISBN: 978-92-4-156336-9).
- [2] Luna,M.; Caballero,R.; Chausa,P.; Garcia-Molina,A.; Caceres,C.; Bernabeu,M.; Roig,T.; Tormos,J.M.; Gomez,E.J. Acquired brain injury cognitive dysfunctional profile based on neuropsychological knowledge and medical imaging studies. (Oral) Biomedical and Health Informatics (BHI), 2014 International Conference on IEEE-EMBS, 2014, 260-263.
- [3] J. Solana Sánchez, C. Cáceres Taladriz, A. García Molina, E. Opisso, T. Roig Rovira, J. M. Tormos Muñoz and E. J. Gómez Aguilera, Improving brain injury cognitive rehabilitation by personalized tele-rehabilitation services: Guttman Neuro Personal Trainer system (2014), in: IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics(143-145)
- [4] Rouse M. Definición de OLAP (procesamiento analítico en línea): Definición. *¿Hacia dónde van la analítica y el big data en las empresas?* <http://searchdatacenter.techtarget.com/es/definicion/Definicion-de-OLAP-procesamiento-analitico-en-linea> (Consultada: Septiembre 2015)
- [5] Página web de la versión comunitaria de la suite Pentaho. <http://community.pentaho.com/> (Consultada: Septiembre 2015).
- [6] Kimball R, Ross M. The Data Warehouse Toolkit: The Definitive Guide to Dimensional Modeling, 3rd Edition. John Wiley & Sons, 2013 (ISBN: 978-1-118-73228-1).
- [7] Bouman R, van Dongen J. Pentaho Solutions: Business Intelligence and Data Warehousing with Pentaho and MySQL. John Wiley & Sons, 2009 (ISBN: 978-0-470-48432-6)
- [8] Página web del conjunto de herramientas Community Tools (CTools). <http://www.webdetails.pt/ctools/> (Consultada: Septiembre 2005).

Determinación del estado metabólico de pacientes con diabetes gestacional mediante autómatas finitos

E.Caballero-Ruiz^{1,2}, G.García-Sáez^{1,2}, M.Rigla³, M. Villaplana³, B. Pons³, M. E. Hernando^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, España, {ecaballero, ggarcia, elena}@gbt.tfo.upm.es

² CIBER-BBN: Centro de investigación biomédica en red en bioingeniería, biomateriales y nanomedicina, Madrid, España

³ Servicio de endocrinología y nutrición, Hospital Parc Taulí de Sabadell, Barcelona, España, {mrigla, mvillaplana, bpons}@tauli.cat

Resumen

Los nuevos criterios de diagnóstico de la diabetes gestacional recomendados por la IADPSGC disminuyen los efectos adversos de la hiperglucemia tanto en la madre como en el recién nacido, pero su aplicación supondría un aumento de la prevalencia llegando a triplicar el número de casos actual. Para que los Servicios de Endocrinología y Nutrición puedan hacer frente a la carga que supondría este aumento de prevalencia es necesario emplear nuevos procesos asistenciales que incluyan el uso de las TICs.

Este trabajo presenta una herramienta de análisis automático de datos de monitorización que determina el estado metabólico de las pacientes con diabetes gestacional a partir de sus datos de glucemia, dieta y cetonuria. Su diseño se basa en dos autómatas finitos, uno para el análisis de la glucemia y de la dieta y el otro para el análisis de la cetonuria. La salida de ambos autómatas se combina para determinar el estado metabólico de la paciente a lo largo del tiempo. La herramienta se ha evaluado con datos retrospectivos de 25 pacientes pertenecientes al Hospital Parc Taulí de Sabadell comparando los 1288 estados metabólicos resultantes con los 47 ajustes de terapia realizados por el equipo médico. Se observó que el 91,49% de los cambios de tratamiento coincidieron con estados metabólicos deficientes determinados por la herramienta de análisis. La herramienta ayuda a diferenciar pacientes complejas que requieren una evaluación exhaustiva y un ajuste de terapia de las que tienen buen control metabólico y no necesitan ser evaluadas por el personal médico.

1. Introducción

Un reciente estudio realizado con una población de pacientes de la Comunidad de Madrid ha demostrado que la aplicación de los criterios de diagnóstico de la diabetes mellitus gestacional (DMG) del International Association of Diabetes and Pregnancy Study Group (IADPSGC) reduce las complicaciones asociadas a la DMG ahorrando 14.358€ por cada 100 mujeres evaluadas. Sin embargo, a pesar de los beneficios que estos criterios podrían aportar, su aplicación supondría un importante aumento de la prevalencia de la DMG, llegando a triplicarse en la población del estudio (10,6% vs. 35,5%) [1].

Las tecnologías de la información podrían contribuir a paliar la repercusión asistencial que la aplicación de los criterios de la IADPSGC ocasionaría en los actuales Servicios de Endocrinología y Nutrición, optimizando los recursos y promoviendo la autonomía tutelada de la

paciente. En DMG, la telemedicina ha demostrado ser eficaz en la reducción de visitas presenciales al permitir a las pacientes enviar al hospital sus datos de monitorización desde casa y ser llamadas a consulta sólo cuando su control metabólico sea inadecuado y requieran un cambio de tratamiento [2]. También aumenta el acceso a la atención especializada y puede mejorar el control glucémico de las pacientes además de reducir las complicaciones asociadas a la DMG [3], obteniendo, en cualquier caso, resultados de no inferioridad frente al cuidado tradicional [4]. No obstante, la reducción de las visitas presenciales no es suficiente para mitigar la carga de trabajo a la que se ven sometidos los especialistas, ya que estos siguen teniendo que evaluar los datos que envían las pacientes. De hecho, una de las críticas que han recibido estos sistemas es la de no ahorrarles de su trabajo cotidiano ni optimizar su quehacer diario [5]. Aunque aún no esté demostrado que la telemedicina optimiza los procesos asistenciales de la DMG, existen experiencias que demuestran su potencial para hacerlo. En el estudio de Kruger et al. [6] los terapeutas afirmaron que la transmisión de datos aumentó la eficiencia de los procesos clínicos, y en el estudio de Given et al. [7] observaron que la revisión telemática requiere la mitad de tiempo que la revisión presencial (4,6min vs. 11,7min). Sin embargo, para que la telemedicina sea eficaz en la reducción del tiempo empleado por los clínicos para evaluar a las pacientes, resulta indispensable dotarla de herramientas de ayuda a la decisión, que analicen automáticamente los datos de monitorización de las pacientes [8] y eviten a los especialistas la evaluación de los datos tal y como son descargados.

Las herramientas de análisis de datos en diabetes se han basado principalmente en redes bayesianas, modelos matemáticos, aprendizaje automático y razonamiento basado en casos y reglas [9]–[11]. Los autómatas finitos en diabetes se han utilizados para generar propuestas de dosis de insulina [12] o simular procesos biomoleculares [13].

En este trabajo, los autómatas se han utilizado para el reconocimiento de patrones hiperglucémicos que determinen un control metabólico deficiente. Presentamos una herramienta de análisis de datos para pacientes con diabetes gestacional para determinar de manera automática

su estado metabólico a partir de sus datos de glucemia, dieta y cetonuria.

2. Material y métodos

La herramienta de análisis de datos forma parte del sistema de telemedicina “Sinedie”, una plataforma de telecuidado para pacientes con diabetes gestacional. El objetivo de la herramienta es permitir que los clínicos tengan que revisar únicamente a las pacientes cuyo control metabólico sea deficiente para realizar los ajustes de terapia correspondientes, ahorrándoles el tiempo que dedicarían a revisar a las pacientes con buen control metabólico. Para ello, el número de falsos negativos detectados por la herramienta debería ser cero.

El diseño de la herramienta cumple las especificaciones contenidas en la guía clínica del Grupo Español de Diabetes y Embarazo [14] y contempla las indicaciones de los Servicios de Endocrinología y Nutrición del Hospital Parc Taulí de Sabadell y el Hospital Mutua de Terrassa. La herramienta se compone de dos autómatas, uno para determinar el estado glucémico de la paciente a partir de sus valores de glucemia y dieta; y el otro para determinar su estado cetónico a partir de sus valores de cetonuria. La salida de ambos autómatas se combina para determinar el estado metabólico de la paciente. Ambos autómatas se han implementado mediante máquinas de Moore, autómatas finitos deterministas [15] cuya salida depende únicamente del estado.

El modelo de autómatas finitos se ha elegido por su capacidad para el reconocimiento de patrones, almacenando en forma de estado la información de las entradas ya procesadas. De esta manera evitamos examinar los datos previamente analizados, ya que para evaluar el estado metabólico de las pacientes en un día concreto es necesario examinar de manera retrospectiva los datos de la semana previa. Además, el razonamiento seguido por el autómata es fácilmente explicable mediante el diagrama de estados, favoreciendo su comprensión por el equipo médico para fomentar la aceptabilidad de la herramienta. Todos los estados, tanto glucémicos como cetónicos por los que pasa la paciente se almacenan para que el personal clínico pueda observar qué medidas han ocasionado que la herramienta determine cada estado metabólico.

2.1. Determinación del estado glucémico

El estado glucémico de las pacientes se determina a partir de sus niveles de glucosa en 4 momentos principales del día: en ayunas (DNOpre) y después de cada comida principal (desayuno posprandial (DNOpos), comida posprandial (CDApos) y cena posprandial (CNApos). Las pacientes deben etiquetar las medidas de glucemia con el momento del día en el que fueron tomadas para poder identificar un estado metabólico deficiente en un momento del día determinado. Las medidas que no son etiquetadas por las pacientes son etiquetadas en el momento de la descarga de datos por un clasificador automático de glucemias [16].

A cada valor de glucemia expresado en mg/dl se le asigna un valor cualitativo de la siguiente manera:

- “Normal”
- “Alta”
- “Muy alta”

El valor “Bajo” no se considera porque la mayoría de las pacientes con DMG son tratadas únicamente con dieta y no suelen producirse hipoglucemias. Cada glucemia podrá estar asociada a una transgresión de dieta, indicando que la paciente no cumplió su tratamiento de dieta en la ingesta relacionada con esa medida.

Por lo tanto, el autómata de glucemia tiene tres entradas:

- Momento de realización de la medida de glucemia: “DNOpre”, “DNOpos”, “CDApos” o “CNApos”
- Valor cualitativo de la glucemia: “Normal”, “Alta” o “Muy alta”
- Transgresión: “Sí” o “No”

El autómata tiene un total de 24 estados, 1 inicial (estado “Normal”), 11 intermedios (estados “Alterados”) y 12 finales (estados “Muy alterados”).

Se mantiene un registro de las hiperglucemias procesadas por el autómata para gestionar la ventana de evaluación de una semana. Antes de procesar una nueva glucemia en el autómata, se actualiza el registro de hiperglucemias eliminando las que tengan más de una semana de antigüedad. Si el registro cambia, se recalcula el estado del autómata con las hiperglucemias registradas y se ejecuta la transición con la glucemia actual.

2.2. Determinación del estado cetónico

Las pacientes de DMG se miden la cetonuria una vez al día pudiendo adoptar dos valores: positiva o negativa. El autómata de cetonuria tiene un total de 7 estados, 1 inicial, 4 intermedios y 2 finales (estado “Positivo” y estado “Negativo”).

La gestión de la ventana de evaluación se realiza de la misma manera que en la determinación del estado glucémico. Se almacenan las cetonurias procesadas y se recalcula el estado cuando las cetonurias almacenadas tengan más de una semana de antigüedad.

2.3. Estado metabólico general

El estado metabólico general se calcula mediante la combinación del estado glucémico y el estado cetónico y se compone de tres características:

- Tipo estado glucémico: “Normal”, “Alterado” o “Alteración importante”
- Momento alterado: “DNO”, “CDA”, “CNA” o “NOC” (noche). Esta parte puede aparecer junto al tipo de estado glucémico “Alteración importante” cuando se haya detectado hiperglucemia repetida en una misma ingesta.
- Tipo estado cetónico: “CET” si se ha detectado un estado de cetonuria “Positivo”.

La presentación de los resultados del análisis muestra el estado metabólico de las pacientes en formato texto y utiliza un código de colores complementario para destacar de forma rápida las pacientes que requieren atención inmediata (Figura 1).

Nombre	Estado metabólico
PATIENT1	ALTERACION IMPORTANTE
PATIENT2	ALTERADO-CET
PATIENT3	ALTERADO
PATIENT4	NORMAL
PATIENT5	ALTERACION IMPORTANTE:DNO
PATIENT6	ALTERACION IMPORTANTE:NOC-CET

Figura 1. Visualización de los estados metabólicos determinados por la herramienta de análisis automático

Consideramos que una paciente tiene un “estado metabólico deficiente” (EMD) cuando bien su estado glucémico presenta una “Alteración importante” o su estado cetónico es “Positivo”. El sistema “Sinedie” genera recomendaciones automáticas de ajuste de terapia sobre las pacientes a las que se les detecta EMD.

2.4. Evaluación clínica: Estudio retrospectivo

La evaluación de la herramienta de análisis se ha realizado mediante un estudio retrospectivo con los datos de monitorización de 25 pacientes del Hospital Parc Tauli de Sabadell. Se recopiló los datos glucemia almacenados en la memoria de los glucómetros de las pacientes así como los libros de control donde apuntan sus datos de dieta y cetonuria. Los datos recopilados se corresponden con un total de 1523 días de monitorización y 151 visitas médicas semanales reflejadas en la historia clínica de las pacientes, de las cuales el médico hizo un cambio de terapia en 47 ocasiones. Los datos se introdujeron en la herramienta de análisis y se compararon los 1288 estados resultantes con los ajustes de terapia realizados en las visitas presenciales. Se evaluó la sensibilidad ($VP / (VP + FN)$) y especificidad ($VN / (VN + FP)$) del sistema considerando:

- VP (verdadero positivo): N° de visitas en las que el equipo médico ajustó la terapia, en cuya fecha el sistema determinó EMD.
- FP (falsos positivos): N° de visitas en las que el equipo médico no ajustó la terapia, en cuya fecha el sistema determinó EMD.
- VN (verdadero negativo): N° de visitas en las que el equipo médico no ajustó la terapia, en cuya fecha el sistema no determinó EMD.
- FN (falso negativo): N° de visitas en las que el equipo médico ajustó la terapia, en cuya fecha el sistema no determinó EMD.

3. Resultados

La Tabla 1 muestra la relación entre los ajustes de terapia realizados por el equipo médico y los EMDs detectados por la herramienta de análisis:

	Terapia ajustada	Terapia sin cambios
EMD	43 (VP)	25 (FP)
No EMD	4 (FN)	79 (VN)

Tabla 1. Tabla de contingencia sobre la detección de EMD de la herramienta de análisis y los ajustes de terapia del equipo médico.

Se ha obtenido una Especificidad del 75,96% y una Sensibilidad del 91,49%, produciéndose 4 falsos negativos. Uno de ellos fue debido a la detección de macrosomía fetal, que es un parámetro que la herramienta de análisis no contempla ya que no tiene en cuenta las variables ginecológicas. Dos de ellos se produjeron al observar un menor número de glucemias de los que nuestra especificación considera suficientes para determinar EMD. Tras consultar el caso con las endocrinólogas del Hospital de Sabadell se decidió mantener la especificación inicial. El último caso de los 4 mencionados se realizó por valores de cetonuria positiva de dos semanas anteriores a la visita. La herramienta determinó el EMD con anticipación, es decir en la fecha de la visita anterior a la visita en la que se realizó el cambio de dieta motivado por la presencia de cetonuria positiva.

4. Discusión

Consideramos que el comportamiento de la herramienta fue correcto en los 4 casos mencionados, por lo que podemos afirmar que no han existido falsos negativos, ya que cada situación que requirió un cambio de dieta debido al estado metabólico de la paciente fue detectado por la herramienta, estableciendo que la paciente tenía EMD.

En el 16,56% de las visitas, el sistema determinó EMD pero no se realizó ningún cambio de tratamiento. En el uso clínico del sistema, este hecho se traduciría en que el sistema destacaría al médico que la paciente tiene datos alterados y recomendaría la modificación de su terapia, aunque finalmente el médico puede considerar posponer la decisión a la espera de nuevos datos. Por lo tanto podemos decir que la herramienta ofrece seguridad suficiente para que sólo sea necesario que el equipo médico revise los datos de glucemia y cetonuria pertenecientes a las pacientes a las que se les asigna EMD, teniendo que revisar las variables ginecológicas de todas ellas.

5. Conclusiones

La herramienta de análisis automático de datos presentada contribuye a optimizar el tiempo que los clínicos dedican a la evaluación de pacientes con diabetes gestacional. El análisis automático de los datos de monitorización ayuda a

diferenciar a las pacientes complejas que requieren una evaluación más exhaustiva y posiblemente un ajuste de terapia de aquellas que tienen buen control metabólico y no necesitan ser evaluadas por el personal médico. La herramienta de análisis puede complementar los sistemas de telemedicina para que además de reducir desplazamientos innecesarios a las pacientes descarguen a los especialistas de su trabajo cotidiano.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto del Fondo de Investigaciones Sanitarias “SINEDIE”: Sistemas Inteligentes y de Educación para el control de la Diabetes diagnosticada en el Embarazo (PI10/01125). Agradecemos a las pacientes y a los profesionales del Hospital Mutua de Terrassa su colaboración en este estudio y a Roche por la provisión de los medidores de glucosa y los dispositivos Smart Pix.

Referencias

- [1] Duran A, Saenz S, Torrejon MJ, et al. Introduction of IADPSG Criteria for the Screening and Diagnosis of Gestational Diabetes Mellitus Results in Improved Pregnancy Outcomes at a Lower Cost in a Large Cohort of Pregnant Women: The St. Carlos Gestational Diabetes Study. *Diabetes Care*, vol. 37, no. 9, 2014, pp. 2442–2450 (ISSN: 0149-5992).
- [2] Carral F, Ayala MC, Fernández JJ, et al. Web-Based Telemedicine System Is Useful for Monitoring Glucose Control in Pregnant Women with Diabetes. *Diabetes Technology & Therapeutics*, vol. 17, no. 5, 2015, pp. 349–354 (ISSN: 1520-9156).
- [3] Dalfra MG, Nicolucci A, Lapolla A on behalf of the TISG. The effect of telemedicine on outcome and quality of life in pregnant women with diabetes. *Journal of Telemedicine and Telecare*, vol. 15, no. 5, 2009, pp. 238–242 (ISSN: 1357-633X).
- [4] Pérez-Ferre N, Galindo M, Fernández MD, et al. The Outcomes of Gestational Diabetes Mellitus after a Telecare Approach Are Not Inferior to Traditional Outpatient Clinic Visits. *International Journal of Endocrinology*, vol. 15, no. 8, 2010, pp. 1–6 (ISSN: 1687-8337).
- [5] Picón-César MJ and Grupo de Nuevas Tecnologías de la Sociedad Española de Diabetes (SED). Documento de posicionamiento sobre el uso de la telemedicina aplicada a la atención diabetológica. *Avances en Diabetología*, vol. 26, no. 03, 2010, pp. 414–418 (ISSN: 1134-3230).
- [6] Kruger DF, White K, Galpern A et al. Effect of Modem Transmission of Blood Glucose Data on telephone Consultation Time, Clinic Work Flow, and Patient Satisfaction for patients With Gestational Diabetes Mellitus. *Journal of the American Academy of Nurse Practitioners*, vol. 15, 2003, pp. 371–375 (ISSN: 1041-2972).
- [7] Given JE, O’Kane M, Bunting BP et al. Tele-Mum: a feasibility study for a randomized controlled trial to explore the potential of using telemedicine for the diabetes care of those with gestational diabetes. *Diabetic Medicine*, vol. 31, 2014, pp. 146–147 (ISSN: 0742-3071).
- [8] Klonoff DC and True MW. The missing element of telemedicine for diabetes: decision support software. *Journal of Diabetes Science and Technology*, vol. 3, no. 5, 2009, p. 996-1001 (ISSN: 1932-2968).
- [9] Hernando ME, Gómez EJ, Corcoy R and Pozo F. Evaluation of DIABNET, a decision support system for therapy planning in gestational diabetes. *Computers Methods and Programs in Biomedicine*, vol. 62, no. 3, 2000, pp. 235–248 (ISSN: 0169-2607).
- [10] Bellazzi R, Arcelloni M, Bensa G et al. Design, methods, and evaluation directions of a multi-access service for the management of diabetes mellitus patients. *Diabetes Technology & Therapeutics*, vol. 5, no. 4, 2003, pp. 621–629 (ISSN: 1520-9156).
- [11] Hidalgo JI, Maqueda E, Risco-Martín JL, et al. glUCModel: A monitoring and modeling system for chronic diseases applied to diabetes. *Journal of Biomedical Informatics*, vol. 48, 2014, pp. 183–192 (ISSN: 1532-0464).
- [12] Torkestani JA and Pisheh EG. A learning automata-based blood glucose regulation mechanism in type 2 diabetes. *Control Engineering Practice*, vol. 26, 20014, pp. 151–159 (ISSN: 0967-0661).
- [13] Selvakumar RR. An embedded automaton to monitor the glycolysis process in pancreatic β -cells. *Acta Biotheoretica*, vol. 63, no. 1, 2015, pp. 23–31 (ISSN: 0001-5342).
- [14] Grupo Español de Diabetes y Embarazo. Diabetes and pregnancy. Clinical guidelines 2006. *Avances en Diabetología* vol. 2, 2006, pp. 73–87 (ISSN: 1134-3230).
- [15] Hopcroft JE, Motwani R, and Ullman JD. Chapter 2- Finite Automata in Introduction to Automata Theory, Languages, and Computation. 2nd ed. Addison-Wesley, 2000, pp. 37–81 (ISBN: 0-201-44124-1).
- [16] Caballero-Ruiz E, García-Sáez G, Rigla M et al. Automatic blood glucose classification for gestational diabetes with feature selection Decision trees vs Neural networks. *Actas del XIII Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing (MEDICON'13)*, Sevilla, 2013, pp. 1370–1373. (ISBN: 978-3-319-00845-5).

Automatic Classification of Noonan and Cornelia de Lange Syndrome Patients Using Facial Keypoints

D. Sierra Ramos¹, A. Carcavilla Urqui³, A. Artés-Rodríguez^{1,2}

¹ Dep. Signal Theory and Communications, Universidad Carlos III de Madrid, Spain, {dsierra,aartes}@ing.uc3m.es

² Gregorio Marañón Health Research Institute

³ Servicio de Pediatría, Complejo Hospitalario de Toledo, atcarcavilla@gmail.com

Abstract

Many genetic diseases are characterized by some typical phenotypes that allow a visual identification of patients suffering it. This paper tackles the problem of automatic classification of Noonan and Cornelia de Lange syndrome patients from keypoints located in the face. The proposed system extracts angles and distances between some of these keypoints to explain as well as possible the “typical face” that characterize these syndromes. Finally, some classification algorithms are applied to the extracted data. The results obtained achieve the 100% of accuracy for some of the features, proving that it is possible to classify these kind of patients with only a few facial keypoints.

1. Introduction

Noonan [1] and Cornelia de Lange [2] syndrome patients are characterized by many genetic alterations, but one of the most appreciable is the “typical face”. Table 1 shows some of the most relevant facial features.

Noonan	Cornelia de Lange
Hypertelorism	Downturned eyebrows
Epicanthal folds	Short upturned nose
Ptosis	Short downturned lips
Wide forehead	Long philtrum
	Low-set ears

Table 1. Some facial characteristics of Noonan and Cornelia de Lange syndromes

Sometimes many of these facial features have a strong presence in the patient appearance and they provide enough information to determine, almost unambiguously, if the person suffers the disease or not. In other cases, the presence of these features cannot be appreciated so easily, and makes the diagnosis process ambiguous. The solution presented in this paper covers the development of a statistical tool able to classify patients by using these morphological information and some historical records of confirmed cases.

The proposed system is based on facial keypoints. A keypoint is a determined location on the space that represent some relevant area in a predefined coordinate system. In this case, the term facial makes reference to a 2D face image, where the points are represented. Keypoints have been combined to form angles and distances as features, but the high number of combinations defined has

made necessary the inclusion of a feature selection stage able to find the most valuable features to put into some classification algorithms. The method is evaluated using a real labelled dataset.

The document is structured as follows: in Section 2, the evaluated dataset is described. Feature extraction process is explained in Section 3. In Section 4 the selection of the most discriminative features is detailed while the Section 5 deals with the exhaustive searching of consistent sets of features for the classification task. Finally in Section 6 a conclusion of the work is presented.

2. Dataset

The dataset, previously described in [3] consists on a set of 56 faces from children between 8 and 12 years old, each of them having 41 facial keypoints manually labelled as in Figure 1. Owing to problems during the acquisition stage, four of these faces do not contain the totality of the keypoints, so they have been removed from the database leaving 52 subjects available for the evaluation.

As it is shown in Figure 1, the set of facial keypoints is divided in three regions corresponding to the left (red), right (blue) and middle (green) zones. Keypoints are properly identified by ordinal numbers that goes from 1 to 17 in the side regions, and from 1 to 7 in the middle.

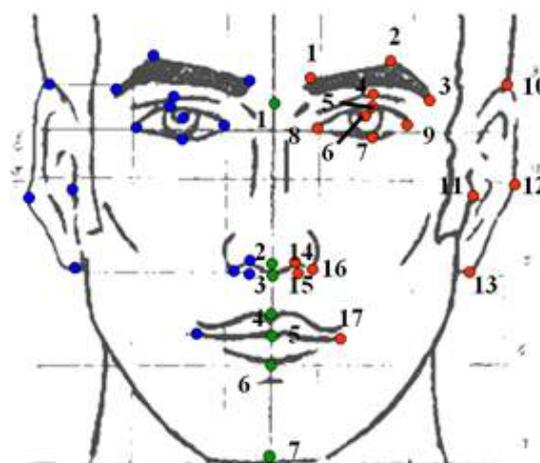


Figure 1. Keypoints distribution

Additionally a prefix has been added to the numbers in order to identify unequivocally each of the keypoints in the face. The prefix is a letter (L, R or S) that corresponds with left, right and middle regions respectively.

Apart from the 41 predefined keypoints, a set of 6 additional keypoints has been added to each sample subject in order to group some regions of the face that can be treated uniquely. Table 2 shows how the extra points have been calculated.

Description	Keypoint identifier	Mathematical definition
Nose	nose	$mean(S2, S3, L14, L15, L16, R14, R15, R16)$
Left ear	Lear	$mean(L10, L11, L12, L13)$
Right ear	Rear	$mean(R10, R11, R12, R13)$
Mouth	mouth	$mean(S4, S5, S6, L17, R17)$
Left eye	Leye	$mean(L4, L5, L6, L7, L8, L9)$
Right eye	Reye	$mean(R4, R5, R6, R7, R8, R9)$

Table 2. Extra grouping keypoints

The dataset contains three kind of users: Cornelia children, Noonan children and control children, all of them properly labelled. The total number of subjects per class is: 10 Cornelia, 18 Noonan and 24 control children.

Another important issue about the database is that each image has been taken with different resolution, so the absolute location of the keypoints is not comparable without some first pre-processing stage.

3. Feature definition

The simple location of the keypoints on the face do not provide enough information about the typical features that describes each syndrome. Instead of this naïve approach, the solution provided stands up for the definition of some useful relations between keypoints that set up the features for the subsequent classification task.

One problem to take into account when defining the features is the differences among the resolution of the images. This problem would make the features of the different subjects incomparable, so it is necessary to normalize the keypoints database or define features invariant to translation, rotation and scale transformations.

Initially, angles, slopes and distances between keypoints were defined as features, but after some tests the slopes were discarded. The reason is that the angles can provide more information than slopes and they do not require any normalization step to be calculated.

Concerning distances, they provide relevant information but also they are strongly affected by the scale and translation of the keypoints, what make them difficult to calculate and very prone to errors. Instead of absolute distances, relative distances has been defined.

In summary, angles and relative distances will be employed and they are detailed in the following subsections. Note that, as both angles and relative distances are invariant to rigid transformation, there is no need of any normalization step.

3.1. Angles

Given three points A, B and C where A is the vertex, the angle ABC can be calculated as

$$\theta = \cos^{-1} \left(\frac{\overline{AB} \overline{AC}}{\| \overline{AB} \| \| \overline{AC} \|} \right)$$

The angles employed to perform the evaluation has been calculated by the combination, in groups of 3, of all of the keypoints. It is important to realize that the faces can be considered symmetric so many of the angles have a strong correlation between their analogous angles on the other side of the face. Instead of calculate both symmetric angles, their mean has been acquired as the final feature. For example

$$angle: 1-2-3 = mean(angle: L1-L2-L3, angle: R1-R2-R3)$$

This reduces the variance of the estimators and the number of features to be evaluated. The total number of extracted angles is more than 7000.

3.2. Relative distances

A relative distance is defined as the quotient between two absolute distances on the same image.

Relative distances have not been calculated as the combination of all keypoints. Instead of that, a predefined set of useful clinically consistent relative distances is provided in Table 3. They will be used in the exhaustive searching step in order to evaluate potential sets of features used for classification.

Description	Mathematical definition
Eyes distance Head width	$\frac{dist(L8, R8)}{dist(L11, R11)}$
Nose width Head width	$\frac{dist(L16, R16)}{dist(L11, R11)}$
Philtrum height Head height	$\frac{dist(S3, S4)}{dist(S1, S7)}$
Lips thickness Mouth size	$\frac{dist(S4, S5)}{dist(S4, S6)}$

Table 3. Relative distances

4. Feature selection

Once the angle set has been extracted from the facial keypoints it is easy to realize that the amount of features is excessively high to put into a classification algorithm without incur in overfitting issues.

To solve this problem is necessary to apply some feature selection techniques and build a feature ranking that helps to select the most valuable ones. The following techniques have been employed

- *F-score*: The F-test is a univariate statistical test usually employed in feature selection. It is defined as the quotient between the “between-group variability” and the “within-group variability” of

the evaluated variable respect to the output of the system.

- *Random forest*: This technique consist on fitting a high number of decision trees with a bagging ensemble model to the data in order to obtain a ranking of features based on the entropy value calculated for each feature in each tree.
- *mRMR (with forward selection technique)*: The minimum redundancy – maximal relevance method employed is a quasi-multivariate feature selection technique that consist on the extraction of the most relevant (according to the F-test score) and the least redundant (according to the Pearson correlation coefficient) features. All this process has been applied with a forward selection searching technique. The selection is done from scratch until the desired number of relevant features is obtained.

Figure 2 shows the 21 most valuable features obtained after applying the methods. The scores has been calculated as the sum of the individual scores of each selection algorithm.

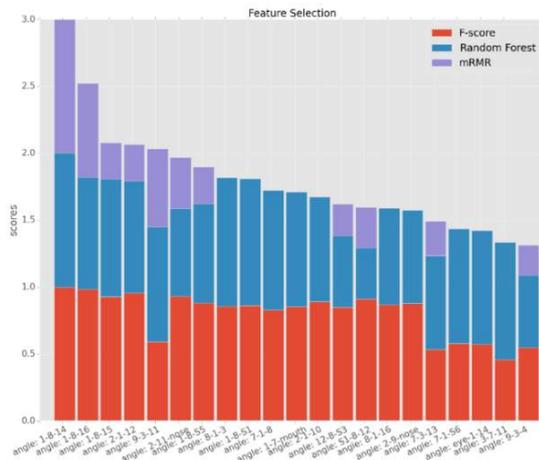


Figure 2. Feature selection results

5. Exhaustive feature selection

The set of features selected from the previous step gives us an important overview of which are the most relevant keypoints. But the number of features is still very high and many of them seem to be similar and correlated. This section tackles the problem of performing a finer selection that allows grouping the features in smaller sets and evaluate it employing some classification algorithms.

The different feature sets have been formed by all combinations, in groups of 1, 2, 3 and 4 elements, of the best 21 angles found in the previous step and all the relative distances calculated in the feature definition process. Additionally some other features similar to the extracted ones have been included in order to check the variations in the results.

In order to obtain a ranking of feature sets to select the most discriminate ones, all of them have been evaluated. Two well-known classification algorithms have been employed: logistic regression and linear SVM [4].

The expression for logistic regression is

$$\min_{w,c} \frac{1}{2} w^T w + C \sum_{i=1}^n \log(e^{-y_i(x_i^T w + c)} + 1)$$

The linear SVM has been employed with a One-vs-One scheme and the following primal optimization expression

$$\begin{aligned} \min_{w,b,\zeta} & \frac{1}{2} w^T w + C \sum_{i=1}^n \zeta_i \\ \text{s.t. } & y_i(w^T \phi(x_i) + b) \geq 1 - \zeta_i, \\ & \zeta_i \geq 0, i = 1, \dots, n \end{aligned}$$

where C is, in both cases, an adjustable term that corresponds with the L2 regularization expression.

In order to train the classifier, a Leave-One-Out scheme has been employed. The LOO is a cross-validation method that picks one sample for the test set and the rest for training. The operation is performed as many times as number of samples exists, each time selecting a different test sample. The final result is calculated by the average of the output value of all the estimators. By this way, the total variance can be reduced a lot and the overfitting problem is alleviated, even the bias increases.

The regularization term can be selected by fitting several estimators, each one with different values of C. The final value will be which achieves the best results. In this case, a set of values between 10⁻³ and 10³ has been employed.

After applying the classification method to all the feature sets, more than 40 of the feature combinations achieve the 100% of accuracy. Many of these sets have correlated features and may cause overfitting, so they have been discarded. The rest of potentially useful sets are shown in the Table 4.

Set 1	“angle: 1-8-S2” “angle: 9-3-11” “quot: L8-R8 L11-R11”
Set 2	“angle: 1-8-S3” “angle: 9-3-11” “quot: L8-R8 L11-R11”
Set 3	“angle: 1-8-nose” “angle: 9-3-11” “quot: L8-R8 L11-R11”

Table 4. Exhaustive feature searching results

The sets obtained are differentiated only by the first term, which is very similar and highly correlated within all of them.

Despite of the results, a final decision about the sets cannot be stated yet. First is necessary to corroborate the features meaning in a clinical sense

- **“angle 1-8-S2/S3/nose”**: These angles are strictly related with the position of the eye (point 8) and the eyebrow (point 1) in reference to the middle of the face. The angles are especially discriminative for Cornelia de Lange patients because it is able to explain two critical characteristics: the downturned eyebrows and the down-slanting palpebral fissures.

- **“angle: 9-3-11”:** Mainly this angle tries to explain the relative position of the ears (point 11) taking the final section of the eyebrow (point 3) and the eye (point 9) as reference. This angle is suitable to explain the low-set ears present in Noonan syndrome patients. The lower are the ears, the wider will be the angle.
- **“quot: L8-R8/L11-R11”:** This feature represents the quotient between the distance between eyes and the wide of the face, It explains the hypertelorism present in Noonan syndrome patients.

One of these feature sets can be selected as the best option for the classification task. At first sight, the Set 3 can be discarded due to the need to calculate the mean of several points of the nose. Concerning the other two feature sets, the selection is not decisive due to the high similarity between them. The Set 2 has been selected.

Figure 3 shows the scatter matrix plot of the data relative to the selected set.

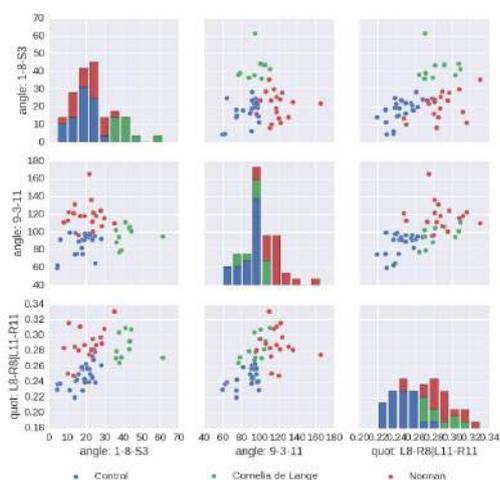


Figure 3. Scatter matrix plot of the winner set

As can be appreciated in the image, Cornelia de Lange patients are better separable by the first angle, while Noonan patients are by the other two features, what is coherent with the clinical analysis.

Figure 4 shows the accuracy obtained by the linear classifiers versus the regularization term.

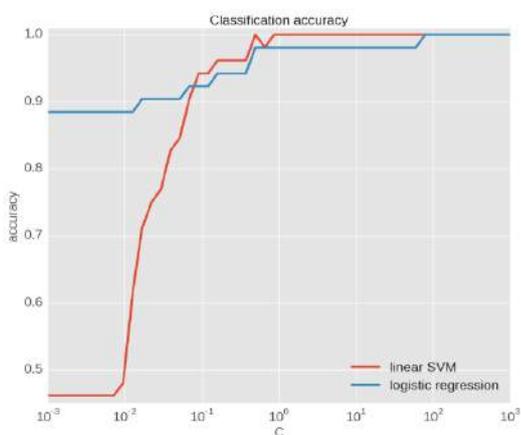


Figure 4. Classification accuracy

As can be seen, the accuracy increases with the value of C. The higher are the values of C, the more emphasis on the minimization of the misclassification rate is assigned, and the less regularization strength is present.

6. Conclusions

Many features can be extracted from the facial keypoints, but the angles and relative distances gives an important advantage against normalization issues. The high number of extracted features makes necessary to select some sets in order to alleviate the oversized problem.

Later, the selection have been performed taking into account the morphological information provided by the clinical analysis obtaining some sets that explains the “typical face” of the most Cornelia and Noonan syndrome patients.

Finally, the classification results can achieve the 100% of accuracy in many of the sets of features considered but we have to be very cautious about the overfitting problem. The use of linear classification algorithms and the Leave-One-Out scheme alleviate overfitting and constitute an easy and powerful method already implemented in the most important platforms used nowadays.

Resulting features explain some of the most important typical deformations present in the patients, mainly in eye and ears. On the one hand, the angle formed by eyebrows, eye and nose constitutes a good discriminative set for downturned eyes and eyebrows, typically present in Cornelia patients. On the other hand, angle formed by the ear and the eye, and the distance between lacrimal sacs seem to be suitable to explain the strong dependence of Noonan patients on low-set ears and hypertelorism. Definitely all features have clinical sense and together provide a powerful way to solve the stated classification problem.

7. Bibliografía

- [1] «Noonan syndrome,» March 2011. [En línea]. Available: <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/noonan-syndrome>. [Último acceso: 29 May 2015].
- [2] «Cornelia de Lange syndrome,» July 2012. [En línea]. Available: <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/cornelia-de-lange-syndrome>. [Último acceso: 29 May 2015].
- [3] C. Chavarrías y A. Sisniega, «Clasificación de niños con síndrome de Noonan mediante análisis morfométrico facial 2D: un estudio preliminar,» de *Libro de Resúmenes del CASEIB 2008: 137*, Valladolid, 2008.
- [4] T. Hastie et al., *The Elements of Statistical Learning*, New York, NY: Springer, 2009.
- [5] F. Pedregosa et al., «Scikit-learn: Machine Learning in Python,» *Journal of Machine Learning Research*, vol. 12, pp. 2825-2830, 2011.

Evaluación de un protocolo de *screening* de apnea del sueño basado en el análisis automático de la oximetría no supervisada

D. Álvarez González^{1,2}, G. C. Gutiérrez-Tobal¹, A. Crespo Sedano², C. A. Arroyo Domingo², F. Del Campo Matías^{1,2}, R. Hornero Sánchez¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, daniel.alvarez@gib.tel.uva.es

² Servicio de Neumología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España, fsas@tel.uva.es

Resumen

El síndrome de apnea-hipopnea del sueño (SAHS) es un trastorno respiratorio relacionado con el sueño de elevada prevalencia. Si no se diagnostica correctamente puede tener graves consecuencias en la calidad de vida y en la salud de los pacientes. En el presente estudio se ha diseñado y evaluado un nuevo protocolo de screening de pacientes basado en el procesado automático de la señal de saturación de oxígeno en sangre (SpO₂), registrada de forma no supervisada en el domicilio del paciente. La metodología propuesta se divide en 2 etapas complementarias: (i) etapa de clasificación, que emplea un modelo de regresión logística (LR) optimizado para detectar sujetos sin SAHS de tal forma que no se produzcan falsos negativos y (ii) etapa de estimación del índice de apnea hipopnea (IAH), que emplea una red neuronal perceptrón multicapa (MLP) entrenada para estimar el IAH y detectar a los pacientes SAHS positivo más severos sin que se produzcan falsos positivos. Para entrenar y validar la metodología se ha empleado una población de 299 pacientes consecutivos dividida en entrenamiento (50%) y test (50%). La metodología de screening de 2 fases propuesta evitaría la realización del 40.7% de las PSGs completas en el hospital, sin que se produzcan falsos negativos (valor predictivo negativo, NPV = 100%) ni falsos positivos (valor predictivo positivo, PPV = 100%).

1. Introducción

El síndrome de la apnea-hipopnea del sueño (SAHS) es una enfermedad crónica que se caracteriza por la aparición recurrente de eventos de apnea (cese total de la respiración) e hipopnea (reducción significativa del flujo aéreo) durante el sueño [1]. La repetición de estos eventos a lo largo de la noche ocasiona despertares transitorios que impiden que el sueño sea reparador [2], provocando graves consecuencias para la salud y calidad de vida de los pacientes [1]. Por este motivo, un diagnóstico temprano resulta fundamental para controlar su desarrollo y aplicar el tratamiento apropiado. Sin embargo, la prueba estándar de diagnóstico, la polisomnografía nocturna (PSG), presenta importantes limitaciones que dificultan tanto la rapidez para obtener un diagnóstico como el correspondiente tratamiento [3]. Por ello, la búsqueda de alternativas eficaces que permitan simplificar el diagnóstico y reducir las listas de espera se ha convertido en un reto de gran interés científico, médico y económico.

Las principales limitaciones de la PSG radican en su complejidad técnica. Durante la prueba se requiere la monitorización de hasta 32 señales fisiológicas de los

pacientes mientras duermen, lo que requiere costosos equipos de adquisición de señales y personal de supervisión [4]. Además, la PSG ha de realizarse en una unidad del sueño especializada, fuera del entorno de sueño habitual de los pacientes. Los problemas de adaptación a este entorno pueden condicionar la prueba, pudiendo hacer necesaria su repetición [3].

El enfoque planteado en este estudio se basa en la simplificación de la prueba diagnóstica mediante el análisis automático de una única señal: la saturación de oxígeno en sangre (SpO₂) procedente de la pulsioximetría nocturna. En los últimos años, numerosos estudios han demostrado que su empleo de manera individual puede resultar de gran utilidad en la ayuda al diagnóstico del SAHS [5, 6]. Además, se adquiere de manera sencilla mediante un pulsioxímetro colocado en el dedo del paciente. Esta sencillez ha derivado en la existencia de pequeños dispositivos portátiles comerciales que facilitan la realización de la prueba en el domicilio del paciente de forma no supervisada.

El presente estudio se plantea bajo la hipótesis de que la aplicación de técnicas de procesado avanzado permitirán maximizar el potencial diagnóstico y extraer toda la información útil de la señal de SpO₂. El objetivo principal del estudio consiste en reducir en un porcentaje significativo el número de PSGs completas necesarias sin que se produzcan errores diagnósticos (falsos positivos o falsos negativos). Para ello, se diseñará y evaluará un nuevo protocolo de *screening* de pacientes sospechosos de padecer SAHS basado en el análisis automático de la señal de SpO₂ obtenida en el domicilio del paciente. Este estudio se aborda desde la perspectiva del reconocimiento de patrones, que permite afrontar el diagnóstico automático mediante dos enfoques distintos [7]: la clasificación binaria de pacientes en "SAHS" o "no SAHS" y la regresión (estimación) del índice de apnea-hipopnea (IAH), que permite caracterizar la severidad de la enfermedad. Para ello, se implementarán las siguientes etapas: (i) clasificación binaria basada en un modelo multivariante de regresión logística (LR), optimizado para identificar a pacientes que no padecen SAHS con un valor predictivo negativo del 100% y (ii) estimación del IAH mediante una red neuronal perceptrón multicapa (MLP) de regresión multivariante, optimizada para detectar con toda seguridad pacientes de SAHS con un valor predictivo positivo del 100%.

2. Base de datos de estudios de sueño

La población bajo estudio estaba compuesta por 299 sujetos sospechosos de padecer SAHS derivados consecutivamente a la unidad del sueño del Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid entre el 10/06/2013 y el 27/03/2014. Cada sujeto fue informado y preguntado sobre su participación en el estudio, dando su consentimiento por escrito. La población se dividió en grupo de entrenamiento (149 primeros sujetos, 50%), empleado para encontrar la configuración óptima de la metodología de *screening* propuesta, y grupo de test (150 sujetos siguientes, 50%) empleado para validar el protocolo. La Tabla 1 muestra las características sociodemográficas y clínicas de la población bajo estudio.

Cada sujeto realizó una PSG completa en el hospital (polisomnógrafo E-Series, Compumedics). Un único especialista calculó el IAH derivado de la PSG para determinar el diagnóstico y severidad de la patología en base a los criterios de la *American Academy of Sleep Medicine*. Se diagnosticó SAHS a los pacientes con un IAH igual o superior a 10 eventos por hora (e/h) de sueño. Cada paciente realizó la prueba de oximetría domiciliaria no supervisada en la noche inmediatamente anterior o posterior (asignación aleatoria) a la PSG (Nonin WristOx2 3150, Nonin Medical Inc). La frecuencia de muestreo de la señal de SpO₂ fue de 1 Hz. Los registros de oximetría fueron exportados desde el dispositivo portátil a un ordenador para su posterior análisis *offline*.

3. Metodología

Nuestra propuesta plantea la realización de un *screening* automático en la consulta de Atención Primaria. En la Figura 1 se muestra un diagrama de bloques que ilustra el protocolo propuesto. Los métodos de procesado automático de la señal de SpO₂ comprenden tres etapas: (i) extracción de características, (ii) selección de características y (iii) reconocimiento de patrones.

3.1. Extracción de características

Se derivaron características de la señal de SpO₂ de diferente naturaleza para obtener la mayor cantidad posible de información útil y complementaria. El conjunto inicial de características estaba formado por las siguientes variables:

	Todos	Entrenamiento	Test
Sujetos (n)	299	149	150
Edad (años)	55.12 ± 13.33	55.27 ± 12.55	54.97 ± 14.10
Varones (n)	226 (75.6%)	117 (78.5%)	109 (72.7%)
IMC (kg/m ²)	29.48 ± 5.59	29.63 ± 5.23	29.34 ± 5.93
Registro (h)	7.41 ± 1.54	7.33 ± 1.41	7.48 ± 1.67
IAH (e/h)	41.55 ± 28.99	42.63 ± 28.16	40.48 ± 29.85

Tabla 1. Características socio-demográficas y clínicas

- Parámetros espectrales. Los recurrentes eventos de apnea provocan cambios en el espectro de los registros de SpO₂. Se aplicó una ventana de Hanning ($L = 512$), con solapamiento del 50% y DFTs de 1024 puntos para estimar la PSD mediante el método de Welch [8, 9]. El contenido espectral se parametrizó mediante 5 características: (i) potencia total (P_T), (ii) amplitud de pico (PA) en la banda [0.014 – 0.033 Hz], (iii) potencia relativa (P_R) en la banda [0.014 – 0.033 Hz], (iv) frecuencia mediana (FM) y (v) entropía espectral de Shannon (SE).
- Parámetros no lineales. Se aplicaron los siguientes métodos para caracterizar la naturaleza no lineal de los cambios sufridos por los registros de SpO₂ [8]: (i) entropía muestral ($SampEn$: $m=1$, $r=0.25*SD$), que cuantifica la irregularidad; (ii) medida de la tendencia central (CTM : $r=1$), que estima la variabilidad; y (iii) complejidad de Lempel-Ziv (LZC), que cuantifica la complejidad. Se fijó un tamaño de ventana móvil de $L=512$ muestras sin solapamiento, tomando el promedio a lo largo del tiempo como valor final de cada parámetro.

3.2. Selección de características

Se aplicó el método de selección bidireccional paso a paso hacia delante (FSFS) propuesto por Hosmer & Lemeshow [10]. Esta metodología de exploración da lugar a un subconjunto anidado de características, como resultado de ir incorporando secuencialmente las variables más relevantes y eliminando aquellas que aportan información redundante a un modelo LR en cada paso del algoritmo [11]. Las principales ventajas de los métodos secuenciales son la eficiencia computacional y la robustez frente al sobre-entrenamiento [11].

3.3. Reconocimiento de patrones

Finalmente, se desarrollaron métodos de reconocimiento de patrones desde dos enfoques diferentes: clasificación binaria (identificación de sujetos “SAHS negativo” y “SAHS positivo”) y regresión (estimación del IAH).

- Clasificación. Un clasificador LR binario permite estimar la probabilidad de que se produzca el suceso definido por una variable dependiente dicotómica en función de una o varias variables explicativas o independientes [12]. LR modela la función de densidad de probabilidad como una distribución de Bernuilli y emplea la razón de máxima verosimilitud para determinar los coeficientes del modelo de clasificación [12].

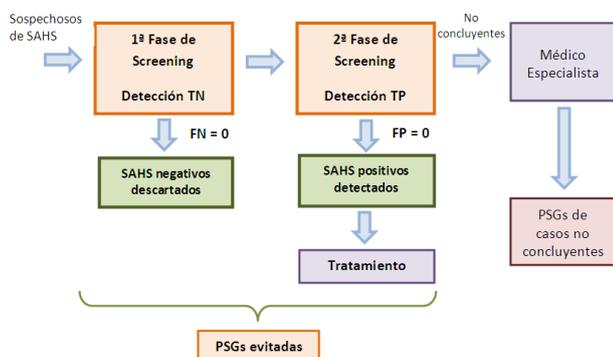


Figura 1. Diagrama de bloques del protocolo de screening

- Regresión. Los clasificadores binarios no proporcionan información sobre el grado de severidad, lo que resultaría especialmente útil en el grupo SAHS positivo, en el que la patología puede ser leve, moderada o severa en función del IAH. Las redes neuronales perceptrón multicapa (MLP) tienen un gran potencial para el modelado de problemas de regresión gracias a su arquitectura flexible [7]. El parámetro de regularización (α) y número de neuronas de la capa oculta (N_H) se optimizaron en términos del índice de correlación intraclase (ICC) entre el IAH estimado y el IAH de la PSG aplicando validación cruzada dejando uno fuera (loo-cv) en entrenamiento. Se aplicó una función lineal de activación y se empleó una única neurona de salida para modelar la variable objetivo (IAH).

3.4. Análisis estadístico

El análisis del rendimiento diagnóstico se realizó en base a las siguientes métricas: índice de correlación intraclase (ICC) verdaderos positivos (TP), verdaderos negativos (TN), falsos positivos (FP), falsos negativos (FN), sensibilidad (Se), especificidad (Sp), valor predictivo positivo (PPV), valor predictivo negativo (NPV), precisión (Ac) y área bajo la curva ROC (AROC).

4. Resultados

4.1. Entrenamiento

El algoritmo FSFS seleccionó 5 características: 2 lineales en el dominio de la frecuencia (PA y P_R) y 3 no lineales en el dominio del tiempo ($SampEn$, CTM y LZC). La Tabla 2 muestra el rendimiento diagnóstico del modelo LR construido con estas características empleando 2 umbrales: (i) par Se vs. Sp balanceado ($u_{opt} = 0.83$) y (ii) FN igual a cero ($u_{0FN} = 0.22$).

La red MLP se optimizó ($\alpha=1$ y $N_H=11$) y reentrenó en el conjunto de entrenamiento, alcanzando un ICC=0.800. La Figura 2 muestra la correlación entre el IAH real y el IAH estimado en entrenamiento. Es posible observar un sesgo, que ha sido estimado mediante ajuste por mínimos cuadrados ($bias=14.0219$) y eliminado a la salida. La Tabla 2 muestra el rendimiento diagnóstico de la red empleando 2 umbrales: (i) par Se vs. Sp balanceado ($u_{opt} = 10.36$ e/h) y (ii) FP igual a cero ($u_{0FP} = 30$ e/h).

4.2. Test

La Figura 3 muestra la distribución de datos a la salida del clasificador LR para la población de test ($N=150$). Se obtuvieron 4 TN con NPV=100.0%, lo que implica que el modelo clasifica sujetos sin SAHS con total certeza (Se: 100.0%; Sp: 18.2%; Ac: 88.0). La Figura 4 muestra la correlación entre el IAH real y el IAH estimado por la red MLP (ICC = 0.650) aplicada a los sujetos procedentes de la primera fase ($N=146$). Se obtuvieron 57 TP con PPV=100.0%, lo que implica que la red clasifica sujetos con SAHS con total certeza (Se: 44.5%; Sp: 100.0%; Ac: 51.4). Aplicando el protocolo de doble *screening* propuesto en el presente estudio sería posible evitar la realización de 61 PSGs (40.7%) completas en el hospital.

Modelo	TP	TN	FP	FN	Se	Sp	PPV	NPV	Ac	AROC
LR u_{opt}	110	18	2	19	85.3	90.0	98.2	48.7	85.9	0.94
LR u_{0FN}	129	2	18	0	100.0	10.0	87.8	100.0	87.9	0.94
MLP u_{opt}	109	19	1	20	84.5	95.0	99.1	48.7	85.9	0.93
MLP u_{0FP}	54	20	0	75	41.9	100.0	100.0	21.1	49.7	0.93

Tabla 2. Rendimiento diagnóstico individual del modelo LR y de la red MLP en el conjunto de entrenamiento ($N=149$)

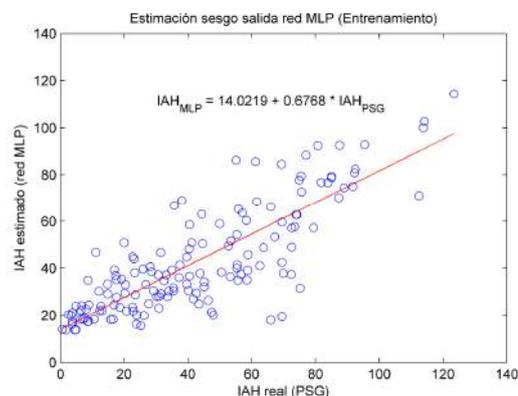


Figura 2. Estimación del sesgo a la salida de la red MLP

5. Discusión y conclusiones

En el presente estudio se ha evaluado el rendimiento de un nuevo protocolo de doble *screening* basado en el procesado automático del registro portátil de SpO_2 realizado en el domicilio del paciente para la ayuda al diagnóstico del SAHS. Para ello, se ha diseñado y validado una metodología de despistaje compuesta por 2 fases complementarias: (i) clasificador LR, entrenado para detectar sujetos sin SAHS sin que se produzcan falsos negativos (FN=0, NPV=100.0%) y (ii) red neuronal MLP de regresión, entrenada para detectar la patología sin que se produzcan falsos positivos (FP=0, PPV=100.0%). Los umbrales conservadores determinados en el conjunto de entrenamiento mantuvieron la misma eficacia en el conjunto de test, permitiendo detectar 61 casos (4 SAHS negativo y 57 SAHS positivo) en los que sería posible evitar la realización de una PSG completa.

Los resultados obtenidos concuerdan con los alcanzados en estudios previos que evalúan diferentes metodologías de *screening* de SAHS en múltiples contextos. En el estudio desarrollado por Gurubhagavatula *et al* se evaluó una estrategia de *screening* de SAHS severo ($IAH \geq 30$) en pacientes hipertensos basada en la combinación de parámetros clínicos y el IAH derivado de la poligrafía simplificada no supervisada en el domicilio [13]. Esta metodología alcanzó valores de Se variando entre 62.9% y 94.2%, Sp entre 68.9% y 84.0% y NPV entre 88.1% y 98.5%, en el grupo de validación. En un estudio reciente desarrollado por Torres *et al* se combinaron estadísticos derivados de la monitorización ambulatoria de la presión sanguínea, variables antropométricas, sociodemográficas y biológicas mediante un modelo LR para discriminar pacientes con SAHS moderado a severo ($IAH \geq 15$) en pacientes con hipertensión [14]. Esta metodología alcanzó un AROC de 0.80 en entrenamiento y un par Se vs. Sp de 100.0% y 66.7% en el grupo de validación, respectivamente. Crowley *et al* evaluaron la capacidad

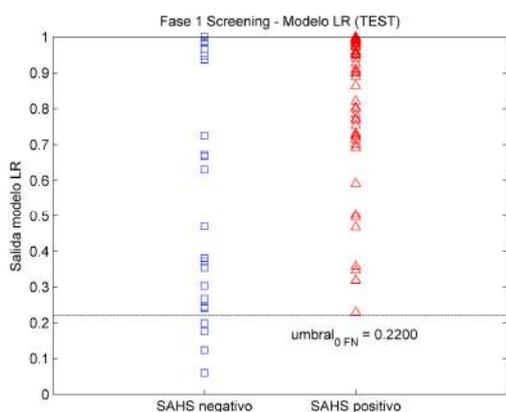


Figura 3. Distribución de valores a la salida del modelo LR de clasificación aplicado sobre la población de test

diagnóstica de la señal de flujo aéreo de sonda de presión registrada en el domicilio mediante el dispositivo portátil *ApneaLink* [15]. El IAH estimado por el dispositivo alcanzó un par Se vs. Sp de 81% vs. 77% y 67% vs. 91% para puntos de corte de IAH = 5 y 15, respectivamente.

Es necesario tener presentes varias limitaciones. Es importante destacar que la PSG de referencia se realizó en una noche diferente a la prueba domiciliaria, con lo que la variabilidad entre noches del IAH podría influir en los resultados. Además, el número de sujetos SAHS negativo es bastante reducido, por lo que una muestra más balanceada proporcionaría resultados más generalizables.

Los resultados sugieren que los dispositivos de pulsioximetría portátiles podrían ser una herramienta eficaz y útil para implementar nuevos protocolos de *screening* de SAHS. Complementariamente, los métodos de reconocimiento automático de patrones propuestos permiten maximizar la capacidad diagnóstica de los registros de SpO₂ portátiles no supervisados.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el proyecto 265/2012 de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR) y por el proyecto VA059U13 de la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León.

Referencias

- [1] Flemons WW, Littner MR, Rowley JA, Gay P, Mc Andersonc W, Hudge DW, McEvoy D, Loube D. Home diagnosis of sleep apnea: a systematic review of the literature. *Chest*, vol 124, 2003, pp 1543-79
- [2] Fernández I, Heili S, Peces-Barba G. Síndrome de apnea obstructiva del sueño. *Patología Respiratoria. Manual de actuación*. Ed. Ergon, 2004
- [3] Whitelaw WA, Brant RF, Flemons WW. Clinical usefulness of home oximetry compared with polysomnography for assessment of sleep apnea. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol 171, 2005, pp 188-93
- [4] Iber C, Ancoli-Israel S, Chesson AL, Quan SF, for the American Academy of Sleep Medicine. The AASM Manual for the scoring of sleep and associated events. Rules, terminology and technical specifications, 1ST Ed., American Academy of Sleep Medicine, 2007

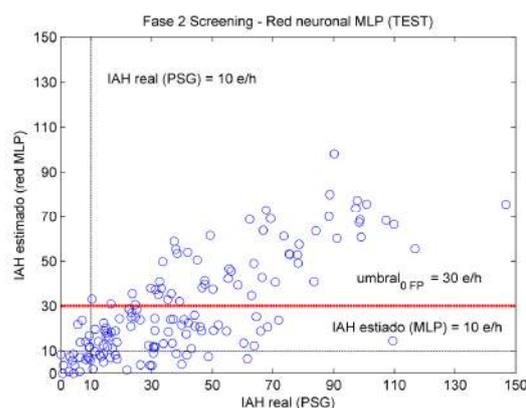


Figura 4. Distribución de valores a la salida de la red neuronal MLP de regresión en la población de test

- [5] Alvarez D, Hornero R, Marcos JV, Wessel N, Penzel T, Glos M, Del Campo F. Assessment of feature selection and classification approaches to enhance information from overnight oximetry in the context of sleep apnea diagnosis. *Int. J. Neural Syst.*, vol 23, 2013, pp 1-18
- [6] Gutiérrez-Tobal GC, Álvarez D, Marcos JV, Del Campo F, Hornero R. Pattern recognition in airflow recordings to assist in the sleep apnoea-hypopnoea syndrome diagnosis. *Medical & Biological Engineering & Computing*, vol 51, 2013, pp 1367-80
- [7] Bishop CM. *Neural networks for pattern recognition*. Oxford University Press, 1995
- [8] Álvarez D, Hornero R, Marcos JV, Del Campo F. Multivariate analysis of blood oxygen saturation recordings in obstructive sleep apnea diagnosis. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol 57, 2010, pp 2816-24
- [9] Zamarrón C, Gude F, Barcala J, Rodríguez JR, Romero PV. Utility of oxygen saturation and heart rate spectral analysis obtained from pulse oximetric recordings in the diagnosis of sleep apnea syndrome. *Chest*, vol 123, 2003, pp 1567-76
- [10] Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied Logistic Regression*. John Wiley & Sons, 1989
- [11] Guyon I, Elisseeff A. An introduction to variable and feature selection. *Journal of Machine Learning Research*, vol 3, 2003, pp 1157-82
- [12] Jobson JD. *Applied multivariate data analysis. Volume II: Categorical and multivariate methods*. Springer-Verlag, 1991
- [13] Gurubhagavatula I, Fields BG, Morales CR, Hurley S, Pien GW, et al. Screening for severe obstructive sleep apnea syndrome in hypertensive outpatients. *Journal of Clinical Hypertension*, vol 25, 2013, pp 279-88
- [14] Torres G, Sánchez de la Torre M, Martínez-Alonso M, Gómez S, Sacristán O, Cabau J, Berbé F. Use of ambulatory home pressure monitoring for the screening of obstructive sleep apnea. *Journal of Clinical Hypertension*, 2015, *In press*
- [15] Crowley KE, Rajaratnam SMW, Shea SA, Epstein LJ, Czeisler CA, Lockley SW. Evaluation of a single-channel nasal pressure device to assess obstructive sleep apnea risk in laboratory and home environments. *J Clin Sleep Med*, vol 9, 2013, pp 109-16

Detección y clasificación de microcalcificaciones mediante redes neuronales convolucionales

J. A. Manzano Lizcano¹, C. Sánchez Ávila²

^{1,2} Departamento de Matemática Aplicada a las Tecnologías de la Información y las Comunicaciones

ETSI Telecomunicación. Universidad Politécnica de Madrid

joseavelino.manzano.lizcano@alumnos.upm.es¹, carmen.sanchez.avila@upm.es²

Resumen

Las redes neuronales convolucionales (CNN) están demostrando una sorprendente capacidad para reconocimiento de imágenes en tareas de clasificación con grandes conjuntos de entrenamiento y múltiples clases de salida, en algunos casos comparable a la capacidad humana. En el presente trabajo se estudia un sistema para la clasificación completa de una imagen mamográfica, en benigna o maligna, a partir de las microcalcificaciones presentes en una zona segmentada de 256 x 256 píxeles. El sistema es una red neuronal convolucional de tres niveles que se entrena con 100 imágenes de casos reales extraídos de la base de datos DDSM. Los resultados indican la aplicabilidad de las CNN, bajo el enfoque del aprendizaje profundo mediante sistemas de múltiples niveles jerárquicos de complejidad creciente, a problemas de reconocimiento de imágenes médicas de elevada dificultad.

1. Motivación

Aunque la incidencia del cáncer de mama varía dependiendo del país, en la mayor parte del mundo este tipo de cáncer se ha convertido en la segunda causa de mortalidad para la población femenina, después de las enfermedades coronarias. En Estados Unidos este tipo de cáncer se sitúa como la primera causa de mortalidad en la población femenina de menos de 85 años. En España la incidencia es intermedia, observándose una tendencia decreciente a partir de 2001 en las mujeres mayores de 45 años, pero un aumento preocupante en las mujeres jóvenes [1].

Las calcificaciones son pequeñas estructuras de calcio que se muestran más brillantes que el tejido circundante. La existencia de estos pequeños depósitos no palpables de calcio en la mama constituye en muchas ocasiones la primera evidencia de existencia de cáncer de mama. En las mamografías digitales las calcificaciones más pequeñas son de un tamaño entre 0,1 y 0,2 milímetros y las denominaremos en lo sucesivo microcalcificaciones. Aparecen aisladas o formando parte de un grupo. Estos acúmulos están formados habitualmente por cinco o más microcalcificaciones en un volumen de 1 cm³, cada una menor de 0,5 mm y separadas menos de 5 mm del resto. Su detección es difícil por el nivel de ruido existente en las imágenes. Mediante la localización en la imagen mamográfica de dichas microcalcificaciones y su análisis posterior es posible ayudar al especialista a detectar el cáncer en sus etapas previas, antes de que se produzca la

extensión del mismo a otras partes del cuerpo, y de esta forma conseguir eliminar el tumor a tiempo.

El empleo de sistemas de reconocimiento de imágenes en el ámbito médico ha sido utilizado desde hace décadas desde la disponibilidad de los primeros ordenadores con capacidad de procesado de imágenes, pero es de forma relativamente reciente [2] cuando se están abriendo grandes posibilidades gracias a las nuevas técnicas disponibles. Si nos atenemos al tipo de imágenes médicas objeto de nuestro trabajo, la primera propuesta de un sistema específico para análisis de imágenes mamográficas mediante ordenador es la de Wingsberg [3]. Desde entonces se han desarrollado numerosos sistemas para la detección y segmentación de microcalcificaciones, conforme la potencia de cálculo y las herramientas matemáticas han ido progresando.

En general todos los sistemas de reconocimiento constan de tres etapas diferenciadas: una primera de detección de las microcalcificaciones presentes en la imagen mamográfica en la que se determinan los contornos de las mismas. Esto permite segmentar zonas de las imágenes en mamografía digitalizada gracias a la detección de los bordes de aquellos objetos presentes en la radiografía de la mama que resulten de interés a los radiólogos para proceder a su análisis posterior. Una segunda fase consiste en la extracción de las características de la imagen ya segmentada. Para cada región de interés se extrae un conjunto de características de las microcalcificaciones presentes que pueden ser morfológicas como las mencionadas anteriormente o basadas en texturas, bordes o descriptores de forma. La tercera fase es la de clasificación de las microcalcificaciones detectadas en benignas o malignas.

Nuestra propuesta es estudiar un diseño de sistema basado en el concepto de aprendizaje profundo, donde se integre una estructura de la red en forma de niveles jerárquicos. El sistema integra la fase de detección y clasificación en una estructura completa.

2. Aprendizaje profundo

No existe consenso en una definición estricta del término aprendizaje profundo (Deep Learning), pero puede caracterizarse como una denominación genérica de toda serie de algoritmos de aprendizaje que tengan en común una estructura en forma de niveles o capas no lineales en

las que cada nivel utilice como entrada la salida del nivel inferior. Además se caracterizaría porque la metodología de los mismos tenga un fundamento en el aprendizaje no supervisado de patrones de los datos de entrada, de forma que estos patrones se estructuren también en niveles de abstracción creciente formando a su vez una jerarquía. Es decir, la estructura de capas corresponda precisamente a diferentes niveles de abstracción, formando una jerarquía de conceptos.

El enfoque de aprendizaje profundo comienza a demostrar un éxito notable superando a sistemas basados en un único nivel gracias a dos características importantes: la naturaleza generativa del modelo, que típicamente requiere de una capa superior que es la que realiza la tarea discriminativa, y un entrenamiento no supervisado previo que haga uso efectivo de grandes cantidades de datos no categorizados para alimentar las capas generativas y extraer patrones o estructuras en las entradas [4].

El modelo que estudiamos para afrontar el problema de la difícil categorización entre microcalcificaciones benignas y malignas se basa en aprendizaje profundo mediante redes neuronales convolucionales (*Convolutional Neural Networks*, CNN en lo sucesivo). Las CNN fueron introducidas por LeCun [5] y desde sus primeras implementaciones ya demostraron un excelente comportamiento en tareas de reconocimiento de imágenes tales como escritura a mano o detección de rostros. Hay un interés renovado en las CNN debido fundamentalmente a dos motivos prácticos, la disponibilidad de grandes bases de datos de imágenes categorizadas para entrenamiento y la disponibilidad de implementaciones en GPUs mucho más eficientes computacionalmente.

La red convolucional es un tipo de red neuronal donde las neuronas individuales están conectadas a zonas denominadas campos receptivos que pueden solaparse. El solapamiento del campo receptivo asegura una mayor invariancia frente a traslaciones de la imagen original la arquitectura de niveles bidimensionales permite que se adapten bien al problema que nos ocupa de reconocimiento de imágenes. Al igual que el *neocognitrón*, hay una alternancia de niveles, que en el caso de las CNN es de capas convolucionales y capas de reducción de muestreo que incluyen cierta no linealidad. La capa final es generalmente un clasificador tipo *perceptrón* o máquina de vectores soporte.

Comparadas con el enfoque tradicional, presentan la característica típica del aprendizaje profundo en el que la red es responsable de aprender en su fase de entrenamiento los *kernels* o filtros convolucionales, que determinan los descriptores a los que van a ser sensibles cada capa de la red. Esto tiene la ventaja de no ser dependiente de un conocimiento *a priori* de las características de las imágenes a analizar y también la inexistencia de una fase de complejo diseño de descriptores como ocurre en otros modelos discriminativos. El primer modelo de éxito de las CNN fue LeNet-5 propuesto por LeCun en [5], que realiza el aprendizaje mediante retropropagación en una estructura convolucional guiada por el principio de diseño

denominado Red de Transformación de Grafos, que optimiza la red de forma global.

Un ejemplo genérico de red neuronal convolucional se estructura pues con la alternancia de niveles de la Figura 1:

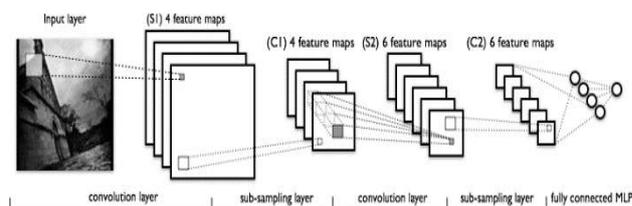


Figura 1. Arquitectura de red neuronal convolucional

La capa convolucional de la red, en lugar de contar con un *kernel* dado *a priori*, aprende varios de ellos mediante el algoritmo de retropropagación del perceptrón. Los *kernels* se replican en todas las neuronas del campo receptivo, lo que permite una gran ganancia en tiempo de entrenamiento y a la vez asegura invariancia frente a traslaciones. La salida de la neurona N_j se define como una matriz, resultado de la combinación lineal de las salidas de las neuronas N_i de la capa anterior de la forma

$$N_j = b_j + \sum K_{ij} * N_i,$$

donde b_i son los parámetros de *bias* fijados y K el *kernel* a definir.

En la fase de inferencia, la respuesta de nuevas imágenes ante la convolución con los *kernels* de la primera capa permite obtener características sencillas como líneas, bordes o esquinas, y más complejas conforme nos desplazamos en niveles más profundos.

La siguiente capa es la de reducción de muestreo, donde utilizamos la estrategia de supresión para quedarnos con el máximo y tomarlo como activación de la salida hacia la siguiente capa convolucional. Otra posible estrategia de reducción es calcular la media sobre una determinada región de la imagen de la capa anterior. Sin embargo la evidencia biológica, confirmada por la experimentación, hace que la función de pasar el máximo a la siguiente etapa se confirma más eficaz para reducir la dimensión de salida y simultáneamente asegurar invariancia de escala [6]. Por último, en la capa superior se implemente por lo general un perceptrón multicapa totalmente conectado a la anterior de reducción de muestreo. De cara a mejorar la rapidez de procesamiento, en lugar de las habituales funciones de activación *tanh*, logística, *softmax* o *softplus*, se suele utilizar la de rectificador lineal o función *relu* $f(x) = \max(0, x)$.

3. Diseño de red neuronal convolucional

En comparación con otras alternativas basadas en los conceptos de aprendizaje profundo las CNN están ofreciendo resultados superiores en tareas de reconocimiento de imágenes en general y en cuanto al uso en imágenes médicas, comienzan a ser utilizadas recientemente por ejemplo en segmentación de la

estructura ósea en radiografía [7] dado el mencionado buen rendimiento que están mostrando en varios tipos de aprendizaje supervisado.

En nuestro trabajo utilizamos una de las bases de datos más completas de imágenes mamográficas, la DDSM de la Universidad de South Florida¹. Entre las disponibles en internet es la más completa y variada, contando actualmente con 10480 imágenes correspondientes a 2620 casos, con las tomas cráneo-caudal (CC) y medio-lateral-oblicua (MLO) de ambas mamas. Su composición trata de representar una casuística bastante completa de un programa de cribado. El esquema experimental que proponemos para analizar las capacidades de las CNN en nuestro trabajo consiste en procesar una base de datos de imágenes que contenga regiones de tamaño prefijado con microcalcificaciones previamente identificadas por radiólogos expertos como benignas o malignas. El tamaño de las imágenes que contemplamos es de 256 x 256 píxeles, pues permite englobar una región lo suficientemente grande de las mamografías presentes en la DDSM para que en el caso de aparecer agrupaciones de microcalcifi-caciones puedan aparecer completamente todas ellas en la imagen segmentada. La segmentación de estas zonas de interés de 256 x 256 en cada mamografía se hace de forma manual por la cual hemos recopilado 200 imágenes de casos con microcalcificaciones, 100 con patología benigna y 100 con patología maligna. El criterio de selección que evite sesgos en nuestra muestra ha sido recoger todos los casos escaneados con el modelo de digitalizador Lumisys que tenían microcalcificaciones.

3.1. Implementación

El desarrollo se efectúa en Matlab R2013b, con el paquete Matconvnet que forma parte de la conocida librería de algoritmos de procesamiento de imágenes VIfeat. Es de destacar que el disponer de esta implementación válida para GPU, con soporte para CUDA de Nvidia supone un elemento importante en la viabilidad de tiempo de procesamiento en la fase de aprendizaje. El equipo consta de una CPU Core i7 3,4 Ghz y la GPU es la Nvidia GeForce GTX860M con 640 núcleos.

Matconvnet tiene escritas en C las funciones de convolución para optimizar velocidad, el resto es código Matlab nativo de forma que se puede definir la red en dicho lenguaje y acceder a todas las estructuras de datos, lo que facilita la interoperabilidad con desarrollos de preprocesado de imágenes anteriores.

3.2. Capas de la red

El problema se plantea en cómo definir la red convolucional, sobre todo los parámetros de número de niveles y tamaño/número de los filtros. No existe una metodología claramente definida, solo unas líneas generales. En nuestra investigación hemos comprobado que conviene considerar una serie de factores tales como:

- Mantener un número reducido de capas para asegurar la estabilidad, lo que se puede comprobar por la convergencia en la fase de aprendizaje.

- El tamaño de los filtros de cada capa ha de ser representativo de las estructuras que debe aprender. El ejemplo es claro en la primera capa, donde la red aprende las estructuras más simples, del tipo esquinas o líneas rectas. Si las microcalcificaciones tal como observamos en el módulo de preprocesado se encuentran en la zona de tamaño superior a 6 píxeles de radio, este puede ser un punto de partida para situar la búsqueda.

- El número de filtros que aprenden estructuras intermedias ha de ser lo suficientemente amplio, acorde a la esperada complejidad de las mismas.

La primera capa debe de tener un campo pequeño para detectar las estructuras más básicas de la imagen, que realmente son de tamaño menor que las propias microcalcificaciones. Estamos hablando de bordes, esquinas y contornos, por lo que como vimos en la etapa de preprocesado, el radio de 6 píxeles ya nos indica que el tamaño de los campos receptivos debe ser menor que 12 píxeles. En las simulaciones realizadas obtuvimos un tamaño óptimo de 6 píxeles. Aumentarlo supondría la necesidad de aprender demasiados filtros para la capa siguiente, reducirlo daría lugar a estructuras demasiado simples que provocarían que fuese necesario añadir un nuevo nivel jerárquico a la red. Con este tamaño el número de filtros que aprendemos lo fijamos en un mínimo de 64, suficientes para caracterizar estructuras como bordes y ángulos, ya que no se esperan otras como líneas de espesor de 1 ó 2 píxeles que fueron eliminadas en la fase de preprocesado.

Manteniendo la profundidad en tres capas, el parámetro que nos queda libre es el de la capa intermedia, ya que la capa final queda determinada para que el campo receptivo de ella sea la imagen completa. De hecho en nuestro modelo, en la capa superior se implemente un perceptrón multicapa totalmente conectado a la anterior de reducción de muestreo. La decisión de no explorar redes de cuatro niveles ha sido debida a limitaciones de memoria en la GPU, ya que cualquier modelo de cuatro capas sobrepasaba los 2Gb disponibles.

3.3. Entrenamiento y validación

Hemos explorado varias arquitecturas de red con un enfoque heurístico, explorando diversas combinaciones mediante el criterio de una convergencia en menos de 50 iteraciones sobre el conjunto de entrenamiento, llegando a una estructura óptima:

Capa 1: 64 filtros de tamaño 6 x 6

Capa 2: 128 filtros de tamaño 10 x 10

Capa 3: 512 filtros de tamaño 24 x 24

Pese a que encontramos esta estructura que ajustaba bien al conjunto de entrenamiento, al enfrentarla al conjunto de prueba la generalización era pobre. Este fenómeno se conoce como sobreaprendizaje, muy habitual en los modelos de redes neuronales. Para evitarlo hay varias estrategias, siendo una tradicional el detener de forma temprana el entrenamiento. En nuestro modelo hemos optado por el *dropout*, que consiste en podar conexiones de forma aleatoria en cada paso de la fase de

¹<http://marathon.csee.usf.edu/Mammography/Database.html>.
ISBN: 978-84-608-3354-3

entrenamiento. Es decir, eliminar con probabilidad p las conexiones de la red. El valor de p puede ser tan alto como 0,5 dejando de hecho una red con un 50% de conexiones con la capa anterior, lo que equivale a entrenar en cada iteración una red diferente –en sus conexiones con la capa siguiente-. Tras la finalización del aprendizaje, lo ideal sería promediar la salida de las redes generadas pero como esto resulta inviable, se aproxima mediante la red con todas las conexiones activadas ponderando cada conexión con el factor p . La ventaja del *dropout* es pues que, mientras que efectivamente evalúa 2^n arquitecturas, en la fase de inferencia solo hay una red para clasificar.

De las 200 mamografías con microcalcificaciones segmentadas de la DDSM reservamos 100 imágenes para entrenamiento y 100 imágenes para validación del sistema. Previamente a la entrada a la CNN se efectúa un preprocesado mediante técnica de ecualización adaptativa de histograma (CLAHE) y eliminación de ruido mediante operadores morfológicos (transformada Tophat) con un elemento filtrante de 6 píxeles de radio, ajustado experimentalmente teniendo en cuenta el tamaño de las microcalcificaciones.

La red es inicializada con valores aleatorios de los filtros convolucionales y tras cada iteración con el conjunto de entrenamiento se comprueba la tasa de error en el conjunto de validación. El entrenamiento se detiene en nuestra implementación tras alcanzar un número prefijado de iteraciones. En nuestro modelo hemos optado por el *dropout* en la capa 3 que consiste en podar conexiones de forma aleatoria en cada paso de la fase de entrenamiento. La tasa es del 50%, lo que supone que realmente estamos promediando redes diferentes en cada iteración, que en lugar de 512 conexiones tienen 256 activas de forma aleatoria en la última capa.

Tras 30 iteraciones ya conseguimos un error del 3% en el conjunto de entrenamiento. En la Figura 2 apreciamos los filtros convolucionales de 6 x 6 píxeles aprendidos en la capa 1.

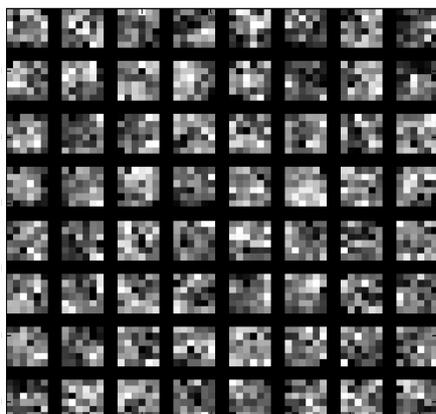


Figura 2. Imagen de los 64 filtros de 6x6 píxeles de la capa 1.

4. Resultados

El tiempo de ejecución es unas 12 veces más rápido en la GPU que en la CPU, siendo en la primera de unas 15

imágenes por segundo. En la tabla siguiente se resumen los porcentajes de error en ambos conjuntos de 100 imágenes, entrenamiento y validación:

Porcentaje de error	30 iteraciones	10 iteraciones	30 iterac. + dropout
Entrenam.	3%	12%	3%
Validación	34%	32%	30%

Tabla 1. Comparativa de resultados

Se observa que la estrategia de *dropout* presenta cierta superioridad para evitar el sobreaprendizaje frente a la técnica de abortar el entrenamiento en fase temprana. En cuanto a los casos incorrectamente clasificados, los falsos positivos son un 12% y los falsos negativos son un 17%.

5. Conclusiones

Los resultados obtenidos están en consonancia con enfoques de detección de microcalcificaciones con *wavelets* y clasificación mediante máquinas de vectores soporte, pero es destacable que el sistema propuesto es completamente diferente puesto que no se diseña para un tipo específico de objetos a detectar sino que aprende las estructuras de los mismos incluyendo la información de conjunto de la escena (*clusters* de microcalcificaciones), algo difícil de modelar en otros enfoques de reconocimiento de imágenes que requieren un diseño bastante específico para cada conjunto de imágenes a tratar. Los valores finales obtenidos demuestran la aplicabilidad de las CNN, en nuestro caso a un problema integral donde se plantea no ya la detección de las microcalcificaciones, sino a la clasificación completa de una región relativamente grande de una mamografía en cancerígena o benigna, con amplia tolerancia a las condiciones de ruido e histograma de la imagen.

Referencias

- [1] Pollan, M.. "Breast cancer incidence in Spain before, during and after the implementation of screening programmes", 2010. *Annals of Oncology*, 21.
- [2] Wernick, M.N.. "Machine Learning in Medical Imaging", 2010 *Ieee Signal Processing Magazine*, 27, S. 25-38.
- [3] Winsberg, F. "Detection of Radiographic Abnormalities in Mammograms by Means of Optical Scanning and Computer Analysis", 1967 *Radiology*, 89, S. 211-&.
- [4] Yu, D. "Deep Learning and Its Applications to Signal and Information Processing" 2011 *Ieee Signal Processing Magazine*, 28, S. 145.
- [5] LeCun, Y., "Handwritten Digit Recognition - Applications of Neural Network Chips and Automatic Learning", 1989 *Ieee Communications Magazine*, 27, S. 41.
- [6] Chen, Z.L., "Vehicle Detection in Satellite Images by Hybrid Deep Convolutional Neural Networks", 2014 *Ieee Geoscience and Remote Sensing Letters*, 11, S. 1797-1801.
- [7] Cernazanu-Glavan, C., "Segmentation of Bone Structure in X-ray Images using Convolutional Neural Network", 2013 *Advances in Electrical and Computer Engineering*, 13, S. 87-94.

Detección de tasa cardiaca en vídeo para un sistema biométrico de reconocimiento facial

M. F. Arriaga Gómez¹, F. J. Morales Blasco², D. de Santos Sierra¹,
G. Bailador del Pozo², C. Sánchez Ávila^{1,2}

¹ Grupo de Biometría, Bioseñales y Seguridad, Centro de Domótica Integral, Universidad Politécnica de Madrid, España, {mariariaga, dsantos, gbailador, csanchez}@cedint.upm.es

² Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, España, fj.morales@alumnos.upm.es

Resumen

Las técnicas de identificación biométrica basadas en reconocimiento facial se han desarrollado rápidamente en los últimos años y gozan de un alto grado de aceptación por el usuario en la actualidad. Sin embargo, los sistemas de reconocimiento facial son vulnerables frente a los intentos de falsificación en los que la cara de un usuario real se sustituye por una fotografía o un vídeo. En este trabajo proponemos la detección de intentos de intrusión mediante la comprobación de sujeto vivo basada en la estimación de la tasa cardiaca en un fragmento de vídeo de la cara del usuario, utilizando técnicas de procesado digital de imagen. Para llevar a cabo la evaluación del sistema se capturó una base de datos de vídeos de cara, así como grabaciones de fotografías faciales, con diversas condiciones de iluminación. La calibración del sistema permitió estimar la tasa cardiaca de los usuarios con un error medio inferior al 20% y sugerir unos intervalos para la tasa cardiaca, el movimiento relativo de la cara y los cambios de color en el fondo de la imagen con los que diferenciar los intentos de acceso genuinos de los intentos de intrusión.

1. Introducción

El desarrollo de dispositivos móviles con funcionalidades avanzadas conlleva la necesidad de sistemas y entornos de seguridad con niveles de fiabilidad cada vez más exigentes. Esta demanda sitúa al reconocimiento biométrico en un lugar de notable importancia para la sociedad. La mayor parte de las técnicas de identificación basadas en biometría son vulnerables al uso de muestras falsas, como pueden ser dedos de goma, lentes de contacto o grabaciones de la voz. En el caso del reconocimiento facial diferenciamos tres tipos de ataques: el uso de máscaras, la presentación de fotografías de un usuario legítimo ante la cámara del sistema y la presentación de fragmentos de vídeo. Una forma de resolver estos intentos de intrusión es detectar signos de vida en la cara que se está presentando ante el sistema [1]. Algunos trabajos previos se centran en el estudio del parpadeo del individuo, el seguimiento de los movimientos de su boca o en análisis de las características tridimensionales de la cara. En este trabajo presentamos una propuesta basada en la detección y el análisis de bioseñales medibles en algunas partes de la cara; concretamente, la frecuencia cardiaca y los micromovimientos musculares involuntarios, imperceptibles por el ojo humano. La técnica consiste en la aplicación del algoritmo de procesado de

señal *Eulerian Video Magnification* y la posterior clasificación de los microcambios detectados en un vídeo de cara. El sistema de estimación de la frecuencia cardiaca tiene aplicaciones en campos como la telemedicina (diagnóstico a distancia), la detección de problemas arteriales mediante asimetrías en el flujo sanguíneo de la cara, el control de estrés y fatiga de conductores o la detección de coacción en sistemas de control de acceso. La detección de sujeto vivo, además, refuerza la seguridad de los sistemas basados en biometría facial, como los controles aeroportuarios, control de fronteras, servicios bancarios y, en general, verificación electrónica de la identidad [2]. Variantes de esta técnica se pueden emplear también en la estimación de la frecuencia de otras bioseñales, como la respiratoria.

2. Materiales

El calibrado del sistema y la posterior evaluación de su rendimiento se han llevado a cabo mediante fragmentos de vídeo capturados específicamente para este trabajo. La base de datos creada contiene información adicional de cada uno de los vídeos: tipo de acceso (sujeto vivo o intrusión), orientación de la cara, tipo de luz (artificial o natural), dirección de la luz, nivel de luminosidad y frecuencia cardiaca real (medida con un pulsioxímetro comercial).

2.1. Dispositivos

Los sensores empleados en la construcción de la base de datos tienen las siguientes características:

- Cámara digital compacta *Panasonic DMC TZ-10*, montada sobre trípode.
- Luxómetro digital *OPTRONIK Digilux 9500*.
- Pulsioxímetro *Vitalcontrol*.

2.2. Secuencias de vídeo

Las secuencias de vídeo se han grabado a 30 fotogramas por segundo, en formato HD y se han convertido a formato *.avi* de 640x480. La distancia entre la cámara y el sujeto / objeto es de aproximadamente 1,5 metros. Para los intentos de acceso legítimos, se han capturado grabaciones de sujetos en reposo y también tras realizar cierto ejercicio que acelerara su latido cardiaco. En todos los casos se solicitó al individuo que mirara a la cámara e intentara moverse lo menos posible. Por otra parte, para los intentos de de

intrusión con fotografías, se han usado grabaciones de imágenes faciales pertenecientes a la base de datos FERET [3], adheridas a una pared y sostenidas con las manos, y para los ataques con vídeo se han grabado con la misma cámara los vídeos de los usuarios genuinos mientras se reproducían en una pantalla de alta calidad. Finalmente, se han añadido unos vídeos sin caras, capturados en las mismas condiciones en las que se han capturado cada uno de los vídeos de usuarios genuinos, y con fondo neutro, para la calibración del sistema. Las características de cada secuencia están resumidas en la Figura 1.

Ejemplo	Caso de uso	Localización	Iluminación	Estado	Nº de vídeos
	Sujeto vivo (Genuino)	Interior	Natural	Reposo	8
			Artificial	Ejercitado	8
		Exterior	Natural	Reposo	7
			Artificial	Ejercitado	7
	Fotografía (Intrusión)	Interior	Natural	Fija	8
			Artificial	Movimiento	8
		Exterior	Natural	Fija	4
			Artificial	Movimiento	4
	No cara (Calibración)	Interior	Natural	-	2
		Exterior	Natural	-	1
		Exterior	Sin luz	-	1

Figura 1. Base de datos de evaluación.

3. Métodos

3.1. Fundamentos

El sistema propuesto se basa en los principios de la fotopletismografía, según los cuales, la sangre absorbe mayor cantidad de luz que el resto de los tejidos que la rodean, y sus variaciones volumétricas afectan a la cantidad y el tipo de luz que refleja [4]. A través del registro y análisis de esta señal de origen óptico, causada por los cambios de volumen de la sangre asociados al ciclo cardiaco, se puede calcular la frecuencia cardiaca [5]. Al trabajar con luz visible RGB, el canal verde es el que representa con mayor intensidad la señal cardiaca debido a que la oxihemoglobina (HbO₂) presente en la sangre absorbe mejor la componente verde de la luz [4].

El preprocesado de cada fotograma del fragmento de vídeo consiste en la representación de la imagen mediante una pirámide Laplaciana. Cada nivel de la pirámide obtiene al aplicar a la imagen del nivel anterior un banco de filtros paso banda y un submuestreo para reducir su resolución [6].

La extracción y mejora de la señal pletismográfica se lleva a cabo mediante el método Eulerian Video Magnification (EVM), que consiste en amplificar los cambios temporales de color en una posición determinada de la imagen para magnificar los efectos del movimiento. Después del submuestreo espacial, se aplica un filtro de paso banda para extraer los cambios en las frecuencias de interés: para cada nivel de la pirámide Laplaciana se considera la variación temporal de un píxel correspondiente a una banda de frecuencia. Las componentes frecuenciales de interés se amplifican y después se reconstruye la señal modificada. Finalmente, se suma la imagen modificada con la imagen original, para facilitar la visualización de los microcambios de frecuencias adecuadas (Figura 2).

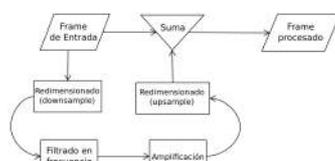


Figura 2. Etapas del método EVM.

Los microcambios magnificados pueden tener su origen en cambios de color de la región de interés debidos al flujo sanguíneo, a pequeños movimientos musculares o a cambios de color generales que afecten a toda la imagen (debidos, por ejemplo, a cambios bruscos de iluminación), por lo que es importante validar, en una fase posterior, cuáles de estos microcambios se pueden asociar efectivamente con latidos del corazón, para así disminuir los errores en la estimación de la frecuencia cardiaca.

3.2. Diseño y desarrollo del sistema

El sistema desarrollado es un módulo independiente diseñado para aportar información adicional al módulo de toma de decisiones de un sistema de identificación basado en biometría facial (Figura 3).

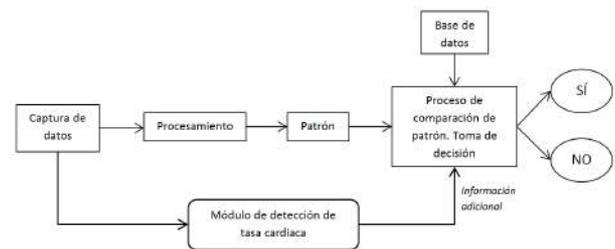


Figura 3. Integración del módulo desarrollado en un sistema biométrico de reconocimiento facial.

Su entrada es un fragmento de vídeo, y su salida tiene tres componentes (Figura 4):

- Estimación de la tasa cardiaca en la cara.
- Movimiento de la cara relativo a la imagen completa.
- Estimación de cambios de color en una región de la imagen que no corresponda a la cara.

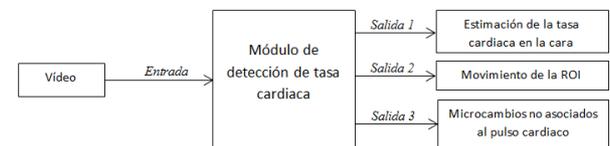


Figura 4. Entradas y salidas de información en el módulo de detección de tasa cardiaca.

Esta información permite valorar si la muestra biométrica presentada a la cámara del sistema de identificación corresponde a la cara de una persona viva (si la tasa detectada está comprendida en un rango estadísticamente admisible), si se trata de una fotografía en movimiento o si se están aplicando microcambios en la iluminación de una fotografía para simular el flujo sanguíneo de la superficie de una cara.

El algoritmo de estimación de la frecuencia cardiaca se compone de ocho etapas:

1. Captura de un fotograma de vídeo mediante el sensor (cámara) del sistema.
2. Detección de la cara en el fotograma, mediante el algoritmo de Viola-Jones [7].
3. Detección de la región de interés dentro de la cara. Se debe seleccionar una zona de la cara en la que sea fácil observar los cambios de color debidos a la irrigación

sanguínea, pero que sea poco susceptible a movimientos involuntarios.

4. Detección del movimiento de la cara con respecto al fotograma inicial del vídeo. En esta fase se calcula el desplazamiento del centro de la región de interés del fotograma actual respecto al centro de la región de interés en el fotograma inicial.
5. Transformación del fotograma mediante el método Eulerian Video Magnification (Figura 5). Para implementar en tiempo real el filtro paso banda se han empleado filtros de respuesta infinita al impulso de orden bajo con frecuencias de corte de 0,4 Hz y 4Hz, correspondientes a una frecuencia cardiaca de entre 45 y 240 latidos por minuto, tal y como se sugiere en [8].



Figura 5. Secuencia de fotogramas transformados.

6. Detección de la pulsación mediante los cambios de color en la región de interés. Las variaciones se miden mediante diferencia entre los canales verdes de fotogramas sucesivos (Figura 6).

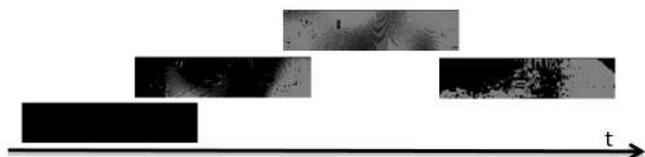


Figura 6. Evolución temporal de la diferencia entre dos fotogramas consecutivos.

7. Validación de la pulsación detectada mediante la umbralización del histograma. Se establecen dos umbrales (inferior y superior) de forma experimental y se estudia en cual de los tres intervalos resultantes se encuentran las intensidades del canal verde de los píxeles de la imagen obtenida al restar dos fotogramas sucesivos. Si la mayor parte de estas intensidades se encuentra en el intervalo delimitado por los dos umbrales, el microcambio detectado se valida como pulsación. Con esta decisión, se eliminan de la validación aquellas variaciones de intensidad en el canal verde de la luz reflejada por la región de interés que son, bien muy débiles (micromovimientos) o demasiado intensas (fogonazos de luz).
8. Estimación de la tasa cardiaca. Tras procesar un fragmento de vídeo, se obtiene el número de latidos total (n). El tiempo de procesado de cada fotograma depende de su complejidad, por lo que la duración del proceso no coincide, en general, con la duración del vídeo. Para calcular la duración real de la secuencia se emplea el número de fotogramas procesados (f) y la frecuencia de captura de la cámara (r). De este modo, la tasa estimada (SHR) se puede calcular como

$$SHR = \frac{n \cdot 60 \cdot r}{f}$$

Paralelamente a este proceso principal, se aplica el mismo algoritmo a una región de la imagen que no pertenezca a la zona de la cara (por ejemplo, el fondo de una de las esquinas) para detectar aquellos cambios de iluminación

que producen modificaciones en el color de todo el fotograma y, por tanto, afectan al color de la cara sin ser debidos al latido cardiaco (Figura 7).

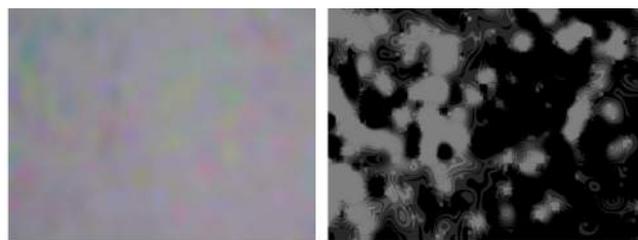


Figura 7. Microcambios producidos en el plano de fondo por el ruido.

3.3. Calibración y parametrización

Las condiciones de iluminación del entorno en el que se use el sistema puede influir en la calidad de sus estimaciones. Por este motivo se hace necesario un ajuste en la parametrización del algoritmo. En esta calibración se graba una secuencia de vídeo de una superficie con fondo uniforme, en las mismas condiciones de iluminación en las que se va a usar el sistema. El procesado de este vídeo permite definir tanto los umbrales de validación del histograma como el coeficiente de amplificación de las bandas correspondientes a las frecuencias de interés, de manera que se estime para este vídeo una frecuencia de 0 microcambios por minuto.

4. Resultados

La evaluación del sistema se ha realizado cubriendo todos los casos de uso planteados:

1. Usuario legítimo (sujeto vivo)
 - 1.1 En reposo
 - 1.2 Tras ejercicio
2. Intrusión
 - 2.1 Con fotografía estática
 - 2.2 Con fotografía en movimiento

1.1 Con vídeo

y teniendo en cuenta los principales factores que pueden influir en su rendimiento, como son el tipo de luz (natural o artificial), su dirección (contraluz, lateral, cenital, frontal), la luminosidad, la localización (en interior o en exterior), el movimiento del sujeto o la orientación de la cara.

En todos los casos se ha calculado la frecuencia cardiaca media dada por el pulsioxímetro comercial y se ha comparado con la estimación del sistema para determinar el porcentaje de desviación relativa respecto a la frecuencia real.

La fase de calibrado del sistema permite fijar, para todos los entornos y condiciones, los umbrales inferior y superior que se aplican en la fase de validación del proceso. Al considerar la diferencia de dos fotogramas consecutivos, y el canal verde de la luz reflejada por la zona de interés, se considera que una transición es un latido si la mayoría de los píxeles tienen una intensidad entre 3 y 40 (siendo 0 el valor mínimo y 255 el máximo). Si, por el contrario, la mayoría de los píxeles tiene una intensidad de verde fuera

de este intervalo, la transición no se cuenta como latido (Figura 8).

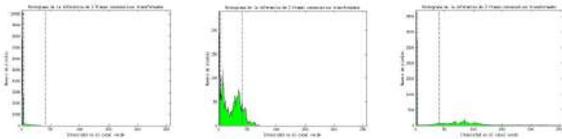


Figura 8. Histograma del canal verde de distintas transiciones. La imagen central representa un latido detectado.

Con esta parametrización, la desviación relativa media de la estimación de la frecuencia cardiaca es del 18,07%. Se observa que las mayores desviaciones se dan en las pruebas realizadas en exteriores y con luz natural (llegando al 35% en ambientes con 24000 luxes), mientras que en las pruebas de interior con iluminación artificial la desviación relativa es menor (entorno al 15% con 119 luxes).

En cuanto a la estimación del movimiento de la región de interés, no se observa una dependencia funcional entre el movimiento del sujeto y la tasa cardiaca estimada (Figura 9).

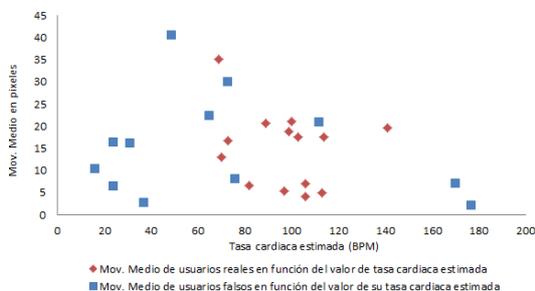


Figura 9. Frecuencia cardiaca y movimiento medio de las secuencias de la base de datos.

Sin embargo, estos resultados permiten establecer un intervalo de movimiento relativo y otro de tasa cardiaca estimada con los que se pueden clasificar los vídeos de sujetos vivos y los intentos de falsificación (Figura 10)

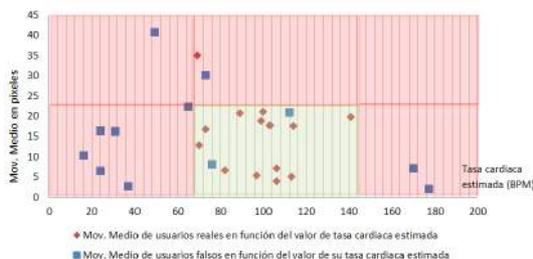


Figura 10. Propuesta de detección de sujeto vivo.

Al considerar como intentos legítimos de acceso aquellas secuencias en las que se estima una frecuencia cardiaca entre 69 y 141 pulsaciones, junto con un movimiento relativo medio menor de 21 píxeles por fotograma, se obtienen las siguientes tasas:

- Verdaderos positivos: 86,66%.
- Falsos positivos: 13,33%.
- Verdaderos negativos: 83,33%.
- Falsos negativos: 7,69%.

5. Conclusiones

El sistema presentado estima la frecuencia cardiaca a partir de una breve secuencia de vídeo, sin necesidad de usar sensores especiales ni una iluminación particular, con un error medio del 18%, lo que permite monitorizar a distancia a un individuo mediante un dispositivo de bajo coste. El proceso se basa en el algoritmo *Eulerian Video Magnification*, por lo que el tiempo de procesado de cada fragmento es bajo, lo que facilita el cálculo de la tasa cardiaca en tiempo real.

Esta información, unida a la detección del movimiento del usuario y a la detección de microcambios en la iluminación general de la secuencia, permite detectar, en un sistema biométrico de reconocimiento facial, los intentos de intrusión utilizando fotografías o vídeos de la cara de usuarios legítimos.

Se puede definir experimentalmente un intervalo de tasas cardiacas y cantidad de movimiento involuntario de la cara que caracterizan estadísticamente a los sujetos vivos, de modo que las muestras presentadas al sistema biométrico se pueden clasificar como accesos legítimos o intentos de intrusión, con una tasa de falsos positivos del 13,33% y una tasa de falsos negativos del 7,69%.

Agradecimientos

La investigación conducente a estos resultados ha sido realizada con fondos del programa de investigación *European Union Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013)* dentro del acuerdo de subvención nº 610713.

Referencias

- [1] Chakraborty, S., Das, D. An Overview of Face Liveness Detection. *International Journal on Information Theory*, vol 3, nº 2, 2014, pp. 11-23 (ISSN 2319-7609).
- [2] Universidad Politécnica de Madrid. Biometría. Capacidades de I+D, soluciones tecnológicas y empresas UPM. Vicerrectorado de Investigación. UPM, 2012.
- [3] Phillips, P. J., Wechsler, H., Huang, J., Rauss, P. J. *The FERET database and evaluation procedure for face-recognition algorithms*. Image and vision computing, vol 16, sup 5, 1997, pp 295-306 (ISSN 0262-8856).
- [4] Verkruyse, W., Svaasand, L. O., Nelson, J. S. Remote plethysmographic imaging using ambient light. *Optics express*, vol 16, sup 26, 2008, pp 21434-21445 (ISSN 1094-4087).
- [5] Silva, S. L., Dotor, M. L., Silveira, J. P., Giannetti, R., Herrera, L. Fotoplethysmografía por reflexión con LEDs infrarrojos para evaluar órganos y tejidos intra-abdominales: estudio inicial en cerdos. *Óptica Pura y Aplicada*, vol 42, 2009 pp 23-32 (ISSN 0030-3917).
- [6] Burt, P. J., Adelson, E. H. The Laplacian pyramid as a compact image code. *Communications, IEEE Transactions on*, vol 31, nº4, 1983, pp 532-540 (ISSN 0090-6778).
- [7] Viola, P., Jones, M. Rapid object detection using a boosted cascade of simple features. *Computer Vision and Pattern Recognition. Proceedings of the 2001 IEEE Computer Society Conference on*, vol. 1, 2001, pp. I-511 – I-518 (ISSN 1063-6919).
- [8] Wu, H., Rubinstein, M., Shih, E., Durand, F., Freeman, W. Eulerian Video Magnification to Revealing Subtile changes in the World. *ACM Trans. Graph*, vol 21, nº 4, 2012, pp. 65.

Telemedicina

Miércoles 4 de Noviembre

Infraestructura de comunicaciones para la disseminación de información y alarmas en escenarios de monitorización de pacientes diabéticos

J. Calvillo-Arbizu¹, L.M. Roa-Romero^{2,1}, D. Naranjo-Hernández^{2,1}, C. Pérez-Gandía^{2,3}, G. García-Sáez^{3,2}, A. de Leiva⁴, E.J. Gómez^{2,3}, M.E. Hernando^{2,3}

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Sevilla, Sevilla

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

³ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid

⁴ Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Sant Pau. Barcelona

Resumen

En este trabajo se propone un método de comunicaciones para la monitorización de pacientes diabéticos basado en el patrón publicador/suscriptor el cual potencia la escalabilidad de dispositivos y usuarios y posee un alto nivel de flexibilidad. Con el fin de realizar una primera validación de la propuesta, se ha implementado un escenario simulado de monitorización que incluye sensores de glucosa y actividad física, y bombas de insulina como publicadores. Los suscriptores son sistemas intermedios que procesan dicha información y generan conocimiento. El sistema de gestión de alarmas está basado en una ontología OWL (Web Ontology Language) que, a través de procesos de inferencia, genera alarmas sobre el estado metabólico del paciente y discrimina entre aquellos usuarios que desean recibir las alarmas y el método más adecuado para notificarlas. La infraestructura de comunicaciones sigue el estándar Data Distribution Service (DDS) garantizando la interoperatividad de la solución desarrollada. La investigación se enmarca dentro del proyecto intramural DIAB-Support del CIBER-BBN, cuyo objetivo es el diseño de herramientas de soporte a la decisión para la monitorización continua de pacientes personalizadas e integradas en una plataforma tecnológica para diabetes.

1. Introducción

El interés mundial en el control y seguimiento de la diabetes mellitus ha propiciado la diversificación de esfuerzos tecnológicos en este campo, multiplicando las posibilidades de monitorización de pacientes diabéticos tanto para el seguimiento remoto por parte de profesionales como para maximizar la eficiencia de la autogestión por parte de los propios pacientes y/o sus cuidadores. Los factores más importantes que influyen en el nivel de glucosa son la ingesta de alimentos, la administración de insulina y el nivel de actividad física. Actualmente la automonitorización de glucemia capilar (AMGC) es la principal herramienta de la que disponen los pacientes diabéticos para evitar episodios de hipo e hiperglucemia. Los modernos sensores de medida continua de glucosa permiten completar dicha información con una medida continua (1, 3 o 5 minutos) del valor de glucosa en el fluido intersticial [1].

Si bien las tecnologías para la transmisión de información poseen un alto nivel de madurez, los escenarios de

monitorización de pacientes diabéticos son especialmente complejos debido a dos causas principales:

- 1) Los avances en sensorización y sistemas de información sanitaria han multiplicado las fuentes de datos disponibles que pueden apoyar la toma de decisiones en el seguimiento y control del paciente diabético. Se requiere, por tanto, la capacidad de integrar fuentes de información distribuidas y heterogéneas (algunas con generación de datos en tiempo real).
- 2) La monitorización de diferentes variables, incluida la glucosa, se puede llevar a cabo de manera continua, lo que supone una recogida de datos 24/7 con el fin de proporcionar información en tiempo real sobre el estado metabólico del paciente. Tal cantidad de datos debe ser procesada por sistemas intermedios con el fin de generar conocimiento útil para los profesionales, el propio paciente o sus cuidadores. Así, por ejemplo, situaciones metabólicas anómalas (o tendencias) tienen que ser descubiertas y notificadas con el fin de dar una pronta respuesta y salvaguardar la integridad del paciente.

Por todo ello, uno de los principales requisitos tecnológicos que nos encontramos en los escenarios de monitorización de pacientes diabéticos es la necesidad de contar con una infraestructura de comunicaciones en tiempo real que permita conectar sistemas heterogéneos y distribuidos geográficamente (domicilio del paciente, centro de salud, centro especializado, etc.)

En el presente trabajo se propone un método de comunicaciones para la monitorización de pacientes diabéticos basado en el patrón publicador/suscriptor para la disseminación de información en tiempo real sobre las medidas de control metabólico tomadas de forma continua en pacientes diabéticos. Este trabajo se enmarca dentro del proyecto intramural DIAB-Support [2] del CIBER-BBN en el que colaboran el Grupo de Ingeniería Biomédica de la Universidad de Sevilla, el Grupo de Bioingeniería y Telemedicina de la Universidad Politécnica de Madrid y el Hospital Sant Pau de Barcelona. El objetivo del proyecto es el desarrollo y evaluación del impacto clínico de un sistema de apoyo a

la decisión que analice datos multi-paramétricos generados en un sistema de e-Salud para pacientes diabéticos tanto en tiempo real como retrospectivamente.

2. Materiales y métodos

2.1. Monitorización de pacientes diabéticos

La inclusión de la AMGC en la rutina diaria del pacientees la mejor forma de evitar el desarrollo de complicaciones diabéticas. La monitorización continua de glucosa (MCG) completa la información que maneja el paciente, pero por su volumen y sus limitaciones, puede complicar de alguna manera la gestión eficiente de la misma.

Las dos variables más influyentes que el paciente puede manejar para intervenir sobre su nivel glucémico (la insulina administrada y la ingesta de carbohidratos) presentan un retardo entre el momento de su aplicación y el comienzo de su acción, asociado a la absorción de los mismos. Por este motivo la capacidad de predecir la evolución de su perfil glucémico en un futuro cercano, ayudará al paciente a tomar las decisiones adecuadas para mantener un buen control de su enfermedad y evitar situaciones de riesgo. Sin embargo es preciso integrar esta información con el resto del conocimiento generado.

El ejercicio físico es una tercera variable que afecta notablemente al equilibrio glucosa-insulina que se establece en el organismo del paciente. Realizar actividad física es beneficioso para este tipo de pacientes, pero hace que el control de glucosa en sangre se complique. El reconocimiento de actividad ha sido empleado en multitud de sistemas predictivos para la estimación del nivel de glucosa en tiempo real [3]. La monitorización de las actividades del usuario durante un largo periodo de tiempo permite distinguir patrones de comportamiento en la vida de la persona, los cuales pueden ser de utilidad a la hora de mejorar y optimizar el seguimiento de la enfermedad, previniendo complicaciones de la diabetes y garantizando un buen estándar de vida [4].

El uso eficiente de la información proporcionada por los diferentes dispositivos de monitorización y los algoritmos desarrollados a partir de aquella, exige un amplio conocimiento por parte de los pacientes para adaptar la administración de insulina a su vida diaria (ingesta de alimentos, horarios, estado metabólico, nivel de estrés, actividad física...). Cualquier sistema que favorezca la integración, gestión y la distribución adecuada de dicha información redundará en una mejora de la calidad de vida del paciente.

2.2. El patrón publicador/suscriptor

Uno de los estilos arquitecturales que con mayor eficiencia potencia la autonomía de los componentes dentro de un sistema distribuido es el patrón publicador/suscriptor, puesto que permite un desacoplo total entre los elementos que envían información (publicadores) y los que la reciben (suscriptores). Los publicadores pueden difundir una determinada información a un grupo de suscriptores que están a la escucha sin saber quiénes son exactamente dichos

suscriptores ni si han cambiado con el tiempo. Por otro lado, los suscriptores únicamente tienen que precisar el tipo de información que desean recibir y las condiciones de comunicación a través de políticas de calidad de servicio. La información es generada o consumida en un canal, evento o *topic*.

Hasta la fecha, el patrón publicador/suscriptor ha sido poco explotado en el ámbito clínico aunque posee un enorme potencial para servir de infraestructura de generación de conocimiento clínico al permitir, por un lado, adquirir y almacenar datos e información en tiempo real a través de diferentes dispositivos sensores, máquinas de terapia, sistemas software, etc.; y por otro, gestionar e integrar de forma eficiente dicha información para generar conocimiento útil sobre el paciente.

3. Resultados

3.1. Infraestructura de comunicaciones

La infraestructura DIAB-Support para la monitorización de pacientes diabéticos debe facilitar la comunicación de información de monitorización así como automatizar, en la medida de lo posible, la detección y gestión de las notificaciones que alerten sobre situaciones anómalas en el estado del paciente.

Entre las diversas especificaciones que existen del patrón publicador/suscriptor se ha escogido el Servicio de Distribución de Datos (*Data Distribution Service*, DDS) [5] por su robustez y penetración en la industria aunque otras alternativas están siendo investigadas. DDS utiliza el *topic* como nexo de unión entre los publicadores y suscriptores, el cual lleva asociado un nombre y un tipo. El desacoplo entre publicadores y suscriptores permite tener un sistema escalable, en el que se incluyen elementos de cualquier tipo sin necesidad de detener el sistema ni realizar reconfiguraciones, y se proporciona una solución de distribución de datos en tiempo real. Además la identificación de situaciones o tendencias anómalas en el estado de un paciente se limita a la configuración adecuada de *topics* y suscripciones a los mismos por parte de los componentes interesados en informar o gestionar dichas situaciones.

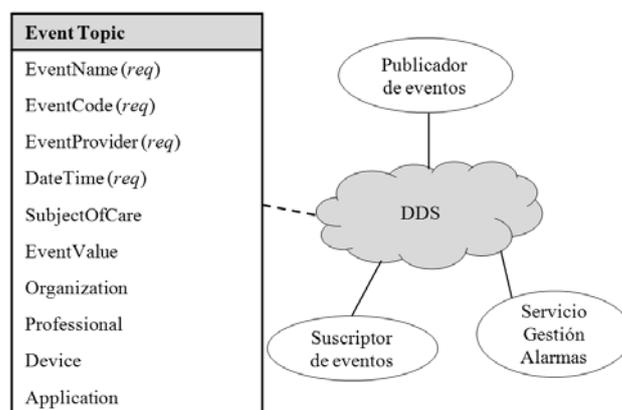


Figura 1. Topic para el intercambio de información y alarmas

La diseminación de información y alarmas se realiza a través de un *topic* genérico (*EventTopic*, Figura1), el cual se compone de cuatro campos obligatorios (nombre del

evento, código identificador, etc.) y otros opcionales que amplían información sobre las entidades que pueden estar relacionadas con el evento. Los diferentes participantes en el sistema que actúan como suscriptores filtrarán la información que se publique en el *EventTopic* de acuerdo a sus necesidades específicas de información. Así por ejemplo, el sistema suscriptor relacionado con un profesional sanitario sólo procesará aquellos eventos cuyo campo “*SubjectOfCare*” referencie a los pacientes del profesional. Otros *topics* podrían añadirse al anterior para intercambiar diferentes tipos de información.

3.2. Sistema de gestión de alarmas

Ante la gran cantidad de información que se publica en el *topic* de eventos (niveles actuales y predicción de glucosa, actividad física, dosis de insulina administrada, ingesta de alimentos, etc.), se precisa de un sistema intermedio que procese esa información y genere alarmas de acuerdo a reglas configuradas previamente. Este sistema de gestión de alarmas está basado en una ontología OWL desarrollada dentro del proyecto DIAB-Support mediante la plataforma Protégé-OWL [6]. La ontología describe alarmas, perfiles de usuarios y todos los aspectos necesarios para llevar a cabo la gestión de notificaciones.

El sistema de gestión de alarmas utiliza los filtros de contenido de DDS para recibir sólo aquella información que resulte de interés para los usuarios o la des/activación de sus perfiles. Cada instancia del sistema de gestión de alarmas puede dar servicio a un conjunto diferente de usuarios y, por tanto, el filtrado de información será distinto para cada sistema. La ontología permite automatizar el proceso de generación y notificación de alarmas a través de procesos de inferencia que conjugan la información recibida a través del *EventTopic* con las preferencias de los usuarios y características de las alarmas y el contexto, permitiendo diseminar alarmas de forma adecuada y eficiente.

3.3. Escenario simulado de monitorización de pacientes diabéticos

Un prototipo de infraestructura de comunicaciones basada en el patrón publicador/suscriptor así como de sistema de gestión de alarmas en escenarios de monitorización de pacientes diabéticos ha sido desarrollado con el fin de realizar una primera validación del concepto. La Figura 2 ilustra el escenario simulado, el cual, por simplicidad, está centrado en la monitorización de un único paciente diabético en su hogar y supervisado por un conjunto de usuarios (profesionales sanitarios, un familiar del paciente y el técnico encargado del mantenimiento de los dispositivos).

La Tabla 1 muestra el conjunto de publicadores y suscriptores simulado en este escenario. Los dispositivos médicos (bomba de insulina, sensores de glucosa y actividad) publican medidas a través de un gestor de dispositivos. La bomba de insulina genera información sobre las unidades de insulina que el paciente se administra. El registro de ingestas publica los gramos de carbohidratos consumidos, aunque esta información será introducida manualmente por el paciente.

El sensor de glucosa publica cada 5 minutos un nuevo registro del nivel de glucosa en sangre (mg/dl). El predictor [7][8] calcula y publica el valor de glucemia estimado para dentro de 30 minutos, en base a las últimas cinco muestras del sensor de medidas continuas. Además, aplicando un algoritmo de detección de eventos, publica las alarmas de hiper e hipoglucemia generadas por la predicción. Este algoritmo considera valores sucesivos por encima y por debajo de los umbrales definidos (175 mg/dl y 75 mg/dl respectivamente para hiper e hipoglucemia) un mismo evento, hasta que se resuelva la situación. Además considera unos márgenes de histéresis para evitar que pequeñas fluctuaciones de la secuencia generen alarmas sucesivas del mismo evento.

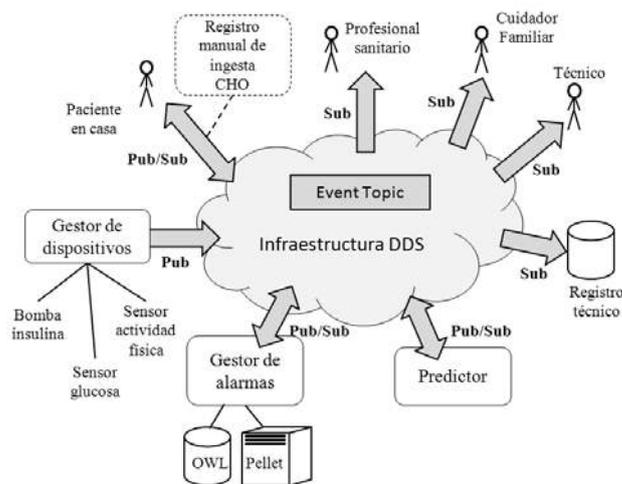


Figura 2. Escenario desplegado para el estudio por simulación

El sensor de actividad está simulado a partir de un sistema para la monitorización de la actividad física desarrollado por el Grupo de Ingeniería Biomédica de la Universidad de Sevilla [9]. Se basa en un sensor inteligente de acelerometría y publica información sobre el nivel de actividad del paciente así como una medida estimada del gasto metabólico del mismo. La tasa de publicación es de 6 segundos aunque configurable.

Publicador	Información publicada	Suscriptor
Bomba de insulina	Unidades de insulina	Predictor
Registro de ingestas	Gramos CHO ingeridos	
Sensor de glucosa	Nivel de glucosa	
Sensor de actividad física	Nivel de actividad física Estimación del gasto metabólico	Gestor de alarmas
Predictor de glucosa	Estimación del nivel de glucosa(30min) Alarmas de hiper e hipoglucemia	Gestor de alarmas Usuarios
Gestor de alarmas	Resto de alarmas	Usuarios

Tabla 1. Publicadores y suscriptores del escenario simulado

Como suscriptores tenemos a los propios usuarios (incluyendo al paciente) y sistemas intermedios como el predictor del nivel de glucosa o el gestor de alarmas. Estos últimos realizan un procesamiento sobre la información recibida de los dispositivos y publican a su vez sus resultados. En particular, el predictor realiza

estimaciones del nivel de glucosa a partir de la información publicada por el sensor de glucosa y publica dicha predicción y alarmas de hipo e hiperglucemia.

Las alarmas que se han considerado en este escenario se muestran en la Tabla 2. Exceptuando las alarmas generadas por el predictor, el resto serán generadas por el sistema de gestión de alarmas en función de la información publicada por los distintos dispositivos.

Alarmas de tipo médico
Hipoglucemia : Predicción < 75 mg/dl
Hiperglucemia : Predicción > 175 mg/dl
Dosis de insulina elevada : Dosis > 10 unidades insulina*
Comida principal : Ingesta > 60 gr CHO*
Comida copiosa : Ingesta > 120 gr CHO*
Riesgo de hipoglucemia severa : Incremento de actividad física + predicción de hipoglucemia
Riesgo de hiperglucemia severa : Ingesta de CHO > 40 gr. + predicción de hiperglucemia
3* Repeticiones no consecutivas de alarma : Riesgo de hipoglucemia severa
3* Repeticiones no consecutivas de alarma : Riesgo de hiperglucemia severa
Alarmas de tipo técnico
Posible obstrucción catéter : Administración de insulina nula en la bomba
Sensor malfunctionante : No muestras del sensor en 10 min*
3* Repeticiones no consecutivas de alarma : Posible obstrucción catéter
3* Repeticiones no consecutivas de alarma : Sensor malfunctionante

* Configurable para cada paciente

Tabla 2. Alarmas contempladas en el escenario simulado

El gestor de alarmas tiene en cuenta las configuraciones de las alarmas y las preferencias de notificación de los usuarios de manera que, si se dispara una alarma, el sistema puede discriminar qué usuarios desean ser notificados y a través de qué canal. Así, por ejemplo, un médico puede desear ser notificado de cada medida de glucosa del paciente, mientras que el técnico sólo va a querer recibir alarmas de malfuncionamiento de los dispositivos.

4. Conclusiones

Los dispositivos médicos continuos proporcionan alternativas de cuidado permitiendo registrar cambios en los niveles de glucosa las 24 horas del día y alertar sobre eventos de riesgo. La combinación de éstos con dispositivos de monitorización de actividad física puede mejorar el control de los pacientes diabéticos y facilitar la toma de decisiones en su vida diaria.

Este trabajo propone una infraestructura de comunicaciones para la diseminación de información y alarmas considerando la amplia variedad de dispositivos y sistemas que pueden soportar escenarios avanzados de

cuidados para pacientes diabéticos. La plataforma propuesta puede suponer un importante avance en el desarrollo de aplicaciones de soporte al control glucémico y la atención personalizada a pacientes diabéticos en tiempo real. La flexibilidad y escalabilidad de la tecnología empleada permiten adaptar la solución a diferentes escenarios multi-dispositivo y multi-usuario.

El escenario simulado en este trabajo ha permitido realizar una primera validación de la infraestructura de comunicaciones para la monitorización de pacientes diabéticos. El siguiente hito en esta línea es implementar un prototipo en escenario controlado sustituyendo los dispositivos simulados por sus correspondencias hardware y validar la viabilidad tecnológica de la solución propuesta.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN) bajo el proyecto intramural DIAB-Support, y por el Fondo de Investigación Sanitaria bajo los proyectos PI11/00111 y PI11/01955. CIBER-BBN es una iniciativa fundada por el VI Nacional R&D&i Plan 2008-2011, Iniciativa Ingenio 2010, programa Consolider, Acciones CIBER y financiada por el Instituto de Salud Carlos III con ayuda del Fondo Europeo de Desarrollo Regional.

Referencias

- [1] Flamm C. Use of intermittent or continuous interstitial fluid glucose monitoring in patients with diabetes mellitus. *TEC Assessment Program*, vol 18(16), 2003.
- [2] DIAB-Support. Proyecto intramural CIBER-BBN. 2014-2015.
- [3] Loprinzi PD, Pariser G. Physical activity intensity and biological markers among adults with diabetes. *Journal of Diabetes and its Complications*, vol27(2), 2013, pp 134-40.
- [4] Pulkkinen T, Young-Sung S, et al. Progressive monitoring and treatment planning of diabetes mellitus in smart home environment. *IEEE International Conference on Consumer Electronics (ICCE)*, 2013, pp206-7.
- [5] OMG. Data Distribution Service for Real-time Systems, Version 1.2, 2007.
- [6] Knublauch H, Fergerson RW, et al. The Protégé OWL Plugin: An Open Development Environment for Semantic Web Applications. *Lecture Notes in Computer Science*, vol 3298, 2004, pp 229-43.
- [7] Pérez-Gandía C, Hernando ME, et al. Neural networks for glucose prediction in continuous glucose monitoring. *The 1st Conference on Advanced Technologies and Treatments for Diabetes (ATTD-2008)*, 2008.
- [8] Pérez-Gandía C, Facchinetti A, et al. Artificial Neural Network Algorithm for Online Glucose Prediction from Continuous Glucose Monitoring. *Diabetes Technology and Therapeutics*, vol 12(1), 2010, pp 81-8.
- [9] Naranjo-Hernández D, Roa-Romero LM, et al. SoM: A Smart Sensor for Human Activity Monitoring and Assisted Healthy Ageing. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 59(11), 2012, pp3177-84.

PERSSILAA platform: ICT architecture and semantic interoperability for older adults frailty prevention

J. Solana Sánchez^{1,2}, F.J Gárate Barreiro^{1,2},
E. Hernando Pérez^{1,2}, E.J. Gómez Aguilera^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación (UPM), Madrid, España
{jsolana,fjgarate,elena,egomez}@gbt.tfo.upm.es

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

Abstract

The “PERSONALISED ICT SUPPORTED SERVICES FOR INDEPENDENT LIVING AND ACTIVE AGEING” project, also called PERSSILAA, is a FP7 funded European project that develops and validates a new service model, to screen for and prevent frailty in community dwelling older adults, integrating nutrition, physical and cognitive functioning. PERSSILAA develops remote service modules for screening (easy to use tools to get an overall picture of person’s health status), monitoring (unobtrusive monitoring of everyday functioning) and training (remotely available health promotion programs).

This paper describes the procedures and technical specifications for providing to the platform with semantic interoperability, by defining a set of archetypes based on an ontology, according to selected SNOMED-CT terms and being compliant with the CEN/ISO13606 European standard. Furthermore, a description of the defined ICT architecture is presented, in order to set the proper environment for the provision of the services defined in the project.

1. Introduction

The “PERSONALISED ICT SUPPORTED SERVICES FOR INDEPENDENT LIVING AND ACTIVE AGEING” project or PERSSILAA is a FP7 funded European project, combining a consortium (eight partners from five countries) from social, medical and technological sciences with industry, academia and end user organisations, with the primary objective of developing an information and communications technology (ICT) based platform to identify and manage community dwelling older adults at risk of functional decline and frailty. With this approach PERSSILAA intends to adhere to the tenants of the European Innovation Partnership on Active and Healthy Aging (EIP on AHA) and increase healthy life span in community dwelling older adults.

In almost every country, but especially in the EU, the proportion of people aged over 60 years is growing faster than any other age group, as a result of both longer life expectancy and declining fertility rates. This population ageing can be seen as a success story for public health policies and for socioeconomic development, but it also challenges society to adapt, in order to maximize the health and functional capacity of older people as well as their social participation and security [1].

In this context, frailty is a concept that has been defined in a multitude of ways in recent years. Despite the increasing interest and importance of research into frailty no consensus on a definition of frailty has yet been

accepted. In this regard, one of the goals of PERSSILAA has been to illustrate the ways in which the concept can be defined, leading up to a definition that is shared by the different participants and in the PERSSILAA project and that reflects the objectives of the defined service model.

Also, pre-frailty is a multi-factorial state characterised by vulnerability to becoming frail and developing functional decline. At present no clear definition of pre-frailty exists. Pre-frailty is a transition point, an intermediate stage between non-frail and frail [2], which can be measured by existing short frailty screens and is usually defined by a cut-off score below that of frailty itself. Thus, to identify what is pre-frail, a clear definition of frailty and an understanding of suitable screening tools for frailty has been done in the first stages of the project.

Frailty is associated with increasing age such that by the age of 90 years approximately 30% of older adults can be considered frail [3]. Estimates vary among community dwelling older adults depending on populations studied, with prevalence rates reported from as low as 7% [4] to as high as 40-50% [5] in those aged over 65 years. In any case, frailty is associated with the development of adverse outcomes. Death, disability, and institutionalization are common consequences for frail older adults [6], while there is also a link to an increase of mortality so as we age [7]. Frailty is also expensive [8] from a healthcare perspective, and in light of recent economic challenges, it represents a cost that will be difficult for future generations to accommodate.

Basically, the PERSSILAA service model entails the following parts: screening for frailty and functional status, monitoring of functional decline, and training of those who show decreased physical functioning, cognitive function and/or malnutrition. PERSSILAA proposes a two-step screening. In step one instruments that can be administered easily by the elderly themselves or their informal carer and can identify those who are frail, pre-frail or robust. Those who are identified frail will be recommended to visit their General Practitioners, while those identified as robust will be invited to participate again the next year. However, those who have been identified as pre-frail, a second more detailed screening will be performed to identify more specifically on what physical, cognitive or nutrition domain the participant has problems, by means of more complex face-to-face tests.

In this context, ICT technologies must play a key role in the prevention of frailty in older adults. The work

presented in this paper describes the technical issues related to the ICT platform that has been built to provide the services defined in the project. A detailed description of the technical architecture, which the platform will be based on, will be coped, describing in detail the different building-blocks (modules) that group functionalities and features of the services offered by PERSSILAA platform to the final users. Then, we will describe the interoperability issues tackled in the project, mainly describing the defined procedures to implement the UNE-EN ISO 13606 standard. It is important to remark that the project will be running until November 2016, so the requirements, architecture and even the functionalities described here, will be completed and refined on an iteratively process, taking advantages from the user's experiences.

2. ICT Building-blocks architecture

In the PERSSILAA project, the IEEE Standard 1233 "IEEE Guide for Developing System Requirements Specifications" [9] has been followed for the technical requirements definition process. Together with these specification, and taking into account the functional requirements definition done by the clinical experts working in the project, an ICT-based building-blocks architecture has been defined.

The process of building-blocks definition takes place gradually, as an iterative process, adapting to detailed information about the functionalities, possible constraints imposed on the architecture or modifications on the user needs, as the definition process will not be completed since the beginning. Initially, the main efforts focused on identifying and specifying the building blocks to accomplish the main goals. Then, along the lifetime of the project, they have been refined in an iterative process, until they are completely defined.

The modelling process of the building blocks has four different levels:

1. Business process level: it is a high-level definition, determining and agreeing the requirements that each building block must fulfil.
2. Technical Functionality: defining constraint that the technical considerations may introduce into the building block.
3. Architectural Model level: identify architectural elements, and the relationships between elements.
4. Solution Model level: identify the final solution that implements the service.

Figure 1 shows the building-blocks architecture defined for the PERSSILAA platform. Following this figure, a detailed description of each of the modules aims at explaining the main functionalities and context of the ICT platform.

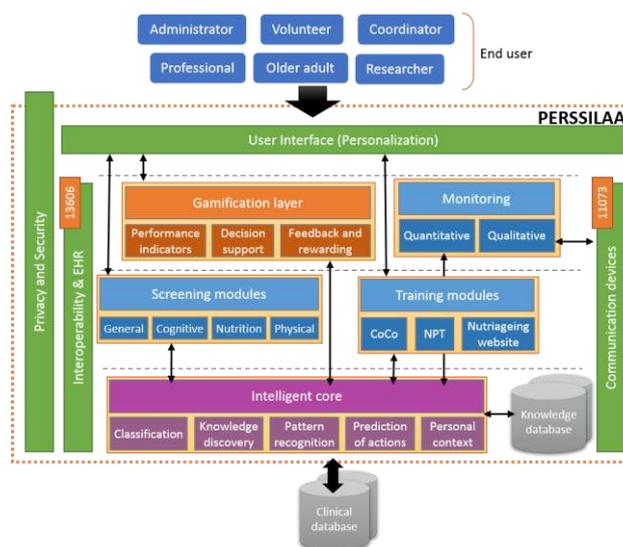


Figura 1. Building-blocks architecture

- **End user:** this part refers to the user roles defined in the project, which represents the different kind of users who are accessing the services provided by PERSSILAA. These are:
 - Old-person: the old person uses the PERSSILAA platform to screen his/her frailty level as well as monitor and manage his/her health status through the assessment to the three online PERSSILAA service modules (if applicable).
 - General Practitioner: this end-user assumes mainly a passive role, being informed about the current state of each patient during the different phases of the PERSSILAA project (in the Dutch context), or acts actively on the information he receives in an offline setting (in the Italian context).
 - Volunteer/Medical Professional: this end-user supports the elderly during the different phases of the project. Whereas during the first screening he/she can assume a merely passive role, on the second screening this user is responsible for the input of the data regarding the physical activity tests. This user does not have access to the personal data of the elderly.
 - Researcher: end-user whose main responsibility is to introduce the results from the questionnaires answered on paper on the online platform, if applicable. This user also assumes a supervisor role of the whole process.
 - Administrator: end-user who is in charge of managing users, creating accounts for all types of users, managing assignments, etc.
- **User Interface (Personalization):** depending on these user roles, the personalization layer will offer the corresponding services. This means that the user interface will not be the same for all the users. For example, General Practitioners and Researchers will access the reporting modules, while the elderly will access every service defined, such as the screening

questionnaires, the training modules to perform their exercises and the monitoring ones.

- **Privacy and security:** this module is in charge of ensuring the privacy and security of the information stored in the system, letting the users to access only the information that they are allowed to. As stated before, this module will be based on three main concepts: integrity, availability, and authenticity of the data. Furthermore, this module is the responsible for controlling the access, by using authentication methods that allows us to identify who tries to access the system, and so applying the corresponding authorization rules. For this purpose, the XACML standard will be used.
- **Interoperability & EHR:** this module is one of the main important ones, as the project aims to develop an interoperable platform. All the related functionalities will be controlled here, building the archetypes that will be used for the exchange of information, ensuring the semantic interoperability between the different parts. So, this module will be based on the CEN/ISO EN13606 interoperability standard for the exchange of EHR data.
- **Screening modules:** the main objective of this module is to manage the screening part of the platform, which is going to be used for assessing the frailty status of the elderly. This module will develop an easy to use multidimensional screening tool integrating different domains. This module will ensure that the users complete the screening and that the obtained results are properly stored in the system.
- **Training modules:** this module will focus on the integration of the different services modules that are going to be used within the project, for the three different domains: nutritional, physical, and cognitive. The system, once the screening process has been completed, will decide which training modules are suitable for the user to perform, also managing the communication between each stand-alone training service and the PERSSILAA platform. For the cognitive training, Guttman NeuroPersonalTrainer will be used [10]; for the physical training, the Condition Coach (CoCo) system will be used [11]; while for training the nutritional aspects, a specific website called Nutriageing has been defined and developed within the project.
- **Monitoring:** this module ensures that every action or activity carried out by the final users is stored in both the database and a log file, so the administrator can track every action related to any user and his/her data. This module will also be in charge of managing the network of sensors used for monitoring the daily physical activity of the elderly, such as Fitbit devices and Withings Smart Body Analyzer. Furthermore, the monitoring module will be responsible for managing the information regarding the monitoring of the elderly's daily

function (e.g. routine). A set of questionnaires, similar to those ones used for the screening, have been also defined, for monitoring the cognitive, nutritional and physical functioning of the user every three months.

- **Gamification layer:** Gamification means applying elements derived from game design to a program that is not a game itself, such as the PERSSILAA modules. Developing gamification as a layer covering all modules with close connection to the GUI and/or in the sense of details connecting underlying training modules and exercises in a playful manner can enhance engagement and create better adherence of the user to the exercises. Gamification may also incorporate a social networking component.
- **Communication devices:** this module focuses on the development of a set of libraries to implement the ISO/IEEE EN13606, making interoperable the communication between devices and the system. This set of libraries will allow to easily integrating each possible sensor that implements this family of standards.
- **Intelligent core:** this layer will be used to analyse all the data stored in the system (screening, training and monitoring modules) to extract knowledge by applying data mining techniques. Then, pattern recognition will be used to classify the user into profiles, so prediction of healthy risks and personalized advice in daily activities can be done, with the final goal of generating automatic feedback to the user. This module will manage a separate database specifically designed for knowledge extraction, in order to not overload the main clinical database.

3. Semantic interoperability for frailty prevention

Semantic interoperability refers to the provision of interoperability at the highest level, which is the ability of two or more systems or elements to exchange information and to use the information that has been exchanged [12]. Semantic interoperability takes advantage of both the structuring of the data exchange and the codification of the data including vocabulary so that the receiving information technology systems can interpret the data. This level of interoperability supports the electronic exchange of health-related financial data, patient-created wellness data, and patient summary information among caregivers and other authorized parties. In order to achieve this semantic interoperability, systems usually make use of one of the clinical terms repositories available, such as SNOMED-CT, that records clinical information in ways that enable meaning-based retrieval.

3.1. CEN/ISO 13606 European standard

The CEN/ISO EN13606 is a European norm from the European Committee for Standardization (CEN) also approved as an international ISO standard. It is designed

to achieve semantic interoperability in the electronic health record (EHR) communication. The overall goal of this standard is to define a rigorous and stable information architecture for communicating (parts of) the EHR of a single subject of care (patient) between EHR systems, or between EHR systems and a centralized EHR data repository.

To achieve semantic interoperability in the electronic health record (EHR) communication, CEN/ISO 13606 follows an innovative Dual Model architecture. The Dual Model architecture defines a clear separation between information and knowledge. The former is structured through a Reference Model that contains the basic entities for representing any information of the EHR. The latter is based on archetypes, which are formal definitions of clinical concepts, such as discharge report, glucose measurement or family history, in the form of structured and constrained combinations of the entities of a Reference Model. In other words, archetypes provide a semantic meaning to a Reference Model structure.

The interaction of the Reference Model (to store data) and the Archetype Model (to semantically describe those data structures) provides an unseen capability of evolution to the information systems. Knowledge (archetypes) will change in the future, but data will remain untouched.

In PERSSILAA, the software LinKEHR® has been used to define our archetypes [13]. LinKEHR is a software platform for the normalization and semantic representation of clinical data by means of archetypes and Electronic Health Record standards.

Semantic interoperability becomes crucial, as it is the key issue to provide the pieces of information we want to exchange with a meaning. In the PERSSILAA project, SNOMED-CT is used as the terminology to provide our archetypes with semantic interoperability. However, the main advantage of the CEN/ISO 13606 European standard is that we are not forced to maintain this terminology forever, and it would be easily changed if we decide to use another one.

4. Conclusions

The PERSSILAA project aims at defining new ways of providing services to screen for and prevent frailty in older adults. For that purpose, UPM has focused its work on the definition and implementation of an ICT-based interoperable infrastructure, which allows the integration of all the different modules.

The screening, training and monitoring modules have been already implemented and, now, both the platform and the services provided are being evaluated by more than 2,000 users in The Netherlands, and will be used soon by approximately 500 Italian users. From this experience, we will re-define the provided services and will improve the functionalities, trying to validate the new procedures proposed in this framework and evaluate if final users improve their quality of lives, getting older healthier. Then, future work will focus on this analysis and evaluation, and more results will be presented more

extensively. The gamification layer and the intelligent core have been already designed, and are now in the development phase. It is expected to start the validations of these two interesting modules by January 2016.

Acknowledgments

We want to thank to all the PERSSILAA project consortium, specially the Dutch team who is leading and coordinating the project.

References

- [1] World Health Organization. Ageing. Available online: <http://www.who.int/topics/ageing/en/>
- [2] Fairhall, N., Langron, C., Sherrington, C., Lord, S. R., Kurrle, S. E., Lockwood, K., ... & Cameron, I. D. (2011). Treating frailty-a practical guide. *BMC medicine*, 9(1), 83.
- [3] Ahmed N, Mandel R, Fain M J. Frailty: An emerging Geriatric syndrome. *American Journal of Medicine* 2007; 120, 748-753.
- [4] Fried LP, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J, Seeman T, Tracy R, Kop WJ, Burke G, McBurnie MA & Cardiovascular Health Study. Frailty in older adults: Evidence for a phenotype. *Journals of Gerontology Series a-Biological Sciences and Medical Sciences* 2001, 56, M146-M156.
- [5] Slaets JPJ. Vulnerability in the elderly: Frailty. *Medical Clinics of North America* 2006, 90, 593- 601.
- [6] Sternberg, S. A., Schwartz, A. W., Karunanathan, S., Bergman, H. & Clarfield, A. M. 2011. The Identification of Frailty: A Systematic Literature Review. *Journal of the American Geriatrics Society*, 59, 2129-2138.
- [7] Song X, Mitnitski A, Rockwood K. Prevalence and 10-year outcomes of frailty in older adults in relation to deficit accumulation. *J Am Geriatr Soc.* 2010 Apr;58(4):681-7. Epub 2010 Mar 22
- [8] Robinson TN, Wu DS, Stiegmann GV, Moss M. Frailty predicts increased hospital and six-month healthcare cost following colorectal surgery in older adults. *Am J Surg.* 2011 Nov;202(5):511-4.
- [9] IEEE Guide for Developing System Requirements Specifications, IEEE Std 1233, 1998 Edition.
- [10] Solana, J., Cáceres, C., García-Molina, A., Opisso, E., Roig, T., Tormos, J. M., & Gomez, E. J. (2015). Improving Brain Injury Cognitive Rehabilitation by Personalized Telerehabilitation Services: Guttman Neuropersonal Trainer. *Biomedical and Health Informatics, IEEE Journal of*, 19(1), 124-131.
- [11] Tabak, M., Brusse-Keizer, M., van Ommeren, C., Kotte, H., Weltevreden, P., Hermens, H., & Vollenbroek-Hutten, M. (2013). A telecare programme for self-management of COPD exacerbations and promotion of an active lifestyle. *European Respiratory Journal*, 42(Suppl 57), P4911.
- [12] Institute of Electrical and Electronics Engineers. IEEE Standard Computer Dictionary: A Compilation of IEEE Standard Computer Glossaries. New York, NY: 1990.
- [13] LinKEHR software platform, available online: <http://www.linkehr.com/> (last accessed September 2015)

Auditoría y mejoras en la seguridad de la aplicación Hospital VIHrtual: plataforma web responsive de telemedicina para el seguimiento de pacientes con VIH

C. Cáceres-Taladriz^{1,2}, J. Pérez-Silva², P. Chausa^{1,3}, A. León⁴, F. García-Alcaide⁴, E.J. Gómez-Aguilera^{1,3}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España, {ccaceres,pchausa,egomez}@gbt.tfo.upm.es

² Universidad Rey Juan Carlos, Móstoles, España, cesar.caceres@urjc.es, j.perezsi@alumnos.urjc.es

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

³ Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Clínic, Barcelona, España, {aleon,fgarcia}@clinic.ub.es

Resumen

Este trabajo describe la realización de una auditoría de seguridad de la aplicación Hospital VIHrtual, una plataforma web responsive de telemedicina con videoconferencia para el seguimiento de pacientes con VIH. Para ello se utiliza la metodología OWASP y se tienen en cuenta las recomendaciones que da la Agencia Española de Protección de Datos, en cumplimiento de la Ley Orgánica de Protección de Datos. Se realiza un análisis de las vulnerabilidades más comunes en las aplicaciones web, la ejecución de las pruebas necesarias para verificar que esas vulnerabilidades no afectan a la aplicación y la presentación de los resultados obtenidos tras la realización de las pruebas. Además, muestra la implementación de diversos mecanismos y sistemas de seguridad para dar mayor protección a los usuarios en referencia a la autenticación y acceso a la aplicación y ofrecer así una capa más de seguridad.

1. Introducción

El sistema Hospital VIHrtual, implantado en rutina clínica en el Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Clínic de Barcelona desde 2007, da servicio actualmente a más de 70 profesionales que atienden a unas 3000 personas infectadas por VIH (de los cuales 300 son atendidos de forma remota) [1]. A pesar de esto, la aplicación actual no se adecuaba a las nuevas tecnologías presentando una gran barrera de acceso tanto para los profesionales como para los pacientes ya que obligaba a utilizar un ordenador de sobremesa.

La demanda de movilidad por parte de los usuarios y el gran crecimiento del mercado de aplicaciones móviles motivaron el desarrollo de una nueva aplicación que conservaba la funcionalidad del sistema ya en uso pero que permitía el acceso al mismo desde cualquier dispositivo. Así, se desarrolló una plataforma web responsive compatible con todos los dispositivos y navegadores [2], que ofrece un servicio de telemedicina en terminales móviles incluyendo un sistema de videoconferencia basado en SIPm15.

Con el objetivo de reforzar la seguridad de la solución implementada, el presente trabajo describe la realización de una auditoría de seguridad y la implementación de

diversos mecanismos y sistemas de seguridad para dar mayor protección a los usuarios. La privacidad de datos y la seguridad de las aplicaciones cobra especial importancia en el desarrollo de sistemas y aplicaciones que manejan datos clínicos. Sin embargo, la alta demanda y la exigencia del mercado, origina que aparezcan aplicaciones inseguras y que en muchos casos no se apliquen los métodos y las recomendaciones de los organismos y las leyes que regulan estos aspectos [3].

El trabajo realizado utiliza la metodología OWASP y tiene en cuenta las recomendaciones de la Agencia Española de Protección de Datos (AEPD), en cumplimiento de la Ley Orgánica de Protección de Datos (LOPD). Además, refuerza el proceso de autenticación y acceso a la aplicación ofreciendo así una capa más de seguridad.

2. Materiales y métodos

2.1. Auditoría de seguridad

Una auditoría de seguridad consiste en realizar un estudio sobre un sistema o aplicación para identificar, enumerar y describir las vulnerabilidades que puedan existir haciendo uso de las técnicas o ataques más frecuentes.

Las vulnerabilidades web tienen su origen en defectos en el diseño e implementación de las aplicaciones, en la programación descuidada de las rutinas, en la pobre implementación de medidas de control de acceso o en la falta de validación y saneamiento de los datos de entrada.

2.1.1 Metodología OWASP

La auditoría de seguridad realizada sigue la guía publicada por OWASP: OWASP Testing Guide versión 4 [4]. Dentro de esta guía, la auditoría va encaminada a verificar las vulnerabilidades presentes en el **PHP TOP 5**, cuyo trabajo es revisar la aplicación en busca de las vulnerabilidades más habituales y que pueden tener un mayor impacto en el sistema.

- **Ejecución de código remoto:** este fallo de seguridad es, desde julio de 2004, el mayor problema que

presenta PHP y el que registra mayor número de ataques. Consiste en ejecutar código en la aplicación a través de llamadas al sistema. Por ello, cualquier entrada por parte del usuario debe ser debidamente filtrada. Las principales funciones que pueden presentar este problema son: eval(), system(), exec(), shell_exec().

- **Cross-site Scripting (XSS):** este tipo de ataque consiste en la inyección de código HTML en páginas webs que visitan los usuarios que se ejecutará en el navegador del usuario afectado. Existen tres tipos de vulnerabilidades XSS: locales (basadas en DOM), no almacenadas (reflejadas) o almacenadas (persistentes).
- **SQL injection:** consiste en intentar modificar sentencias que se ejecutan contra una base de datos para obtener diversa información de la misma (obtener contraseñas, entrar en alguna aplicación con login y password, etc.).
- **Configuración de PHP:** la configuración de PHP es importante para prevenir los ataques a las aplicaciones web y tiene una relación estrecha con algunos de ellos.
- **Ataques a ficheros del sistema:** los desarrolladores de PHP tienen muchas formas de saltarse la seguridad en servidores a través de los ataques a ficheros en local, concretamente en entornos compartidos. Este tipo de ataques son la inclusión de ficheros locales, la alteración de ficheros de sesión o la inyección de ficheros al subir archivos.

2.1.2 Aspectos legales de seguridad

El tratamiento de datos de carácter personal que se realiza en el ámbito hospitalario y, en particular los relacionados con la gestión de las historias clínicas o la investigación clínica, incluyen datos de salud, considerados datos sensibles o especialmente protegidos que tienen un régimen de garantías más reforzado.

2.1.3 Analizadores de código estático

Los analizadores de código estático son herramientas que se aplican directamente sobre el código fuente sin transformaciones previas. El objetivo es corregir las deficiencias de rendimiento que pueda haber, los errores de software, la complejidad del código y los problemas de seguridad y vulnerabilidades.

2.2. Mejoras de seguridad

2.2.1 Mejoras en la autenticación

En la actualidad existen diferentes métodos para hacer más seguro el acceso a las aplicaciones. El método más común de autenticación es el de usuario y contraseña pero existen otros más sofisticados entre los que destacan las tarjetas inteligentes y los sistemas biométricos, en todas sus variantes [5].

Las tarjetas inteligentes contienen un chip dentro de ellas que les permite procesar y almacenar la información de un usuario. El chip implementa sistemas de cifrado y funciones criptográficas, a diferencia de las tarjetas

normales que únicamente llevan una banda con información más limitada. En esta forma de autenticación destaca el alto nivel de seguridad, la facilidad de uso y la comodidad de usuario. Frente a ello, existen desventajas tales como la vulnerabilidad del PIN, la relativa facilidad de extravío, el posible deterioro y pérdida de funcionalidad y la necesidad de tener dispositivos que sean capaces de detectarla.

Los sistemas biométricos destacan por su comodidad de uso, ya que no requieren llevar ningún dispositivo encima ni recordar ninguna contraseña. El principal problema que tiene es su elevado coste, tanto de implantación como de mantenimiento.

2.2.2 Recuperación de la contraseña de usuario

Existen varias formas de recuperar la contraseña de usuario de una aplicación: a través de un correo electrónico, un teléfono móvil o una pregunta de seguridad. La primera de las opciones, en la que el usuario solicita que le manden a su correo electrónico un link para modificarla, es la más común de todas. El segundo método consiste en introducir un número de teléfono móvil que se asociará a la cuenta del usuario. Este método de recuperación envía un código al teléfono móvil asociado que el usuario deberá introducir en el apartado dedicado a ello en la aplicación y posteriormente elegir su contraseña. El tercer método consiste en introducir el correo electrónico asociado a la cuenta de la cual se quiere recuperar la contraseña y, posteriormente, contestar la pregunta de seguridad establecida. Después de esto, se dará opción de cambiar la contraseña por una nueva.

2.2.3 Cifrado de la base de datos

La criptografía hace referencia a las técnicas de cifrado o codificado destinadas a alterar las representaciones lingüísticas de ciertos mensajes con el fin de hacerlos ininteligibles a receptores no autorizados. Trabajar sobre una base de datos en texto plano hace que cualquier persona que acceda pueda ver todos los datos confidenciales relacionados con los usuarios. Este hecho constituye un problema de seguridad, más aun teniendo en cuenta que se trabaja con datos especialmente sensibles debido al tipo de aplicación (historias clínicas, informes sobre los pacientes, datos geográficos de los mismos, etc).

2.2.4 Integración del protocolo TLS/HTTPS

HTTPS es un protocolo de aplicación basado en el protocolo HTTP, destinado a la transferencia segura de datos de Hipertexto. El uso de este protocolo hace que las comunicaciones entre cliente y servidor estén cifradas de tal modo que un atacante que sea capaz de interponerse en la comunicación de las partes sólo puede ver un flujo de datos cifrados. La implementación de HTTPS, a diferencia con HTTP, evita ataques man-in-the-middle y eavesdropping y utiliza el puerto 443 en vez del puerto 80.

Este protocolo utiliza un sistema de cifrado basado en TLS, que es un protocolo criptográfico dedicado a proporcionar comunicaciones seguras en la red. El protocolo TLS, cuando inicia la conexión, realiza un

protocolo de handshake para establecer las características de la conexión (cifrados, métodos de comprensión y versión de protocolo SSL). Posteriormente se realiza el intercambio de los certificados y se negocia una clave secreta común que será la base de las demás claves que se generen.

Además de las mejoras de seguridad ya comentadas, este trabajo modifica la configuración de acceso a la base de datos y mejora el hash de la contraseña. Ambas medidas añaden un extra de seguridad a la aplicación.

3. Resultados

3.1. Auditoría de seguridad

3.1.1 Pruebas de seguridad OWASP

A continuación se describen las pruebas realizadas para verificar la seguridad de la aplicación.

- **Ejecución de código remoto:** en la aplicación este problema está resuelto ya que no se hace ninguna llamada a las funciones `eval()`, `system()`, `exec()`, `shell_exec()` y todas las llamadas a la función `include` dentro la aplicación están definidas por el propio desarrollador, sin depender de las entradas del usuario. En cualquier caso, las entradas introducidas por el usuario son verificadas de manera correcta.
- **Cross-site Scripting (XSS):** la aplicación valida siempre las entradas de los usuarios y estas se filtran con la función predefinida de PHP `strip_tags`. Dicha función tiene como objetivo limpiar todas las etiquetas HTML y PHP que se quieran introducir en los formularios como parámetros de entrada del usuario.
- **SQL injection:** toda la comunicación realizada contra la base de datos se hace a través de PHP Data Objects (PDO), que es una extensión de PHP que da una capa de abstracción de acceso a los datos y toda la comunicación se realiza a través de sentencias preparadas.
- **Configuración de PHP:** se han llevado a cabo las recomendaciones de seguridad deshabilitando las siguientes opciones en el fichero de configuración `php.ini`: `register_globals`, `allow_url_open`, `magic_quotes_gpc`, `magic_quotes_runtime`. Además, también se han configurado de manera adecuada las opciones `safe_mode` y `open_basedir`.
- **Ataques a ficheros del sistema:** en la aplicación las entradas realizadas por los usuarios no son usadas para cargar o incluir algún fichero, por lo que no es necesario verificar este ataque.

3.1.2 Aspectos legales de seguridad

La base de datos con la que trabaja la aplicación ha sido cifrada conforme a lo dispuesto en los artículos 7.3 y 44.4 de la LOPD y el artículo 81 del RLOPD. El algoritmo utilizado ha sido AES 256. Además, se hace uso de una conexión segura entre la base de datos y los usuarios gracias al uso del protocolo TLS/SSL, encargado de cifrar todas las conexiones mantenidas. Finalmente, se ha

trabajado en la trazabilidad de los datos de forma que cualquier modificación que se haga en la base de datos queda registrada para saber el autor de la misma.

3.1.3 Analizadores de código estático

El analizador de código estático utilizado es RIPS, válido para todo código escrito en PHP. La Figura 1 muestra que se han escaneado los archivos de la aplicación y no se ha encontrado ninguna vulnerabilidad.

Result	
No vulnerabilities found.	
Scanned files:	141
Include success:	2669/2671 (100%)
Considered sinks:	279
User-defined functions:	710
Unique sources:	7
Sensitive sinks:	10984
Info:	Code is object-oriented This is not supported yet and can lead to false negatives
Info:	uses sessions
Scan time:	209.224 seconds

Figura 1 - Resultados del analizador de código estático

Los resultados obtenidos tras realizar las pruebas manuales y el escaneo de vulnerabilidades con un analizador estático demuestran que el Hospital VIHrtual es una aplicación segura.

3.2. Mejoras de seguridad

3.2.1 Mejoras en la autenticación

Los sistemas de autenticación alternativos que se han analizado (tarjetas inteligentes y sistemas biométricos) requieren dispositivos adicionales, son más caros y su implementación es más compleja. Por tanto, se ha mantenido la autenticación por contraseña mejorando el proceso con dos capas más de seguridad: en primer lugar denegar el acceso al sistema cuando el usuario lo desee a través de una aplicación y, en segundo lugar, implementar la verificación en dos pasos. Ambas soluciones se han implementado mediante la aplicación móvil Latch [6].

Respecto a la denegación del acceso, al integrar Latch los usuarios pueden desde su terminal móvil (que ha sido previamente pareado con su cuenta de Hospital VIHrtual) poner un “pestillo” a la cuenta. Esta permanecerá cerrada y no se podrá acceder a ella, ni siquiera introduciendo correctamente el usuario y contraseña, hasta que no se “abra” ese pestillo desde la aplicación Latch en el móvil.

La verificación en dos pasos consiste en un sistema de seguridad que nos proporciona, a través de un código enviado al terminal móvil del usuario, un segundo factor de autenticación. Es decir, cuando un usuario haya introducido sus credenciales (usuario y contraseña) se le pedirá un código, que le ha sido enviado como notificación push a su aplicación del móvil, para verificar que, efectivamente, ese usuario es quien dice ser y pueda acceder a su cuenta.

3.2.2 Recuperación de la contraseña de usuario

En la aplicación Hospital VIHrtual se ha implementado la recuperación de la contraseña a través de correo electrónico debido al bajo coste, a la seguridad ofrecida y a la relativa sencillez de implementación. La recuperación se hará a través del DNI asociado al usuario. Una vez éste haya introducido su DNI, recibirá un correo electrónico con las instrucciones a seguir para recuperar su contraseña.

Figura 2 - Recuperación contraseña de usuario

3.2.3 Cifrado de la base de datos

El método de cifrado que se ha utilizado es el de criptografía simétrica debido a la seguridad que ofrece y a la sencillez de implementación. El algoritmo utilizado para el cifrado es AES-256, uno de los algoritmos más seguros y populares en la criptografía simétrica. Se trata de un algoritmo de cifrado de bloques y se utiliza en modo CBC. Adicionalmente, se utiliza un hash de la clave para hacer más seguro el proceso de cifrado.

3.2.4 Integración del protocolo TLS/HTTPS

Para utilizar el protocolo TLS y lograr una comunicación segura HTTPS con el servidor web empleado (XAMPP) es necesario disponer de un certificado digital en dicho servidor. Para las pruebas de la plataforma se ha generado un certificado autofirmado que deberá por tanto ser importado como certificado de confianza por el navegador.

3.2.5 Otras mejoras

Configuración de acceso a la base de datos

El acceso a la base de datos debe estar controlado en todo momento, siguiendo la regla del mínimo privilegio. Esto no se cumplía pues se accedía a la base de datos con el usuario "root" y sin contraseña, lo que dejaba la puerta abierta a que usuarios desde la aplicación fueran capaces de ejecutar órdenes con todos los privilegios. Para solucionar este problema de seguridad, se ha creado un usuario estándar, con privilegios restringidos, a través del cual los usuarios pueden acceder a la base de datos. Esto supone un mayor control sobre qué tipo de operaciones pueden ejecutar los mismos.

Mejora del hash de la contraseña

La manera de verificar que un usuario es quien dice ser se realiza a través de la autenticación con su DNI y contraseña. La base de datos no almacena la contraseña

sino un hash de la misma. El proceso de autenticación consiste en generar un hash de la contraseña introducida por el usuario y ver si coincide con la almacenada en la base de datos, en cuyo caso se dará acceso al usuario.

La función hash implementada para hacerlo utilizaba el algoritmo SHA1, que genera un resumen 160 bits y actualmente su seguridad está en entredicho. Por ello se ha decidido cambiar a otro algoritmo más robusto de la familia SHA2, el SHA512, con una salida de 512 bits. La implementación interna es similar pero realiza más interacciones durante el proceso de cifrado.

4. Conclusiones

El auge de las nuevas tecnologías y la alta penetración de los dispositivos móviles han hecho proliferar los servicios y aplicaciones orientados a gestionar y mejorar la salud de los ciudadanos. La alta demanda por parte de los usuarios hace que en muchas ocasiones los sistemas y aplicaciones lleguen al mercado con graves carencias en cuanto a seguridad y privacidad en el tratamiento de los datos. Esto cobra especial relevancia cuando se manejan datos de salud, considerados datos sensibles por la AEPD.

Con el objetivo de reforzar la seguridad y la privacidad de los datos de los pacientes, este trabajo presenta la realización de una auditoría de seguridad a la aplicación Hospital VIHrtual, una plataforma web responsive de telemedicina con videoconferencia para el seguimiento de pacientes con VIH. Además, se han implementado mejoras y añadido nuevos servicios o funcionalidades que otorgan una capa más de seguridad. Los resultados obtenidos en la auditoría y las mejoras introducidas nos permiten afirmar que la aplicación Hospital VIHrtual es segura.

Referencias

- [1] León A, Cáceres C, Fernández E, Chausa P, Martín M, et al. A New Multidisciplinary Home Care Telemedicine System to Monitor Stable Chronic Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients: A Randomized Study. PLoS ONE, 6(1): e14515. doi: 10.1371/journal.pone.0014515 (ISSN: 1932-6203)
- [2] Cáceres-Taladriz C, Vaíllo D, Chausa P, León A, García F, Gómez EJ. Plataforma web responsive de telemedicina con videoconferencia para el seguimiento de pacientes con VIH desde sus terminales móviles. XXXII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica, CASEIB 2014.
- [3] Martínez-Pérez B1, de la Torre-Díez I, López-Coronado M. Privacy and security in mobile health apps: a review and recommendations. J Med Syst. 2015 Jan;39(1):181. doi: 10.1007/s10916-014-0181-3. Epub 2014 Dec 7.
- [4] OWASP. OWASP Testing Guide v4. https://www.owasp.org/images/5/52/OWASP_Testing_Guide_v4.pdf (Consultado en Septiembre de 2015).
- [5] Villalón A. Seguridad en Unix y redes. Julio 2002. Capítulo 8. Autenticación de usuarios. <https://www.rediris.es/cert/doc/unixsec/unixsec.pdf> (Consultado en Septiembre de 2015).
- [6] Latch. <https://latch.elevenpaths.com/> (Consultado en Septiembre de 2015).

Virtual Carer: Sistema de soporte adaptado a cuidadores informales de personas mayores

P.A Moreno^{1,2}, S. Chernbumroong³, C. Langensiepen³, A. Lotfi³, M^a. Elena Hernando^{1,2}, E.J. Gómez^{1,2}

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

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

³ School of Science and Technology, Nottingham Trent University, Nottingham, United Kingdom.
{saisakul.chernbumroong, caroline.langensiepen, ahmad.lotfi}@ntu.ac.uk

Resumen

Debido al envejecimiento progresivo de la población, para el mantenimiento de la calidad de las personas mayores se demandan nuevos modelos de cuidado. Tales modelos involucran de manera crucial al cuidador informal el cual suele carecer del conocimiento y habilidades para desarrollar las tareas de asistencia y cuidado. Por ello, la asistencia en la toma de decisiones y el empoderamiento de los cuidadores son esenciales para reducir y prevenir la carga y el estrés que sufren en el desarrollo de las tareas asistenciales. En este trabajo se describe el funcionamiento de un sistema de soporte personalizado para los cuidadores informales llamado Virtual Carer. El sistema crea y ofrece al cuidador informal una serie de recomendaciones adaptadas a posibles problemas que puede sufrir en la realización de las actividades diarias de cuidado detectadas por una serie de sensores distribuidos por el domicilio. La información relativa a las recomendaciones es enviada al cuidador informal a través de notificaciones por sms o correo electrónico, o mediante videos formativos accesibles en un sistema de e-learning. A modo de ejemplo se ha presentado, un caso particular del funcionamiento del sistema Virtual Carer centrado en el procesamiento de información asociada a alteraciones en los patrones de sueño de los cuidadores informales.

1. Introducción

Actualmente, el progresivo envejecimiento de la población hace necesario el cuidado personalizado para mantener la calidad de vida de las personas mayores en el domicilio. De esta manera, debido a la demanda de cuidado de las personas mayores, se deben desarrollar nuevos modelos de cuidado en los cuales los cuidadores informales desempeñan un papel fundamental como una de las fuentes de cuidado de las personas mayores más importantes [1].

El cuidado domiciliario a medio-largo plazo de una persona mayor involucra profundamente a los cuidadores informales (que a menudo es el cónyuge o un familiar cercano), los cuales corren el riesgo de desarrollar síntomas de depresión, estrés, y fatiga a la vez que su vida social, laboral y económica se ve negativamente afectada [2]. Además, en muchas ocasiones el cuidador informal no suele estar adecuadamente preparado para estas situaciones creándole una gran sensación de inseguridad. Dada la alta carga psicológica y laboral de estos cuidadores, es

necesario proporcionarles el soporte adecuado para ayudarles en las tareas de cuidado y reducir su sobrecarga [3]. Así, los cuidadores informales tienen un amplio rango de necesidades sociales y de cuidado: soporte psicológico; formación y educación; información y recomendaciones de cuidado, promoción de la interacción social; actividades de ocio; y reconciliación entre las tareas de cuidado y del trabajo [4].

El empleo de las tecnologías de la información y las comunicaciones pueden proporcionar nuevos medios y soluciones para que los cuidadores cubran sus demandas de atención y soporte [5]. Además, cada cuidador informal tiene características individuales que deben ser consideradas a la hora de ofrecerles una solución. Entre las soluciones para los cuidadores informales basadas en las TIC destacan: a) tecnologías que permite a la persona mayor permanecer en su domicilio sin un soporte continuo de cuidado liberando así al cuidador; b) acceso remoto a información y formación sobre temas de cuidado; c) integración social así como redes sociales para ofrecer soporte social y emocional; y d) herramientas para coordinar las tareas de cuidado [6]. En concreto los servicios TIC que permiten un acceso remoto a información y formación sobre temas de cuidado permiten a los cuidadores mejorar sus competencias para el proceso de cuidado y les infunden sensación de seguridad en las prácticas que realizan. Estas soluciones suponen a su vez una herramienta de soporte a la decisión para alcanzar objetivos determinados en el proceso de cuidado.

El sistema descrito denominado “Virtual Carer” ha sido desarrollado dentro del proyecto iCarer que propone el diseño y la implementación de una plataforma dedicada al soporte del cuidador informal para reducir los niveles de estrés y mejorar su calidad de vida y la calidad de los cuidados que proveen. La plataforma iCarer monitoriza el estado psicológico de los cuidadores informales así como las actividades diarias de cuidado (“Activities of Daily Care-ADC”) para detectar el estrés del cuidador en una fase temprana. En función de los problemas detectados en el cuidador, se realiza la provisión de una serie de recomendaciones para mejorar su estado. Además, ofrece un servicio de eLearning para el intercambio y gestión de

contenidos que permiten al cuidador mejorar aquellos cuidados que le suponen una carga de estrés.

2. Estado del arte de sistemas de soporte adaptado a cuidadores informales

La asistencia personalizada de los cuidadores supone una pieza fundamental para un soporte efectivo y para preservar la calidad de vida de las personas mayores a las que atienden. La información sobre los procesos de cuidado cobra especial relevancia en el soporte de los cuidadores y puede estar relacionada con servicios de monitorización, alertas basadas en eventos e informes de actividad de los propios cuidadores [7].

De esta manera, el portal eHM Dementia Portal (eHM-DP) [8] se centra en el empoderamiento del cuidador informal ofreciendo servicios de soporte de ayuda a la decisión, datos individuales acerca del estado de la persona mayor, e información sobre las tareas de cuidado y el estado de salud del cuidador. El portal cuenta con un subsistema de gestión de conocimiento que permite la provisión de recomendaciones personalizadas de salud en función del perfil y la situación del cuidador.

Por otra parte el proyecto CareNet [9] propone un entorno interactivo que aborda las necesidades de los cuidadores informales ofreciéndoles información y guiado en el proceso de cuidado, consiguiendo una comunicación eficiente con los profesionales sanitarios y otros cuidadores, y coordinando los eventos de cuidado entre los cuidadores. El proyecto CareNet permite etiquetar la información (sugerencias, guías de cuidado, etc.) que se provee para mejorar la provisión y la gestión de conocimiento en el soporte a los cuidadores.

Hossain et.al. [10] propone un sistema que captura el contexto de las actividades de la vida diaria de la persona mayor mediante sensores de monitorización y un conjunto de reglas para determinar el tipo de soporte para la persona mayor, involucrando al cuidador informal en su asistencia.

El proyecto Virtual Healthcare Neighborhood [11] ofrece a los cuidadores un número de módulos educativos relacionados con el cuidado de personas con demencia que tratan sobre problemas de sueño en los cuidadores, soporte a relaciones sociales, y estrategias para el empoderamiento de los cuidadores. Estos contenidos se proveen a través de: un blog interactivo con funciones de red social, una página web con preguntas y respuestas, y videos formativos.

La plataforma iCarer propone un avance en los sistemas presentados al ofrecer al cuidador recomendaciones personalizadas en función de las tareas de cuidado y las actividades de la vida diaria que realizan, ya que se monitoriza su actividad a través de sensores colocados en su domicilio. Aparte de estas recomendaciones, iCarer provee contenidos formativos para mejorar la condición del cuidador. Por otra parte, se monitoriza la actividad de la persona mayor para considerarla a la hora de proponer las recomendaciones y contenidos formativos al cuidador. Además, iCarer refuerza el soporte al cuidador ofreciéndole un foro donde puede interactuar con otros cuidadores mejorando su interacción social.

3. Material y métodos

El sistema Virtual Carer ha sido desplegado en un servidor web a través de un web service con interfaz REST. De esta manera, a través de una petición POST recibirá los problemas ocurridos al cuidador que se expresarán en un archivo en formato JSON.

Una vez recibido el problema, la correspondiente inferencia de las recomendaciones a proveer se realizará mediante diversas peticiones a una base de datos MySQL. Posteriormente, el envío de las recomendaciones a enviar se realizará empleando una interfaz REST a través de mensajes POST con contenido JSON.

4. Resultados

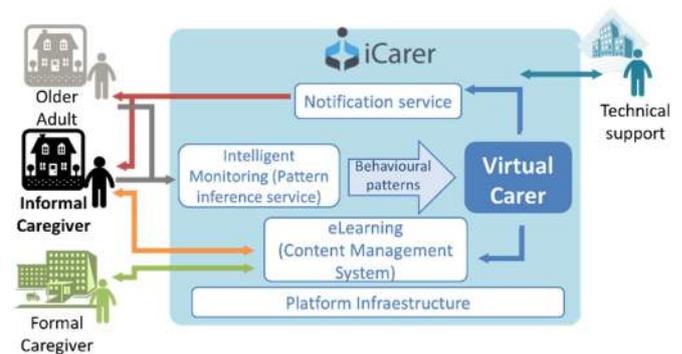


Figura 1: Plataforma iCarer

Tal y como se ve en la figura 1, el sistema Virtual Carer supone una pieza fundamental en la plataforma iCarer [11] ya que genera recomendaciones personalizadas para los cuidadores informales en función de los problemas que sufren reduciendo su estrés y sobrecarga. Para ello, una vez se infieren los patrones de comportamiento (*Behavioural Pattern*) a través de sensores que permiten la monitorización de las ADC (módulo *Intelligent Monitoring – Pattern Inference Service*), si se detecta un problema se enviará un feedback instantáneo al cuidador informándole del problema y ofreciéndole una posible solución. Esta solución se provee al cuidador a través de videos formativos proporcionados por un sistema de e-learning (*eLearning - Content Management System*), o a través de recomendaciones enviadas a través de sms o correo electrónico por un servicio de notificación (*Notification Service*).

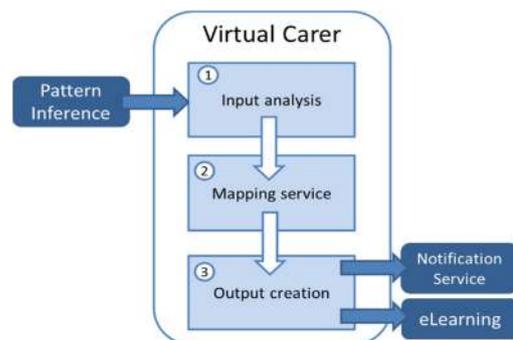


Figura 2: Etapas de funcionamiento de Virtual Carer

Para la creación del feedback instantáneo, el sistema Virtual Carer está compuesto por tres etapas representadas en la Figura 2.

La etapa *Input analysis* está destinada a procesar la información recibida del servicio *Pattern Inference*. Esta información, que se estructura a través de una serie de etiquetas, comprende el instante en el cual se infiere el problema (“DateInferred”), el lugar del domicilio donde ha ocurrido el problema (“Location”), el usuario (“Owner”), el nivel de severidad del problema (“ProblemLevel”), y una serie de etiquetas que describen el problema (“ProblemKeyword”, junto con “ProblemMetadata”). Para un ejemplo en el que se describen problemas en los patrones de sueño de un cuidador informal, la información quedaría de la siguiente forma:

```
{ "DateInferred": "2015-07-21T15:46:00.000",
  "Location": "Bedroom",
  "Owner": "JOHN-1547-TEST-1234",
  "Type": "Problem",
  "ProblemKeyword": "Sleep",
  "ProblemMetadata": ["Start time below norm",
  "Duration below norm"],
  "ProblemLevel": "Intermediate" }
```

Debido a que se consideran dos tipos de valores en la etiqueta “ProblemLevel” que están asociados a la severidad del problema (“high” o “intermediate”), se establece un flujo de acciones mostradas en la Figura 3 en función de dicho valor. Si la severidad del problema es alta (“high”) se llevará a cabo de manera inmediata la inferencia de la recomendación para ser enviada al cuidador informal en tiempo real. Por el contrario si dicha severidad es intermedia, el Virtual Carer almacenará los metadatos (“ProblemKeyword” y “ProblemMetadata”) del problema recibido y al final del día, o un período concreto de 24 horas, inferirá la recomendación correspondiente a todos los metadatos almacenados para ser enviada al cuidador informal.

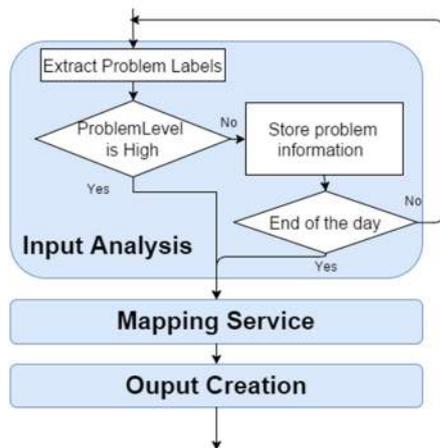


Figura 3 Procesado del problema en función de “ProblemLevel”

Una vez ha sido procesada la información relativa al problema, se envían los metadatos a la etapa *Mapping Service* para que a través de una serie de reglas se obtengan

las recomendaciones a proveer dependiendo del problema. Dichas reglas están basadas en dos bases de datos relacionales denominadas “problemtable” y “solutiontable”. En función de los valores “ProblemKeyword” y “ProblemMetadata” se obtiene una serie de valores para una variable denominada “ProblemIssue”. Una vez obtenido este valor, se utilizará en la tabla “solutiontable” para obtener un conjunto de metadatos, denominados “solutionTags”, que servirán para crear la recomendación adecuada. Como ejemplo de este proceso se muestra en la Tabla 1 los metadatos “solutionTags” asociados al “ProblemKeyword” sleep y a los valores definidos de “ProblemMetadata” y sus correspondientes “ProblemIssue”.

Cuando se han obtenido los metadatos relativos a la recomendación a enviar, se procederá en la etapa *Output Creation* a la composición de la información que será enviada a los servicios de notificación y de e-learning. En el caso del servicio de notificación es necesario enviar información sobre: el cuidador que será el destinatario del mensaje, el instante en el que ocurrió el problema, el tipo de mensaje a enviar, y los metadatos relativos a la recomendación. Por otra parte, al servicio de e-learning se le enviará la misma información que al servicio de notificación pero en lugar de los metadatos de la recomendación se enviará el valor de la etiqueta “ProblemKeyword” ya que así se ofrecerá al cuidador una serie de contenidos relacionados con problemas asociados a un determinado ámbito (en el caso del ejemplo, contenidos dirigidos a la mejora de los patrones de sueño).

5. Discusión y conclusiones

El papel de los cuidadores informales se torna fundamental en el mantenimiento de la calidad de vida de las personas mayores. Por ello, la asistencia en la toma de decisiones y el empoderamiento de los cuidadores son esenciales para reducir y prevenir la carga y el estrés que sufren en el desarrollo de las tareas asistenciales. De manera particular, la provisión individualizada de información a través de las TIC está valorada como uno de los mejores beneficios percibidos por los cuidadores informales. Esta percepción de utilidad se debe a que supone un soporte a situaciones individuales de cuidado e implica una reducción del tiempo en la búsqueda de información [2].

En este trabajo se describe el funcionamiento de un sistema de soporte personalizado para cuidadores informales llamado Virtual Carer. El sistema ofrece al cuidador informal una serie de recomendaciones adaptadas a posibles problemas que puede sufrir en la realización de las actividades diarias de cuidado. Así, en función de los patrones de comportamiento inferidos a partir de los datos ofrecidos por una serie de sensores distribuidos por el domicilio, el sistema Virtual Carer decidirá la información a proveer más conveniente para revertir la situación del cuidador.

		ProblemMetadata						
ProblemKey word: Sleep		Frequency above norm	Frequency below norm	Duration above norm	Duration below norm	None Activity	Start time above norm	Start time below norm
ProblemIssue	Sleep Frequency	-Regular Schedule -Bed Ritual						
	Sleep Duration			-Regular Exercise Routine -Wind Down Body -Mind Relaxing -Forget Problems				
	No sleep					-Visit Doctor		
	Sleep start time						-Regular Schedule -Bed Ritual	

Tabla 1: Correspondencia entre “ProblemIssue” y “SolutionTags”

Se ha presentado, un caso particular del funcionamiento del sistema Virtual Carer centrado en el procesamiento de información asociada a alteraciones en los patrones de sueño de los cuidadores informales. Se considera de utilidad este ejemplo ya que muchos de los cuidadores que sufren de estrés y sobrecarga lo achacan a la ansiedad, sensación de depresión y problemas de sueño [11].

El sistema Virtual Carer presenta un avance respecto a otras soluciones de soporte al cuidador al proponerle recomendaciones adaptadas a problemas que sufre inferidos a partir de patrones de comportamiento capturados por sensores repartidos en su domicilio. Por otra parte Virtual Carer provee tales recomendaciones a través de notificaciones simples y a través de contenidos formativos. Esta aproximación tiene al cuidador como centro del sistema, y no a la persona mayor como proponen otras soluciones revisadas, dando prioridad a sus actividades y estado para poder determinar el soporte personalizado que necesita.

El proyecto iCarer será validado próximamente considerando exclusivamente problemas relacionados con los patrones de sueño y stress del cuidador. Por tanto, el funcionamiento del sistema Virtual Carer mejorará a medida que se consideren otros problemas del cuidador (nutrición, actividad física, etc.)

Agradecimientos

El proyecto iCarer (AAL-2012-5-239) ha sido financiando por el programa JP Ambient Assisted Living y por la convocatoria 2012 de concesión de ayudas del Subprograma de Proyectos de Investigación en Salud (PI12/03113).

Referencias

[1] E. Pérez-Castrejón and J. J. Andrés-Gutiérrez, “AAL and the Mainstream of Digital Home,” in *Bio-Inspired Systems: Computational and Ambient Intelligence*, Springer, 2009, pp. 1070–1082.

[2] S. Carretero, J. Stewart, and C. Centeno, “Information and communication technologies for informal carers and paid assistants: benefits from micro-, meso-, and macro-levels,” *Eur. J. Ageing*, vol. 12, no. 2, pp. 163–173, Jun. 2015.

[3] K. I. Stajduhar, L. Funk, and L. Outcalt, “Family caregiver learning—how family caregivers learn to provide care at the end of life: A qualitative secondary analysis of four datasets,” *Palliat Med*, vol. 27, no. 7, pp. 657–664, Jul. 2013.

[4] V. Fuchsberger, “Ambient assisted living: elderly people’s needs and how to face them,” in *Proceedings of the 1st ACM international workshop on Semantic ambient media experiences*, 2008, pp. 21–24.

[5] European Health Telematics Association Report, “Sustainable Telemedicine: paradigms for future-proof healthcare”, Sustainable Telemedicine Task Force, 2008.

[6] S. Carretero, J. Stewart, C. Centeno, F. Barbabella, A. Schmidt, F. Lamontagne-Godwin, and G. Lamura, “Can technology-based services support long-term care challenges in home care? Analysis of evidence from social innovation good practices across the EU CARICT Project Summary Report,” Institute for Prospective and Technological Studies, Joint Research Centre, 2012..

[7] A. S. Hwang, K. N. Truong, J. I. Cameron, E. Lindqvist, L. Nygard, and A. Mihailidis, “Co-Designing Ambient Assisted Living (AAL) Environments: Unravelling the Situated Context of Informal Dementia Care,” *Biomed Res. Int.*, p. 720483, 2015.

[8] S. Schaller, V. Marinova-Schmidt, J. Gobin, M. Criegee-Rieck, L. Griebel, S. Engel, V. Stein, E. Graessel, and P. L. Kolominsky-Rabas, “Tailored e-Health services for the dementia care setting: a pilot study of ‘eHealthMonitor,’” *BMC Med. Inform. Decis. Mak.*, vol. 15, p. 58, Jul. 2015.

[9] S. L. Fenton, H. D. Covvey, D. W. Mulholland, D. D. Cowan, J. Shamian, and B. Schroeder, “A Web-Based Communities of Practice Support System for Caregivers,” in *Medinfo 2007: Proceedings of the 12th World Congress on Health (medical) Informatics, Pts 1 and 2*, vol. 129, K. A. Kuhn, J. R. Warren, and T. Y. Leong, Eds. Amsterdam: I O S Press, 2007, pp. 993–996.

[10] M. A. Hossain and D. T. Ahmed, “Virtual Caregiver: An Ambient-Aware Elderly Monitoring System,” *IEEE T. Inf. Technol. Biomed.*, vol. 16, no. 6, pp. 1024–1031, Nov. 2012.

[11] C. Fowler, T. Haney, and C. M. Rutledge, “An Interprofessional Virtual Healthcare Neighborhood for Caregivers of Elderly With Dementia,” *JNP-J. Nurse Pract.*, vol. 10, no. 10, pp. 829–834, Dec. 2014.

[12] P. A. Moreno, J. L. Garcia-Pacheco, J. Charvill, A. Lofti, C. Langensiepen, A. Saunders, K. Berckmans, J. Gaspersic, L. Walton, M. Carmona, S. Perez de la Camara, R. Sanchez-de-Madariaga, J. Pozo, A. Munoz, M. Pascual, and E. J. Gomez, “iCarer: AAL for the Informal Carers of the Elderly.,” *Studies in health technology and informatics*, vol. 210, pp. 678–80, 2015

HAZLO: Plataforma de telesalud basada en tecnologías mhealth para el despliegue de programas personalizados de rehabilitación cardiaca fase II

S. Pérez de la Cámara¹, M.Carmona¹, MJ de Tena-Dávila¹, F. López¹, J.Pozo Peralta¹, JL García Pacheco¹, E.Velasco², L.Portabales², P. García-Sagredo¹, A. Muñoz Carrero¹, C. de Pablo Zarzosa², M. Pascual Carrasco¹

¹Unidad de Investigación en Telemedicina y e-Salud, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España, sperezd@isciii.es

²Unidad de Rehabilitación Cardiaca, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España

Resumen

Actualmente, los Programas de Rehabilitación Cardiaca, tanto en provisión presencial como domiciliaria, afrontan la necesidad de incrementar sus tasas de adopción y adherencia, y en estos retos, los servicios de telesalud basados en mhealth comienzan a jugar un papel relevante, aunque la evidencia es fragmentada y de baja calidad. Se ha implementado un servicio de telesalud que despliega un programa basado en actividades terapéuticas de rehabilitación física (marcha) y psicológica (relajación), contenidos educativos para la autogestión, y herramientas para la interacción virtual (mensajería, videollamada y foros). Se presenta en este trabajo la descripción del servicio y los resultados del pilotaje (41 pacientes, 5 meses), para evaluar la viabilidad en términos de operatividad-funcionalidad en cada uno de sus componentes y adherencia a los protocolos por parte de los pacientes. Se ha iniciado un ensayo aleatorizado controlado (128+128 pacientes) para estudiar la no inferioridad en resultados clínicos del modelo de provisión basado en telesalud frente al tradicional; adicionalmente, se estudiarán la mejora en calidad de vida, satisfacción y usabilidad.

1. Introducción

Los programas de rehabilitación cardiaca (PRC) son intervenciones multifactoriales y multidisciplinares, constituidas por actividades secuenciadas de valoración clínica y terapéuticas dirigidas al paciente con el objetivo de mejorar la condición física y psicosocial, la educación en la gestión de factores de riesgo y la adopción de hábitos de vida saludable. Los PRC son considerados indicación de Clase I por las sociedades europea y americanas de cardiología [1].

Los PRC son estructurados en tres fases consecutivas: Fase I, periodo de hospitalización tras el evento cardiaco adverso; Fase II, de 2 a 6 meses, durante los que el paciente lleva a cabo un programa estructurado de actividades terapéuticas y de valoración clínica, con objetivos claros e interacción con los profesionales sanitarios, que incluye principalmente: actividad física, monitorización de factores de riesgo y educación para la autogestión de la condición de salud y la promoción de hábitos de vida saludable; Fase III, durante la que el paciente debe aplicar y continuar de manera autónoma con las pautas aprendidas durante el resto de su vida.

La Fase II constituye el núcleo de los PRC, y su modelo de provisión tradicional se desarrolla en Unidades de

Rehabilitación Cardiaca, altamente estructuradas, dirigidas a un amplio rango de condiciones cardiovasculares y niveles de riesgo, que ofrecen programas presenciales y supervisados, limitados en el tiempo y orientados al trabajo en grupo. Como alternativa al modelo tradicional, los PRC domiciliarios (PRCD) son también reconocidos desde hace más de dos décadas. Los PRCD se desarrollan de manera autónoma por el paciente en su hogar (no supervisados); son flexibles, adaptados a preferencias/ necesidades individuales, favorecen la autogestión del paciente (proactividad) y son la alternativa única para pacientes que no pueden optar a programas supervisados. La evidencia demuestra que para perfiles de riesgo bajo y medio-bajo, no hay inferioridad en los resultados de los PRCD respecto a los PRC supervisados en relación a la mortalidad, morbilidad, calidad de vida y factores de riesgo [2]. A pesar de todos los beneficios sociosanitarios demostrados, los PRC afrontan tradicionalmente un doble reto: incrementar el (insuficiente) nivel de adopción (referencia, acceso y participación), cuyas causas no solamente están relacionadas con el paciente y su entorno, sino también con la propia organización de los sistemas de salud; y mejorar la adherencia a largo plazo del paciente a las pautas y hábitos adquiridos. Para afrontar estos retos, se ha expresado la necesidad de proponer modelos alternativos de provisión de PRC que implementen aproximaciones innovadoras, sensibles a la diversidad de colectivos (necesidades y preferencias) [3].

En el ámbito específico de la rehabilitación cardiaca, una reciente revisión ha analizado la evidencia actual sobre la efectividad de los modelos alternativos de provisión de PRC, concluyendo en que los programas domiciliarios basados en telesalud, multifactoriales, flexibles, con soporte formal por profesionales, adaptados al perfil de riesgo, preferencias y que proporcionen autonomía, mejoran el riesgo cardiovascular del paciente [4]. No obstante, se pone de manifiesto la necesidad de incrementar las experiencias prácticas y la realización de estudios experimentales que incrementen la base de evidencia ya que, actualmente, ésta sigue siendo escasa, fragmentada y de baja calidad [5].

2. Objetivo

Implementar un servicio de telesalud (HAZLO) que posibilite el despliegue de PRC Fase II mediante un

modelo denominado “e-supervisado”, dirigido a los ámbitos prioritarios que deben cubrir los PRC basados en telesalud [6]: reacondicionamiento físico y psicológico y autogestión de factores de riesgo cardiovascular. El servicio aporta valor añadido en los siguientes aspectos:

- Personalización y ajuste dinámico del PRC a partir de la valoración y gestión individualizada del riesgo cardiovascular
- Seguimiento clínico e interacción virtual entre profesionales sanitarios y pacientes
- Objetivación de los resultados en las actividades terapéuticas realizadas por el paciente
- Asistencia y guía automatizada al paciente durante la realización de las actividades terapéuticas

Como paso previo a la evaluación clínica del servicio, se ha llevado a cabo una fase de pilotaje que ha permitido valorar la funcionalidad-operatividad de los componentes del servicio y la adherencia de los pacientes a los protocolos establecidos. En este trabajo se presenta una descripción del servicio de telesalud (apdos 3.1 a 3.3), la metodología de evaluación clínica (apdo 3.4), y los resultados de la fase de pilotaje (apdo 4).

3. Material y métodos

El modelo “e-supervisado” (Figura 1) ofrece soporte a los PRCD de manera personalizada, ubicua y segura, mediante servicios y herramientas tecnológicas en el ámbito de la telemonitorización (biomédica, actividad, síntomas), la gestión de información (personalización, seguimiento de actividades, provisión de contenidos educativos multimedia) y la interacción virtual (asistencia y guía automatizada a pacientes en las actividades terapéuticas, mensajería, videollamada y foros).



Figura 1. Componentes del modelo “e-supervisado”

El modelo está desplegado por una plataforma tecnológica accesible a través de Internet. La plataforma utiliza smartphones, aplicaciones móviles (apps), y dispositivos de monitorización para dar soporte a los pacientes en la realización de sus actividades terapéuticas (apdo 3.1), y un portal web interactivo, que posibilita a los profesionales sanitarios la personalización y el seguimiento de los planes de rehabilitación, y a los pacientes, mantener un diario de actividades, su programa educativo multimedia, y a ambos, herramientas de interacción virtual (apdo 3.2).

3.1. Telemonitorización de actividades terapéuticas

Para el soporte de la realización de actividades terapéuticas se han desarrollado dos apps que proporcionan guía, asistencia virtual y telemonitorización durante la realización de: (1) sesiones de marcha personalizadas (ámbito del ejercicio físico); y (2) sesiones de relajación (ámbito psicológico). Ambas sensorizan la frecuencia cardiaca (FC) del paciente durante la realización de las sesiones como indicador biomédico objetivo del trabajo cardiovascular en sesiones de marcha y del grado de relajación en sesiones de relajación, respectivamente.

La app de marcha (ver Figura 2), posibilita: conocimiento de las condiciones del paciente y de contexto mediante cuestionarios antes y después de la actividad; control y valoración objetiva de indicadores de proceso durante la sesión de marcha (FC y sintomatología adversa); asistencia y guía en tiempo real al paciente durante la sesión de marcha (audio/auriculares, vibración) para mejorar el control de las fases de calentamiento, mantenimiento y enfriamiento, como vía para lograr el objetivo terapéutico e incrementar la motivación y seguridad. Los indicadores objetivos de resultado por sesión son: síntomas antes/después de cada sesión, porcentaje de tiempo en rango terapéutico (porcentaje de tiempo durante el que la FC permanece en el intervalo recomendado), FC máxima y basal, tasa de recuperación (descenso de la FC tras el primer minuto de enfriamiento), distancia, velocidad, tiempo y calorías consumidas; también el perfil de la FC durante la sesión y mapa de localización con la ruta seguida.

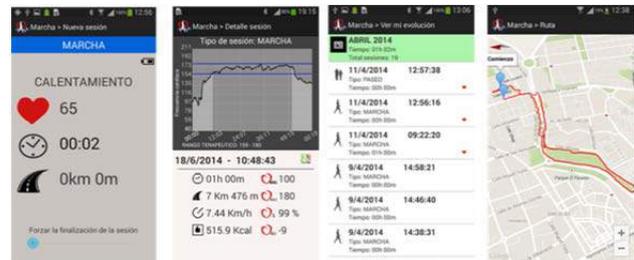


Figura 2. Aplicación de sesiones de marcha

La app de relajación posibilita: guía (opcional) al paciente (audio con música e indicaciones del psicólogo) durante la realización de las sesiones de relajación en cinco técnicas: diafragmática, progresiva de Jacobson, mediante visualización, mediante códigos cortos y mixta; control y valoración objetiva de la sesión mediante la monitorización continua de la FC como indicador de proceso y control de seguridad personalizado (control de FC mínima). Los indicadores objetivos de resultado por sesión son: FC basal y final, FC mínima/máxima, diferencia entre FC basal y final y tiempo de sesión; se muestra un perfil de FC durante la sesión.

En ambas apps se almacena el histórico de las sesiones con indicadores de cumplimiento. Las aplicaciones han sido implementadas sobre sistema operativo Android, para operar en tiempo real con un pulsómetro Polar® bluetooth, e interactuar de manera asíncrona vía web-service a través de Internet con la plataforma web que

permite al profesional sanitario el seguimiento de las actividades, mejorando la frecuencia y objetividad de la valoración del cumplimiento terapéutico, adaptación de la terapia, y el progreso del paciente (adherencia y objetivos).

3.2. Portal web interactivo

Se ha implementado una plataforma de acceso web para profesionales sanitarios y pacientes que despliega módulos software para tres funcionalidades.

En primer lugar, la gestión y visualización de la información y recursos educativos/ formativos: herramientas para el establecimiento de planes formativos personalizados y secuenciados en bloques semanales, que en conjunto constituyen 37 vídeos agrupados en 12 áreas temáticas educativas referidas a diversos ámbitos de la enfermedad cardiovascular, el control de factores de riesgo y la rehabilitación cardiaca. Se ha definido un perfil de paciente que viene determinado por un conjunto de 21 etiquetas en cuatro dimensiones: diagnóstica, psicológica, riesgo cardiovascular, y social. Este conjunto de etiquetas se emplea para clasificar los recursos multimedia en función del perfil del paciente para establecer un plan personalizado de formación. Los vídeos pueden ser puntuados (escala Likert: 1-5) y comentados por los pacientes.

En segundo lugar, el seguimiento de actividades terapéuticas (marchas y relajación): se han desarrollado herramientas para que los pacientes puedan seguir sus progresos en la realización de actividades de marcha y relajación. Los profesionales pueden valorar los progresos de los pacientes y realizar reajustes en las actividades.

En tercer lugar, la interacción virtual en 3 categorías: interacción asíncrona/mensajería entre pacientes y profesionales según 9 ámbitos (general, ejercicio físico, privado, psicología, cardiología, alimentación, fármacos, sociolaboral, y soporte-técnico); interacción en tiempo real a través de videollamadas programadas paciente/profesional; y foros moderados por profesionales (uno por cada área temática educativa).

3.3. Infraestructura: arquitectura de la plataforma

La implementación de la arquitectura se lleva a cabo mediante un entorno modular “open-source”: infraestructura software, soportada en entornos virtualizados, constituida por un ecosistema servicios abiertos y distribuidos de bajo acoplamiento y alta cohesión, integrados mediante “plugins” reutilizables, cuyo conjunto conforma el sustrato de funcionalidades sobre las que se implementa el servicio HAZLO [7].

La arquitectura final se compone de 8 máquinas virtuales SUSE Linux Enterprise 11SP3 (virtualización VMWare), respectivamente: plataforma web (front-end y back-end de las aplicaciones) basado en Liferay; servidor global de CRD (Cuaderno de Recogida de Datos electrónico del ensayo clínico); servidor global de aleatorización; servidor global demográfico (desagregación y cifrado de datos demográficos); servidor global de videollamadas basado en Asterisk y IVVR* (ífonet); servidor de bases de

datos, basado en MySQL; y servidor global de open-office.

3.4. Evaluación clínica del servicio

La evaluación se está realizando con metodología de Ensayo Clínico Aleatorizado Controlado en dos grupos paralelos de 128 pacientes por grupo, para evaluar eficacia del servicio en términos de resultados clínicos, de satisfacción calidad de vida y adherencia. El colectivo son pacientes cardiopatas de bajo riesgo (según criterios de inclusión) atendidos por la Unidad de Rehabilitación Cardiaca del Hospital Universitario Ramón y Cajal. Periodo de intervención 14 meses dividido en dos etapas: (1) Fase II completa (8 semanas); y (2) primer año de Fase III (12 meses). La variable principal es la ganancia en la capacidad funcional medida en MET a la finalización de la fase II; variables secundarias relacionadas con otros aspectos clínicos, psicológicos, calidad de vida, satisfacción y usabilidad.

El grupo control está compuesto por pacientes que durante la Fase II seguirán el PRC tradicional en régimen supervisado (presencial); el grupo intervención se compone de pacientes que durante la fase II seguirán el PRC/protocolo en régimen “e-supervisado”. A la finalización de la fase II se analizarán la variable principal y las secundarias. La variable principal permitirá verificar la no inferioridad de la respuesta terapéutica principal ocasionada por la intervención en relación con el control. Durante la segunda etapa (primer año de la fase III) ambos grupos seguirán su vida habitual y a los 12 meses se medirán de nuevo las mismas variables para verificar el grado de persistencia del efecto terapéutico y de cambio de hábitos de vida. El ensayo ha sido aprobado por el Comité de Ética de la Investigación y de Bienestar Animal del Instituto de Salud Carlos III (nº CEI PI13_2014). El ensayo clínico comenzó el 16/10/2014.

4. Resultados

Previo al inicio del ensayo clínico, se llevó a cabo un estudio piloto de 5 meses, con la participación de 41 pacientes (edad $57,1 \pm 9,3$, participación $66,6 \pm 16,5$ días). Los objetivos fueron: evaluación de operatividad, funcionalidad de las app de marcha y relajación, y de la plataforma web; la estimación de la capacidad para llevar a las actividades terapéuticas (marcha y relajación) y adherencia al protocolo; valorar la capacidad de guía y asistencia de las apps para optimizar los resultados terapéuticos; y el ensayo del protocolo “e-supervisado” y flujos de trabajo (asignación de roles y tareas) cara a afrontar la intervención en el ensayo clínico.

Los resultados (ver Tabla 1), se han agrupado en 4 grupos: adherencia al protocolo (sesiones de marcha y relajación y plan educativo-vídeos) determinada a partir de la relación entre actividades planificadas y realizadas; desarrollo de las actividades terapéuticas (marcha, relajación, y valoración de vídeos); interacción virtual (mensajería, videollamadas y foros); y usabilidad mediante cuestionario System Usability Scale (SUS) en componentes de usability (U) y learnability (L) para para apps y web.

Adherencia	Marcha	Relajación	Plan (vídeos)
Planificadas	45	35	34,34±1,5
Realizadas	44,5±16,4	36,4±17,7	32,69±5,2
Adherencia(%)	99,0%±36,4	104,1%±50,5	95,14±14,5
Sesiones marcha		Sesiones relajación	
n/Estado	Rango Terap	n/Modo/Dura	Tipo
1686	77,3±24,4 (%)	1366	Diafrag: 231
Completa: 89,4%	TasaRec (lpm)	Guiada: 1012	Jackobs:160
Cancela: 10,6%		NoGuía: 231	Visualiz:201
Causas:	-5,1±5,8	33,33 (min)	CodCor:189
Técnica:49%			Mixta:231
Molestias: 51%			
Duración (min)	Velo (km/h)	FC (basal,	FCfinal-basal
Distancia (km)	Cal (Kcal)	min, final)	FCmin-basal
58,49±6,3	5,5 ± 1,2	65,7±11,1	1,9±10,1
5,4±1,3	357,7± 32,0	56,3±9,9	-9,9±8,3
		64,0±12,7	
Mensajería			Vídeos
Totales	Tipo	Total msj / %	Valoración
1574 mensajes	General	673/42,76	4,3±0,5
23,65 mens/día	Ejercicio	264/16,77	escala likert 5
38,39 mens/pac	Privado	173/10,99	
	Psicología	135/8,58	
	Cardiología	132/8,39	Videollamad
	Soprote-técnico	128/8,13	3 sesiones
	Alimentación	37/2,35	
	Fármacos	18/1,14	Foros
	Sociolaboral	14/0,89	2 entradas
Usabilidad (SUS)			
App	85,1 (U)		
	82,6 (L)		
Web	83,2 (U)		
	84,1 (L)		

Tabla 1. Resultados del piloto

5. Discusión

La adherencia al protocolo “e-supervisado” (marcha, relajación y vídeos educativos) ha resultado muy alta en promedio, por encima del 95% de las actuaciones planificadas en todos los casos, lo que indica que no ha habido dificultades relevantes para llevarlo a cabo. No obstante, cabe señalar que en las sesiones de relajación, aunque la adherencia promedio ha superado el 100%, el comportamiento ha sido más disperso (adherencias desde 50% a 150%), hecho ya esperado por el perfil psicológico mayoritario de los pacientes cardiopatas. En relación al desarrollo de las actividades terapéuticas, para las sesiones de marcha, es destacable el resultado en relación al porcentaje de tiempo en rango terapéutico (77,3±24,4%), ya que las marchas se realizan en exteriores y en la mayor parte de los casos en zonas urbanas que dificultan el mantenimiento de un ritmo constante; este dato es indicativo de la buena labor realizada en la asistencia y guía al paciente desde la app, que redundará en mejorar el resultado terapéutico. Las sesiones completadas han llegado prácticamente al 89,4% con cancelaciones por causas técnicas de menos del 5% lo que pone de manifiesto la estabilidad de la app. También ha sido posible valorar el efecto de las sesiones de relajación, la mayor parte de ellas en modo guiado (75%), detectándose descensos apreciables de la FC durante su desarrollo (-9,9 lpm), poniendo de manifiesto la utilidad de la guía y la monitorización de la FC para valorar objetivamente el efecto de las sesiones. La valoración de los vídeos educativos ha sido muy satisfactoria con puntuación de 4,3 en escala Likert de 1 a 5. En relación a las herramientas de interacción, la mensajería asíncrona ha sido la vía más utilizada con enorme diferencia; aproximadamente, cada paciente ha enviado 1 mensaje cada 2 días, mayoritariamente de tipo general o ejercicio

físico. Solamente, hubo necesidad de realizar 3 videollamadas, y ninguna a solicitud del paciente; la interacción en tiempo real no parece vital en este tipo de intervenciones. Es también llamativa la ínfima utilización de los foros, probablemente por el corto periodo de intervención; posiblemente, esta vía de interacción social será más adecuada en periodos más largos en los que emergiese una relación horizontal entre pacientes. La plataforma web se ha mostrado para los profesionales sanitarios como una herramienta ágil y eficaz para realizar el control de la evolución, personalización y seguimiento terapéutico de los pacientes. La usabilidad (aunque con una muestra reducida) es elevada (score por encima del 80) tanto para la aplicación web como las apps. Durante el piloto no se han producido abandonos de pacientes por causa de la tecnología. El comportamiento de la plataforma/servicio ha resultado muy robusto y no se produjeron interrupciones de funcionamiento durante el desarrollo del piloto. En definitiva, el conjunto manifestó una estabilidad muy razonable que permitió abordar con solvencia la fase de ensayo clínico.

Agradecimientos

Este trabajo está siendo financiado por la AES 2012, PI12/00389 y PI12/00585 (coordinados), y PI12/00508, y la colaboración de REDISSEC RD12/0001/0001.

Referencias

- [1] Piepoli MF, Corra U, Benzer W, Bjarnason-Wehrens B, et al; Cardiac Rehabilitation Section of the European Association of Cardiovascular P, Rehabilitation. Secondary prevention through cardiac rehabilitation: from knowledge to implementation. A position paper from the Cardiac Rehabilitation Section of the European Association of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2010;17:1–17.
- [2] Hasnain M et al. Home based versus centre based cardiac rehabilitation: Cochrane systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2010;340:b5631, doi:10.1136/bmj.b5631
- [3] Balady GJ, Ades PA, et al; American Heart Association Science A, Coordinating C. Referral, enrollment, and delivery of cardiac rehabilitation/secondary prevention programs at clinical centers and beyond: a presidential advisory from the American Heart Association. *Circul* (Consultada: Mayo 2005).
- [4] Clark RA, Conway A, Poulsen V, Keech W, Tirimacco R and Tideman P. Alternative models of cardiac rehabilitation: a systematic review. *Eur J PrevCardiol.* 2015 Jan;22(1):35-74
- [5] Lora E. Burke, PhD, MPH, et al. A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation.* 2015;132:00-00. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000232
- [6] Beatty AL, Fukuoka Y, Whooley MA. Whooley. Using Mobile Technology for Cardiac Rehabilitation: A Review and Framework for Development and Evaluation. *J Am Heart Assoc.* 2013 Nov 1; 2(6):e000568.
- [7] Mario Pascual Carrasco, Santiago Pérez de la Cámara, y cols. Entornos Modulares Open-Source para el Soporte de Nuevos Servicios de m-Salud. *Revista I+S Informática y Salud. Monográfico: Innovación y Nuevos Horizontes en TIC para la Salud. Ed. Sociedad Española de Informática y Salud. Agosto 2013, nº 101, pág. 50-56. ISSN: 1579-8070*

PREDIRCAM 2. Plataforma Tecnológica para la Prevención de la Diabetes Tipo 2 y el Riesgo CardioMetabólico

J. Tapia¹, J.M. Iniesta^{1,2}, V. Alcántara³, G. García-Sáez^{1,2}, G. Navarro⁴, C. González^{2,3},
M. Elena Hernando^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España
{jtapia, jminiesta, ggarcia, elena}@gbt.tfo.upm.es

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

³ Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España
{valcantara, cgonzalez}@santpau.cat

⁴ Servicio de Dietética, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España
{gnavarro}@santpau.cat

Resumen

En la actualidad, la prevalencia de las enfermedades no transmisibles (Non-communicable diseases NCD) y la cantidad de muertes causadas por éstas es muy elevada, en su mayoría, consecuencia del envejecimiento de la población, el aumento de la obesidad y los hábitos de vida sedentarios. En este trabajo se describe el funcionamiento y las características del proyecto Predircam, destinado al desarrollo y validación de una plataforma inteligente de tecnologías biomédicas para la monitorización, prevención y tratamiento personalizados del sobrepeso, la obesidad y la prevención de enfermedades asociadas como la diabetes, hipertensión arterial o problemas de colesterol. Para ello, la plataforma facilita el seguimiento y el registro de variables como el peso, la alimentación, el movimiento y la actividad física, fomentando la motivación y la adherencia a estilos de vida más saludables mediante un feedback continuado entre el usuario y el profesional.

1. Introducción

La existencia de una agrupación no casual de factores de riesgo de origen metabólico, propiciados por el envejecimiento de la población, el aumento de la obesidad y la proliferación de estilos de vida sedentarios, aumenta en quienes la sufren, la probabilidad de padecer diabetes tipo 2 o enfermedades cardiovasculares. A consecuencia de ello y apoyado por la creciente preocupación en el aumento de este tipo de problemas, surgió la denominación de Síndrome Metabólico, con el fin de agrupar todas las patologías y factores de riesgo [1,2].

Diferentes estudios han demostrado que este síndrome duplica en quien lo sufre el riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular y multiplica por cinco la probabilidad de desarrollar diabetes.

Esta tendencia tan negativa viene motivada principalmente por la adopción generalizada de diferentes costumbres características del estilo de vida moderno. Así, la urbanización de la población se ha asociado a un cambio radical del estilo de vida caracterizado por una dieta basada en alimentos de alto contenido calórico, un descenso

importante de la actividad física y el consumo de tabaco y alcohol [3,4].

La situación en España es muy similar a la analizada a nivel mundial: las enfermedades cardiovasculares son la causa de un tercio de las muertes [5] y en torno al 14% de la población sufre diabetes [6]. Además, el 31% de la población adulta padece el Síndrome Metabólico [7].

En 2009 la enfermedad cardiovascular tuvo un coste directo cercano a los 106.000 M€ para los sistemas sanitarios de la Unión Europea. Pero, además, si se consideran los costes secundarios derivados de la pérdida de productividad, la cifra alcanza los 200.000 M€ [8].

Todos estos hechos se ven inmersos en un periodo de avances tecnológicos, de una convergencia en el sector de las telecomunicaciones y la consecuente digitalización global, otorgando hoy en día a las Tecnologías de la Información y las Comunicaciones (TIC) un papel muy relevante en los diferentes ámbitos de la sociedad. El sector sanitario y asistencial ha sido uno de los que más avances ha logrado en los últimos años y la tecnología ha tenido mucho que ver en ello, dando origen a una disciplina propia dentro de las telecomunicaciones como es la llamada telemedicina o e-Health.

En este contexto se ha planteado y desarrollado el proyecto Predircam, destinado a la monitorización, prevención y tratamiento personalizados del sobrepeso, la obesidad y la prevención de enfermedades asociadas mediante un seguimiento del registro de las variables corporales, la alimentación y la actividad física, fomentando la motivación y la adherencia hacia estilos de vida saludables a través del uso de la tecnología.

2. Materiales y Métodos

Inicialmente se desarrolló una plataforma tecnológica que fue terminada y validada, de forma que se planteó y desarrolló un estudio piloto para comprobar el funcionamiento y tener una primera toma de contacto con sujetos ajenos al equipo de desarrollo. Este estudio piloto

se desarrolló con éxito, de forma que el paso siguiente consistía en la realización de un estudio clínico en el que tomarían parte pacientes y profesionales médicos.

No se pudo llevar a cabo dicho estudio clínico, motivo por el que el proyecto quedó aparcado y la plataforma desactualizada. Estos problemas fueron detectados al reactivarse nuevamente el proyecto, momento en el que se tomó la decisión de comenzar el desarrollo de una nueva versión de la plataforma.

De esta forma, se retomó el proyecto y se comenzó el desarrollo de esta nueva plataforma, con el objetivo de iniciar el pretendido estudio clínico en octubre de 2015.

2.1. Plataforma tecnológica

La nueva plataforma Predircam ha sido desarrollada y renovada haciendo uso de las principales tecnologías Web (HTML, CSS y JavaScript), adaptándose de esta forma al auge de estos nuevos lenguajes compatibles con prácticamente la totalidad de navegadores y dispositivos. La arquitectura consta, por un lado, del servidor Web con la base de datos, API RESTful para peticiones de datos y módulos de generación de emails y notificaciones. Por otro lado, el cliente, donde se ejecuta la aplicación en el navegador Web y permite a usuarios pacientes o médicos la interacción con los escenarios y funcionalidades, como puede verse en la Figura 1.

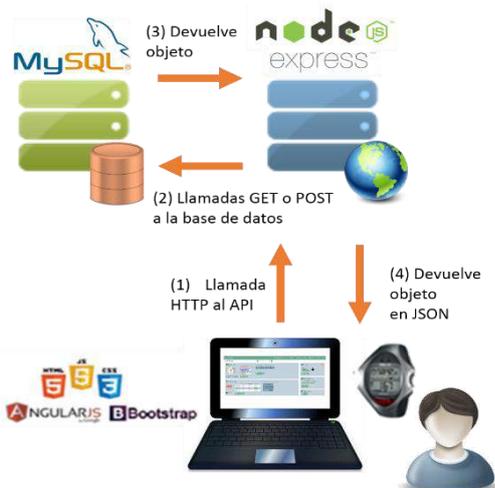


Figura 1. Arquitectura del sistema Predircam

Desde el punto de vista funcional, la plataforma ha sido desarrollada siguiendo un patrón MVC (Modelo-Vista-Controlador), que por un lado ayuda a modularizar el trabajo y por otro permite que ciertas partes comunes puedan ser fácilmente compartidas y reutilizadas de forma flexible y eficiente.

Por este motivo se ha producido una división de las distintas funcionalidades y los diferentes campos de acción en los que se pretende trabajar, en módulos claramente diferenciados e independientes entre sí, como queda esquematizado en la Figura 2.

La base de datos de Predircam, además de incluir datos y campos relativos a las funcionalidades específicas de los diferentes módulos de nutrición, ejercicio, mensajería y datos de visitas, incorpora tablas de composición de

alimentos basada en la del Centre d'Ensenyament Superior de Nutrició i Dietètica (CESNID) [9], enriquecida con datos de nuevos ingredientes y platos y más de 900 imágenes correspondientes a tamaños o porciones.

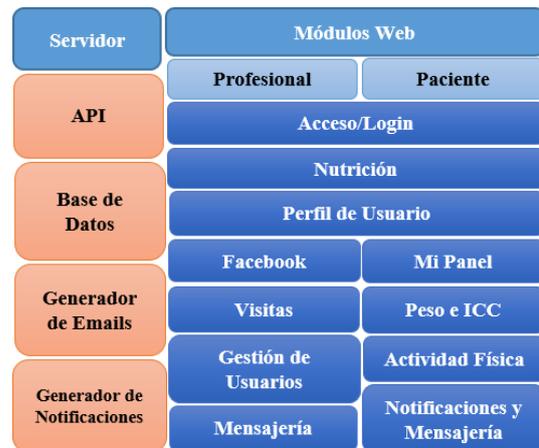


Figura 2. Esquema modular de Predircam

Según la prescripción nutricional, de ejercicio y el grado de cumplimiento de los pacientes, se generan las distintas notificaciones automáticas (alertas, recomendaciones y felicitaciones). Por otro lado, el sistema permite la comunicación bidireccional paciente-médico a través de la mensajería interna de la aplicación Web.

Todos los módulos de la plataforma siguen una estructura similar, en la que cualquier interacción del usuario con la vista genera una acción en un controlador asociado, que a su vez hace uso de un servicio con funciones específicas que permiten realizar peticiones al servidor, como se detalla en la Figura 3.

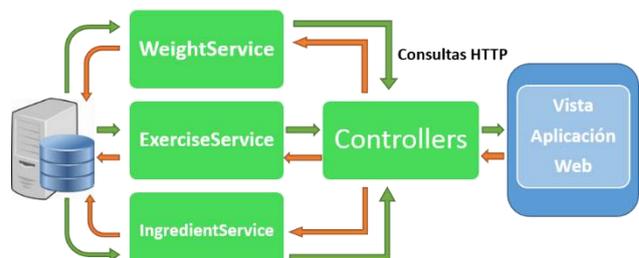


Figura 3. Esquema de interacción reducido de Predircam

2.2. Perfil profesional

Los profesionales médicos, tienen disponible un escenario para el registro de las diferentes visitas asociadas a cada usuario, permitiéndoles almacenar y visualizar los parámetros medidos obtenidos a partir de las pruebas médicas solicitadas para cada paciente. A través de estas visitas se realizan también las diferentes prescripciones de actividad física y nutrición que los pacientes deben seguir hasta la realización de la siguiente visita. Con el fin de una correcta y sencilla valoración del seguimiento de los pacientes, se generan reportes con información del progreso entre visitas.

Los profesionales tienen acceso a un escenario de gestión de usuarios (creación, edición, activación) y de ingredientes y platos del sistema, pudiendo crearlos y editarlos.

2.3. Perfil paciente

Los pacientes, a través de la aplicación Web, disponen de una serie de funcionalidades que les permiten el registro y monitorización de la nutrición y actividad física para un seguimiento y una valoración de sus hábitos de vida.

Cada paciente posee una cuenta de usuario que es validada mediante el módulo de acceso. Una vez identificados, se dispone de un módulo de gestión del perfil, para visualización de datos básicos y/o cambio de contraseña.

Una de las principales características y aportes de la plataforma consiste en el registro de las ingestas diarias, soportado por el módulo de nutrición. Cada paciente puede hacer un seguimiento detallado de los ingredientes y platos consumidos en cualquiera de sus ingestas del día, así como su edición y/o eliminación. Para facilitar este registro, se hace uso de un sistema enfocado en la sencillez y agilidad, a través de un menú formado por iconos representativos de los diferentes grupos alimenticios y de una barra de búsqueda por coincidencia. Cualquiera de estos métodos permite la localización y selección de los diferentes alimentos disponibles en el sistema.

La aplicación dispone de soporte visual con imágenes para la ayuda a la decisión en la introducción de la cantidad del producto ingerido. A través de las diferentes imágenes de tamaños de unidades y platos, los pacientes pueden relacionar de manera directa cual es la porción que realmente han consumido, minimizando el error o variabilidad en la estimación. Adicionalmente, cada paciente puede crear e introducir en el sistema sus propios platos a partir de los alimentos ya disponibles en el mismo, posibilitando su registro con una mayor facilidad.

En base a todos los alimentos registrados, automáticamente se realiza una valoración nutricional que es reflejada en un conjunto de gráficos e indicadores que permiten la visualización del estado diario, tanto a nivel de los diferentes grupos de alimentos, como a nivel calórico y de macronutrientes, identificando excesos y deficiencias.

Otra de las principales funcionalidades que la plataforma provee es el registro de la actividad física, ya sea a través de una inserción manual de dichas actividades o mediante la sincronización de pulsímetros Polar RS400.

Para la inserción manual se sigue una estrategia similar a la implementada en el módulo de nutrición, permitiendo el registro a través de un menú formado por iconos representativos de los diferentes grupos de actividades, como por el uso de una barra de búsqueda por coincidencia.

Para la descarga de los datos registrados con el pulsímetro Polar RS400 se utiliza un adaptador de conexión infrarroja que junto con un Java Applet, desarrollado para tal fin, permite la sincronización con el servidor

Todos los datos de la actividad física son tenidos en cuenta para la creación de una serie de gráficos e indicadores semanales, que permiten reflejar el estado de consecución del plan de ejercicio, teniendo en cuenta las calorías consumidas, la duración y sesiones realizadas.

Por otro lado, el módulo de Peso e ICC permite la introducción de los diferentes parámetros corporales de interés, tales como el peso, las medidas de cintura/cadera, y los cálculos asociados del índice de masa corporal e índice cintura-cadera. Estos datos se representan en forma de gráfico con el fin de mostrar una tendencia que permita observar la evolución temporal.

En base a los datos registrados en la plataforma, a través de los módulos de nutrición, actividad física y peso, así como la frecuencia de uso del sistema por parte de los usuarios, se generan un conjunto de notificaciones particularizadas para cada usuario. Estas notificaciones permiten felicitar, alertar o recomendar en aquellos aspectos que lo requieran, permitiendo un seguimiento personalizado e individual.

Dentro de este mismo entorno, se posibilita el contacto con el profesional asociado a través de un gestor de mensajes. Adicionalmente, se ha creado y preparado un grupo privado en la red social Facebook, para el intercambio de información y experiencias entre los usuarios.

Por último, existe un panel central que presenta información relevante de cada módulo y facilita el acceso a las principales funcionalidades, Figura 4.



Figura 4. Panel principal de la aplicación

2.4. Validación técnica y estudio clínico

Previo a este estudio clínico, se llevó a cabo una prueba piloto de la plataforma con 30 voluntarios con edades entre 25 y 72 años y un grado medio de habilidades informáticas, con la finalidad de depurar errores, evaluar y mejorar las funcionalidades y la usabilidad de la plataforma. Los voluntarios realizaron un cuestionario de satisfacción a la finalización del período de pruebas. Este cuestionario estuvo dividido en varias secciones: Observaciones e impresión general; Experiencia con los diferentes escenarios y funcionalidades: panel principal, nutrición, ejercicio, mensajería/notificaciones y peso.

El estudio clínico, próximo a realizarse, pretende valorar que la integración de una Plataforma Inteligente de Tecnologías Biomédicas dentro de un programa intensivo de tratamiento de la obesidad es al menos igual de eficaz que un programa de asistencia presencial intensificada en términos de adherencia, pérdida ponderal y reducción del

riesgo cardiometabólico, y con una mejor relación coste-efectividad. Será realizado por profesionales de tres hospitales: Hospital de la Santa Creu i Sant Pau – Barcelona, Hospital Universitari i Politècnic La Fe – Valencia y Hospital Universitario Virgen de la Victoria – Málaga. Se reclutarán personas con edad comprendida entre 25 y 65 años con obesidad definida por un índice de masa corporal superior o igual a 30 kg/m²: Grado I o II. Se realizarán un total de 12 visitas por paciente, en 48 semanas, en las que se intervendrá sobre los estilos de vida (dieta y ejercicio) de manera intensificada con o sin ayuda de la tecnología según se le haya asignado de forma aleatoria al grupo tecnológico (intervención) o no tecnológico (tratamiento habitual, control). En el grupo de intervención tecnológica 4 de las visitas totales serán únicamente telemáticas a través de la plataforma, siendo el número de visitas totales igual en ambos grupos. En cada una de las visitas se recogerán datos relativos a la historia clínica y exploración física. En ambos grupos se realizarán un total de 4 analíticas a lo largo del estudio. La monitorización de la actividad física se realizará a través de cuestionarios en el grupo control y de la plataforma y pulsímetro en el grupo intervención. A lo largo del estudio todos los participantes cumplimentarán una serie de cuestionarios de salud y motivación al cambio y el grupo intervención además de satisfacción con la plataforma.

3. Resultados

Se completó el desarrollo de la plataforma Predircam con las funcionalidades y módulos anteriormente comentados, tras lo cual, se realizó la prueba piloto para la validación técnica de la plataforma con usuarios voluntarios. La valoración global resultó positiva y satisfactoria, dado que más del 90% de los encuestados tras el uso de la plataforma, de sus diferentes escenarios y funcionalidades, consideró que el diseño de los diferentes escenarios resulta claro e intuitivo. En cuanto a si la fluidez y funcionamiento resulta adecuada/correcta, más del 80% estuvo de acuerdo y el resto valoró neutralmente este aspecto. Los puntos con menor valoración positiva han sido los relativos a la facilidad del registro de ingredientes y a los pasos para la creación de platos, donde más del 60% valoró que ambos procesos resultan claros y fáciles de seguir.

4. Conclusiones

A partir de la problemática comentada en apartados anteriores, ligada a los estilos de vida sedentarios y poco saludables, y estando comprobado que el insuficiente nivel de actividad y una inadecuada alimentación son los dos principales factores que favorecen y precipitan la aparición de estos problemas, las especificaciones, módulos, funcionalidades y tecnologías, empleadas en la nueva Plataforma Predircam, se configuran como una potente herramienta de prevención y tratamiento de enfermedades ligadas al sobrepeso y obesidad.

De los resultados obtenidos de la prueba piloto de la plataforma, con usuarios voluntarios, se ha podido obtener una primera valoración positiva y satisfactoria. Por otro lado, esto permitió detectar y corregir errores menores, al mismo tiempo que hacer modificaciones en la presentación de indicadores de nutrición y ejercicio que facilitasen el

entendimiento y el uso de estos escenarios de la aplicación Web. Entre los puntos a mejorar destacaron el registro de ingredientes y los pasos para la creación de platos. De los comentarios y sugerencias recibidas al respecto, se ha detectado que esto podrá solventarse con un mayor número de ingredientes y platos con imágenes para soporte visual, además de ciertas modificaciones en los accesos y herramientas para la edición de los platos creados. Estas tareas han sido puestas en marcha y serán integradas en la plataforma para el comienzo del estudio clínico previsto.

De acuerdo a lo comentado anteriormente, y en línea con el objetivo principal del Proyecto Predircam, se considera la plataforma planteada en un alto grado de desarrollo, lista para ser evaluada y validada en el estudio clínico. En este estudio, se valorará el grado en que este tipo de herramientas tecnológicas apoyan al cambio de comportamiento hacia estilos de vida saludables y resultan ventajosas frente a los métodos tradicionales de seguimiento y control de pacientes.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los fondos FIS del Instituto de Salud Carlos III (FIS PI12/00931). Agradecemos la participación a los voluntarios de la fase de pruebas, y al personal de apoyo del Hospital de Sant Pau por su colaboración en la creación de platos del sistema.

Referencias

- [1] The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. International Diabetes Federation. 2005.
- [2] Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention, Alberti, R. H. Eckel y otros. *Circulation*. American Heart Association. 2009.
- [3] Informe sobre la situación mundial de las enfermedades no transmisibles 2010. Resumen de Orientación. Organización Mundial de la Salud. 2011.
- [4] Global Burden of Cardiovascular Diseases: Part I: General Considerations, the Epidemiologic Transition, Risk Factors, and Impact of Urbanization. Salim Yusuf, Srinath Reddy, Stephanie Ôunpuu and Sonia Anand. *Circulation*. American Heart Association. 2001.
- [5] Noncommunicable Diseases (NCD) Country Profiles: Spain 2014. World Health Organization http://www.who.int/nmh/countries/esp_en.pdf?ua=1
- [6] Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: the Di@bet.es Study. F. Soriguer, A. Goday, y otros. 2011.
- [7] Síndrome metabólico en España: prevalencia y riesgo coronario asociado a la definición armonizada y a la propuesta por la OMS. Estudio DARIOS. 2011.
- [8] 2012 European cardiovascular disease statistics. European Society of Cardiology, the European Heart Network and the British Heart Foundation Health Promotion Research Group, Department of Public Health, University of Oxford.
- [9] Tablas de composición de alimentos del CESNID. Centre d'Ensenyament Superior de Nutrició i Dietètica (CESNID). McGraw-Hill INTERAMERICANA. 2003.

Imágenes Médicas 2

Jueves 5 de Noviembre

Filtro temporal para optimizar la cuantificación de parámetros farmacocinéticos en estudios de perfusión sanguínea por resonancia magnética

S. Vázquez Martínez¹, I. Bosch Roig¹, R. Sanz Requena²

¹ Departamento de Comunicaciones, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, igbosroi@dcom.upv.es

² Ingeniería Biomédica, Hospital Quirón Valencia, Valencia, España, roberto.sanz@quironsalud.es

Resumen

En los estudios de perfusión por resonancia magnética (RM) con alta resolución temporal, las imágenes son relativamente ruidosas, debido a una baja relación señal a ruido. Por consiguiente, las curvas temporales extraídas de estas imágenes presentan niveles importantes de ruido. Los investigadores utilizan ajustes de mínimos cuadrados sobre estas curvas para obtener los parámetros del modelo farmacocinético. Este ajuste se ve afectado por el ruido de las curvas, especialmente en curvas de comportamiento arterial, en las cuales la información de la fase arterial, útil en el diagnóstico de tumores, se puede ver enmascarada. En el presente trabajo se ha diseñado una metodología de filtrado e interpolación de curvas temporales para que, al aplicar ajuste por mínimos cuadrados, los biomarcadores calculados sean cualitativamente más exactos y la fase arterial se modele correctamente.

1. Motivación

Actualmente, debido a la aparición de la imagen digital, es posible obtener información médica cuantitativa de relevancia que complementa el diagnóstico del radiólogo [1], tradicionalmente más cualitativo. Concretamente, este artículo se centra en estudios de perfusión [2] por resonancia magnética (RM), que consisten en inyectar contraste intravenoso al paciente y observar su difusión por una región determinada del organismo, mediante la adquisición de imágenes adquiridas secuencialmente en el tiempo.

A partir de las imágenes de perfusión por RM se pueden extraer curvas de variación de intensidad de señal respecto al tiempo para cada píxel. Analizando estas curvas se extraen una serie de parámetros farmacocinéticos o biomarcadores [3] por métodos de ajuste de mínimos cuadrados [4], los cuales representan aspectos tales como el estado del tejido y los procesos vasculares subyacentes.

No obstante, las imágenes presentan bastante ruido debido al movimiento involuntario del paciente y a los requisitos de alta resolución temporal [5,6], afectando a la calidad de las imágenes desde el punto de vista de la relación señal a ruido. Las curvas resultantes muestran oscilaciones no deseadas que causan con frecuencia un ajuste incorrecto [7], hecho que provoca que los parámetros farmacocinéticos resultantes también sean incorrectos. Este problema es crítico cuando las curvas presentan altas contribuciones arteriales (relacionadas con posibles procesos tumorales [8]), que pueden verse

penalizadas o enmascaradas por el proceso de ajuste. Por tanto, es esencial poder caracterizar correctamente la información de la fase arterial (pico de la curva que aparece poco tiempo después de la inyección de contraste).

2. Metodología

En este trabajo se ha implementado una metodología de filtrado automática para eliminar el ruido intrínseco de las curvas de variación de intensidad, respetando la fase arterial. De esta forma, es posible obtener parámetros farmacocinéticos más precisos.

2.1. Modelo farmacocinético

La concentración del contraste a lo largo del tiempo en el tejido (C_{tejido}), en función de la concentración en la arteria (C_{arteria}) que lo irriga y de los parámetros farmacocinéticos, se puede expresar a partir de la siguiente ecuación (modelo farmacocinético bicompartimental [3]):

$$C_{\text{tejido}}(t) = v_p C_{\text{arteria}}(t) + \int_0^t K^{\text{trans}} C_{\text{arteria}}(u) e^{-k_{ep}(u-t)} du$$

Los diferentes parámetros del modelo son:

- Constante de permeabilidad K^{trans} : relación entre aporte de flujo sanguíneo al tejido, superficie endotelial (interior de los vasos sanguíneos) y permeabilidad capilar.
- Coeficiente de extracción k_{ep} : retorno de contraste entre espacio extravascular extracelular y espacio vascular.
- Fracción de volumen de espacio extravascular extracelular v_e : volumen intersticial existente (espacio entre células). Cociente entre K^{trans} y k_{ep} .
- Fracción de volumen vascular v_p : contribución vascular del tejido.

A C_{arteria} también se le conoce con el término de función de entrada arterial (AIF, por sus siglas en inglés). En la Figura 1 se puede ver un ejemplo. Se suele elegir la arteria de mayor calibre y más cercana al tejido de estudio.

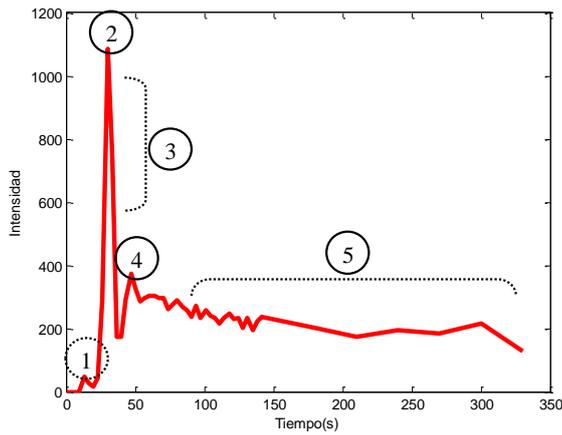


Figura 1. AIF con sus distintas etapas: nivel basal (1), pico (2), caída rápida (3), recirculación (4) y caída suave (5)

Para el cálculo de parámetros farmacocinéticos, se aplican a las curvas de intensidad ajustes por mínimos cuadrados no lineales, minimizando el residuo entre los valores de la curva de intensidad a ajustar y los valores de la función estimada por el modelo farmacocinético.

2.2. Filtrado

La metodología de filtrado se basa en dividir cada curva de intensidad en tres partes, siguiendo los criterios fisiológicos del aporte vascular a los tejidos:

- En la primera parte (instantes previos a la llegada del contraste) se llevan todos los valores de la curva a cero (asunción de que inicialmente no existe contraste).
- En la segunda parte (fase arterial), los valores de la curva se interpolan linealmente, respetando además los valores originales.
- En la tercera parte (fase de lavado), se aplica un filtrado de tipo lineal (medias móviles, lowess o rlowess) con un valor de ancho de ventana máximo (máximo filtrado).

Un ejemplo gráfico de la metodología de filtrado lo tenemos en la Figura 2.

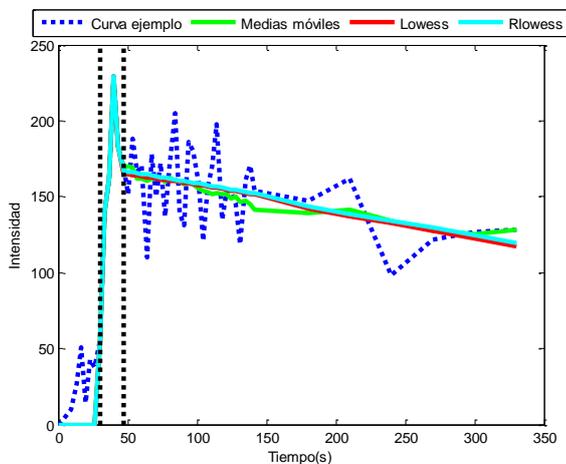


Figura 2. Metodología de filtrado. Los límites (líneas verticales punteadas) dividen la curva en tres partes. En la última parte, se pueden apreciar los tres tipos de filtrado elegidos

Los límites temporales de división de la curva se definen como el instante previo a la detección de contraste (límite inferior) y el instante posterior al máximo de la captación puramente arterial del tejido de interés (límite superior). Para la obtención de estos límites, se aplica Análisis de Componentes Principales (PCA) en un conjunto de curvas pertenecientes al tejido de estudio (Figura 3), que permiten extraer una componente principal muy correlacionada con curvas puramente arteriales (AIF).

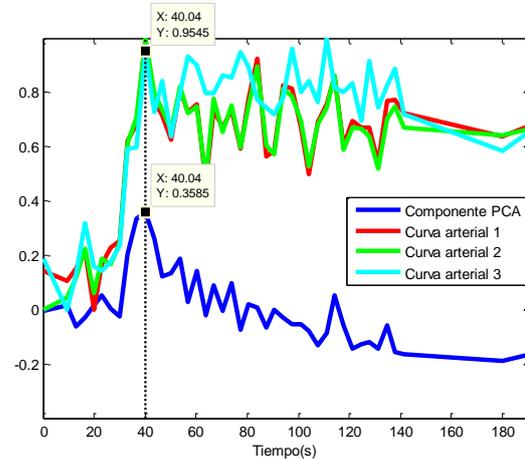


Figura 3. Componente PCA arterial vs curvas reales de tipo arterial. Gracias a esa componente, se pueden detectar los tiempos de referencia necesarios para situar temporalmente los límites del filtro

Para identificar la componente de PCA marcadamente arterial de forma automática, se han aplicado una serie de criterios para ponderar cada componente, de manera que la que obtenga mayor puntuación será la elegida. Básicamente, estos criterios son el orden en que PCA genera las componentes y la correlación de cada componente con la AIF.

Para comprobar la fiabilidad del filtro se han utilizado dos baterías de pruebas. Por un lado, se ha aplicado sobre curvas de diez casos reales de RM de próstata, con el fin de valorar cualitativamente la mejora en la detección y ajuste correcto en aquellas curvas con marcado componente arterial. Por otro lado, se han utilizado curvas simuladas generadas con distintos parámetros farmacocinéticos y distintos niveles de ruido para una valoración cuantitativa que no es posible con datos reales.

2.3. Datos reales

El esquema seguido para curvas de intensidad reales se encuentra en la Figura 4. Del conjunto de imágenes de un estudio de perfusión se extraen las curvas de captación, a las cuáles se les aplica mínimos cuadrados para obtener los parámetros farmacocinéticos y la curva de ajuste (procedimiento habitual). En la parte inferior del esquema se encuentra la metodología de filtrado expuesta en este trabajo. Concretamente, se ha filtrado con los tres filtros mencionados (medias móviles, lowess y rlowess) y con diferentes grados de interpolación (4, 8, 12 y 16). Al hablar de grado, nos estamos refiriendo al número de muestras añadidas a las que ya había inicialmente en la zona de la fase arterial (es decir, si el grado es igual a 8,

significa que se han añadido 8 muestras a las que hubiera inicialmente en la fase arterial de la curva).

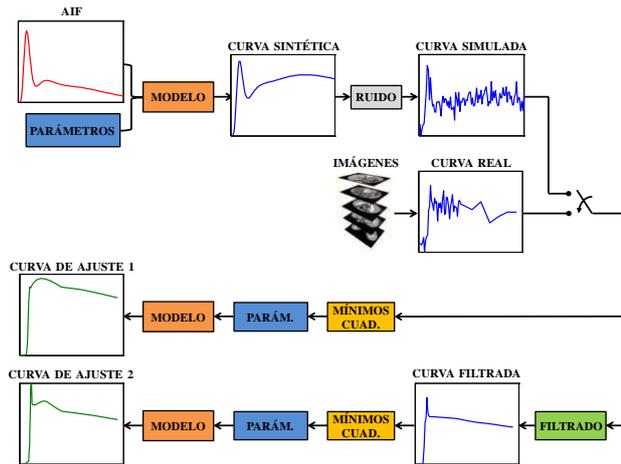


Figura 4. Esquema de procesamiento de datos reales y simulaciones. En la parte superior se encuentran las dos formas de obtener los dos tipos de curvas (reales y simuladas)

2.4. Simulaciones

La utilización de simulaciones viene dada por la necesidad de saber si los parámetros obtenidos al aplicar nuestra metodología son más precisos que los obtenidos sin aplicarla. El esquema seguido en simulaciones es el mismo que en curvas reales (Figura 4). A partir de una serie de rangos de biomarcadores y de la AIF simulada se obtienen una serie de curvas sintéticas. La AIF simulada se genera a partir de la suma de distintas funciones de densidad de probabilidad (fdp) de tipo Gamma. El criterio seguido para la creación de curvas es fijar dos de los biomarcadores (asignándoles unos valores por defecto) e incrementar el parámetro restante.

A las curvas sintéticas generadas se les aplica ruido de distintos valores de relación señal a ruido o SNR (10, 15, 20 y 25) y de distribución Gaussiana, Rice y/o Rayleigh (distribuciones que se atribuyen al ruido presente en las imágenes de RM), obteniendo curvas de intensidad simuladas muy similares a las reales. Una vez generadas estas curvas, la forma de proceder es exactamente igual a la explicada en el apartado de curvas reales.

Para cuantificar la mejora que presentan los biomarcadores y/o curvas de ajuste procedentes de curvas filtradas con respecto a curvas no filtradas se han utilizado los siguientes parámetros de medida:

- Error Cuadrático Medio (ECM): mide la similitud entre la curva original (curva sintética en Figura 4) con respecto a la curva de ajuste del modelo sin filtrar o filtrada (curva de ajuste 1 o 2 en Figura 4). Su ecuación es:

$$ECM = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N (curva_original(k) - curva_modelo(k))^2,$$

siendo N el número de muestras de las curvas.

- Diferencias Absolutas de v_p (DA_{v_p}): es el valor absoluto de la diferencia entre el parámetro en

cuestión procedente del ajuste de una curva (filtrada o sin filtrar) con respecto al parámetro original. Aplicable sólo en la parte de simulación. Su ecuación es:

$$DA_{v_p} = |v_{p_ajuste} - v_{p_original}|$$

En este trabajo sólo se incluyen las diferencias absolutas para v_p , ya que se trata del parámetro que mayor importancia tiene para modelar la contribución arterial del modelo farmacocinético.

Los parámetros de medida explicados se han representado de diferentes formas en este trabajo: como curvas e histogramas de comparación, y a modo de valores numéricos introducidos en tablas.

3. Resultados

3.1. Resultados con datos reales

Los resultados en datos reales son satisfactorios. La fase arterial se detecta correctamente en las curvas resultantes del ajuste de mínimos cuadrados, lo cual implica que los parámetros calculados son potencialmente más precisos y, al menos a nivel cualitativo, permiten caracterizar de forma más correcta la contribución marcadamente arterial en los tejidos. Un ejemplo de los resultados obtenidos lo tenemos en la Figura 5.

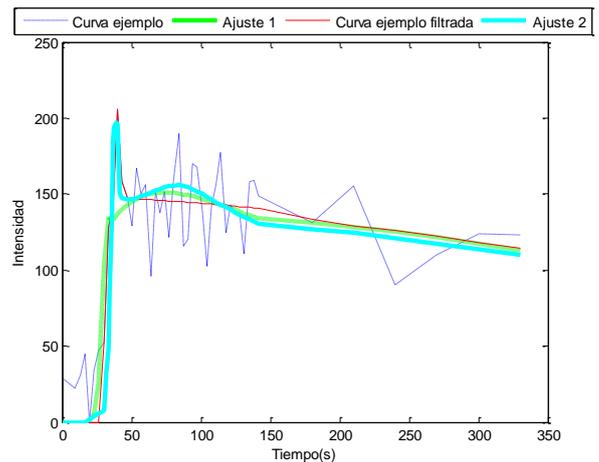


Figura 5. Comparativa entre una curva de tipo arterial y su equivalente filtrada con grado de interpolación 8. En la curva de ajuste de la curva filtrada (Ajuste 2, color cian), la fase arterial se ajusta adecuadamente, cosa que no sucede con la curva de ajuste de la curva de ejemplo (Ajuste 1, color verde)

3.2. Resultados con simulaciones

Los resultados en simulaciones son positivos para ciertas combinaciones de parámetros farmacocinéticos, lo que se debe probablemente a que las curvas simuladas no se ajustan con exactitud a la realidad. En la tabla 1 se muestran los valores de DA_{v_p} y ECM para 80 curvas simuladas de carácter arterial, con ruido Rice de SNR=10, interpolación de grado 8, y variación (incremento) del parámetro v_p , que presenta un rango de 0.074 a 0.1, mientras que los valores (por defecto) de K^{trans} y k_{ep} son 0.005 y 0.007 (en s^{-1}), respectivamente. Estas 80 curvas se han extraído de un conjunto de 4800 simulaciones (300 combinaciones de los 3 biomarcadores * 4 niveles de

ruido * 4 grados de interpolación). Se comprueba que, efectivamente, los valores de los parámetros de medida de las curvas filtradas son inferiores a los de las curvas sin tratar (mejoras del orden de 10^{-3} en el caso de DA_{v_p} y del orden de 10^{-5} en ECM).

	Sin filtrar	Medias móviles	Lowess	Rlowess
DA_{v_p}	6±3	3±2	3±2	3±2
(* 10^{-3})	6	3	3	4
	0.9	0.4	0.5	0.4
	10	7	7	7
ECM	1.92±0.32	1.71±0.28	1.86±0.30	1.83±0.32
(* 10^{-5})	1.92	1.70	1.86	1.83
	1.40	1.22	1.28	1.21
	2.52	2.22	2.36	2.33

Tabla 1. Valores de DA_{v_p} y de ECM para curvas simuladas sin filtrar y filtradas. Unidades: DA_{v_p} , ECM (sin unidades). Para cada parámetro figuran, de arriba a abajo: media ± desviación estándar, mediana, percentil 5 y percentil 95

Además, se puede comprobar en las Figuras 6 y 7 cómo al introducir los diferentes filtrados (colores verde, rojo y cian) se mejoran las DA_{v_p} (Figura 6) y el ECM (Figura 7), al desplazarse los histogramas (ver parte inferior de cada figura) hacia la izquierda (valores menores).

Globalmente, los mejores resultados se han obtenido para un grado de interpolación 8 y un filtro tipo medias móviles.

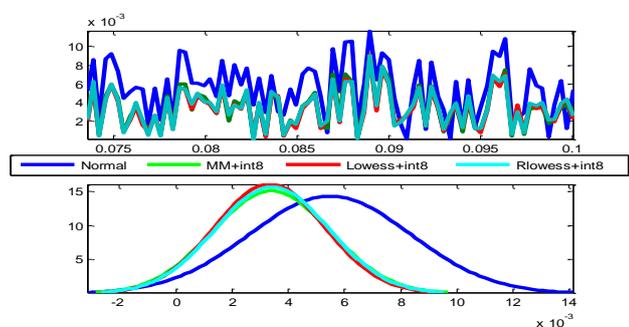


Figura 6. DA_{v_p} variando v_p , con ruido Rice de SNR=10 e interpolación de grado 8

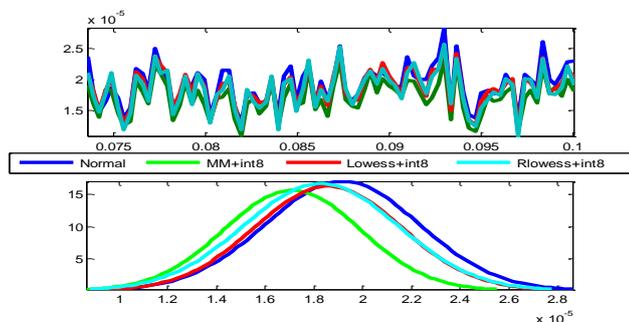


Figura 7. ECM variando v_p , con ruido Rice de SNR=10 e interpolación de grado 8

4. Conclusiones

Se ha demostrado, tanto con señales reales como con simulaciones, que la metodología de interpolación y filtrado propuesta en este artículo permite obtener biomarcadores más fiables desde un punto de vista cualitativo y cuantitativo, favoreciendo que la información de la fase arterial no se pierda al realizar el ajuste por mínimos cuadrados, solucionando una de las limitaciones que presenta esta técnica. Las simulaciones han demostrado que se pueden obtener mejoras en la cuantificación de los parámetros, concretamente para v_p . Para cuantificar con mayor exactitud la mejora, puede ser conveniente en un futuro mejorar la correspondencia entre la AIF, las señales simuladas y las reales, para recrear curvas más realistas que permitan validar más claramente la metodología propuesta.

Referencias

- [1] Pomar Nadal A, Pérez Castillo C, Alberich Bayarri A, García Martí G, Sanz Requena R, Martí Bonmatí L. Integrando el informe de biomarcadores de imagen en el informe radiológico estructurado. *Radiología*, vol 55, sup 3, 2013, pp 188-194 (ISSN: 0033-8338).
- [2] Fayed Miguel N, Castillo Blandino J, Medrano Lin J. Perfusión por resonancia magnética: bases físicas y aplicación clínica. *Revista de Neurología*, vol 50, sup 1, 2010, pp 23-32 (ISSN: 0210-0010).
- [3] Tofts PS, Brix G, Buckley DL, Evelhoch JL, Henderson E, Knopp MV et al. Estimating Kinetic Parameters From Dynamic Contrast-Enhanced T1-Weighted MRI of a Diffusible Tracer: Standardized Quantities and Symbols. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, vol 10, sup 3, 1999, pp 223-232 (ISSN: 1522-2586).
- [4] Murase K. Efficient Method for Calculating Kinetic Parameters Using T1-Weighted Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging. *Magnetic Resonance in Medicine*, vol 51, sup 4, 2004, pp 858-862 (ISSN: 1522-2594).
- [5] Erasmus LJ, Hurter D, Naudé M, Kritzinger HG, Acho S. A short overview of MRI artefacts. *South African Journal of Radiology*, vol 8, sup 2, 2004, pp 13-17 (ISSN: 2078-6778).
- [6] Liu HL, Chen JC, Wai YY, Wan YL. Temporal Resolution and Contrast-to-Noise Ratio in Functional MRI. *Proceedings of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM'02)*, Honolulu, 2002, p 10 (ISSN: 1545-4436).
- [7] Ahearn TS, Staff RT, Redpath TW, Semple SI. The use of the Levenberg-Marquardt curve-fitting algorithm in pharmacokinetic modelling of DCE-MRI data. *Physics in Medicine and Biology*, vol 50, sup 9, 2005, pp 85-92 (ISSN: 0031-9155).
- [8] Geinaerd MJ, Hogendoorn PC, Bloem JL, Taminiu AH, van der Woude HJ. Cartilaginous tumors: fast contrast-enhanced MR imaging. *Radiology*, vol 214, sup 2, 2000, pp 539-546 (ISSN: 0033-8338).

Desarrollo de un sistema de escaneado 3D a partir de un dispositivo de holografía conoscópica

B. Sesé-Lucio^{1,2}, V. García-Vázquez^{1,2}, L. Sanz-Díaz^{1,2}, M. Desco^{1,2,3}, J. Pascau^{1,2,3}

¹ Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, Madrid, España, javier.pascau@uc3m.es

² Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

³ Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Madrid, España

Resumen

La radioterapia intraoperatoria (RIO) con electrones es un tratamiento contra el cáncer que combina cirugía y radiación terapéutica aplicada a un tumor o a un lecho tumoral. La radiación es colimada y conducida por un aplicador específico acoplado a un acelerador lineal. Sería conveniente obtener la superficie del lecho tumoral antes de dicho tratamiento radioterápico ya que la acumulación de fluidos, las superficies cóncavas y las irregularidades en la superficie irradiada modifican significativamente la distribución de la dosis. En este trabajo se ha desarrollado un sistema de escaneado 3D a partir de un dispositivo de holografía conoscópica y un sistema de posicionamiento óptico. Diferentes pruebas con diversos materiales y formas han permitido comprobar el correcto funcionamiento del sistema de escaneado, obteniendo medidas correctas incluso cuando el objeto contiene líquidos. El empleo de este dispositivo durante la cirugía puede facilitar la obtención de información de la superficie del lecho tumoral, lo que redundará en una mejor estimación de la distribución de la dosis real que recibe un paciente en un procedimiento de RIO.

1. Introducción

La radioterapia intraoperatoria (RIO) con electrones es una modalidad de tratamiento contra el cáncer que combina cirugía y radioterapia aplicada a un tumor sin resecaer o al lecho tumoral después de una resección. La administración consiste en una dosis única de radiación mediante haz de electrones, que muestra un alto gradiente de dosis decreciendo rápidamente con la profundidad. La radiación es colimada y conducida por un aplicador específico acoplado a un acelerador lineal. El aplicador, además de colimar el haz de electrones, permite la delineación del volumen a tratar y la retracción de los tejidos normales sanos. El desplazamiento o blindaje de los tejidos y órganos adyacentes hace posible el incremento de la dosis en la zona a tratar minimizando el riesgo de radiar zonas críticas.

El primer sistema de planificación de RIO disponible en el mercado (*radiance*, GMV, Madrid) se utiliza para evaluar el escenario quirúrgico de antemano, para optimizar el proceso de toma de decisiones y para registrar el tratamiento radioterápico [1]. Esta herramienta estima la distribución de la dosis que recibe el volumen a tratar (lecho tumoral) y los órganos de riesgo a partir de una imagen preoperatoria de tomografía axial computarizada (TAC) del paciente.

El tratamiento de RIO administrado al paciente no está completamente caracterizado (por ejemplo, no se documenta la posición y orientación final del aplicador respecto del paciente) a pesar de que esta información es esencial para la evaluación de los resultados y la realización de ensayos clínicos prospectivos. Recientemente se ha propuesto el uso de un sistema de posicionamiento óptico multicámara para localizar el aplicador respecto al paciente en el escenario de la RIO [2]. Aunque en la planificación se simula la cirugía, la imagen preoperatoria difiere del escenario actual antes del tratamiento radioterápico debido a las modificaciones anatómicas producidas por el acceso quirúrgico, la resección del tumor o el desplazamiento interno de los órganos. Sería conveniente obtener la superficie del lecho tumoral antes de dicho tratamiento radioterápico ya que la acumulación de fluidos, las superficies cóncavas y las irregularidades en la superficie irradiada modifican significativamente la distribución de la dosis [3].

Existen actualmente varios sistemas de escaneo que podrían emplearse para obtener la superficie del lecho tumoral. Los escáneres de luz estructurada, empleados en otras aplicaciones clínicas, presentan problemas para registrar adecuadamente cavidades, superficies reflectantes o superficies transparentes (aplicador) presentes en el entorno de la RIO. Una alternativa validada con tejidos biológicos es la utilización de un dispositivo de holografía conoscópica [4]. Este sensor permite realizar medidas de distancias empleando una técnica de interferometría basada en la propagación de la luz en cristales birrefringentes. Para poder obtener puntos en 3D de la superficie de un objeto es necesario combinar las medidas de distancia con la información proporcionada por un sistema de posicionamiento [4].

El objetivo de este trabajo es desarrollar un sistema de escaneado 3D a partir de un dispositivo de holografía conoscópica y un sistema de posicionamiento óptico, así como evaluar la calidad del sistema completo y su viabilidad en el entorno de la RIO.

2. Materiales

En este apartado se describe el dispositivo de holografía conoscópica empleado para medir distancias a objetos y el sistema de posicionamiento óptico con el que se

obtiene la posición y orientación del dispositivo de holografía conoscópica.

2.1. ConoProbe

El dispositivo de holografía conoscópica *ConoProbe Mark 10* (Figura 1) pertenece a la familia de sensores Ethernet de punto sin contacto de Optimet Metrology Ltd. (Israel). Este dispositivo proporciona la distancia desde la lente al punto en el espacio al que apunta el láser.



Figura 1. Sensor ConoProbe Mark 10.
Fuente: Optimet Metrology Ltd

Optimet Metrology Ltd. facilita una librería de funciones (API Smart32) para programar aplicaciones con el dispositivo ConoProbe.

Cada medida de distancia está caracterizada por su relación señal a ruido (“signal-to-noise ratio”, *SNR*) y por una estimación de la cantidad de luz que reciben los detectores CMOS (parámetro *Total*). En este trabajo, los criterios utilizados para aceptar una medida de distancia del ConoProbe como válida fueron los siguientes:

- *SNR* de al menos el 90%.
- *Total* mayor de 4000 unidades arbitrarias (u.a.).
- Distancia medida comprendida entre la distancia mínima y máxima de trabajo de la lente de 250 mm: 155 mm - 335 mm.

2.2. Sistema de posicionamiento óptico

El sistema de posicionamiento óptico OptiTrack (NaturalPoint Inc., EEUU) proporciona en tiempo real la posición y la orientación (seis grados de libertad: posición X, Y y Z y rotación en torno al eje X, Y y Z) de una estructura rígida denominada “rigid body” que incluye al menos tres marcadores ópticos pasivos con revestimiento retro-reflectante. El sistema de posicionamiento óptico utilizado en este trabajo constaba de 2 cámaras infrarrojas modelo OptiTrack FLEX: V100R2 (NaturalPoint Inc.) sincronizadas entre sí (Figura 2). A partir del conjunto de imágenes que recogen ambas cámaras, se detectan los marcadores ópticos y se estima la posición y orientación del *rigid body*. La disposición de estas cámaras debe permitir la línea visual directa entre cada cámara y el *rigid body*. NaturalPoint Inc. facilita una librería de funciones (API TrackingTools) para programar aplicaciones con el sistema de posicionamiento óptico.

3. Integración de dispositivos

En este apartado se describe la integración del dispositivo ConoProbe y del sistema de posicionamiento óptico OptiTrack. El primer paso consistió en colocar un *rigid body* sobre la carcasa del sensor ConoProbe (paralelo a

una de las paredes de la carcasa) para poder obtener la posición y orientación del mismo. Este *rigid body* incluía tres marcadores ópticos retro-reflectantes. Para obtener las coordenadas 3D de los puntos de la superficie barridos por el ConoProbe fue necesario un paso previo de calibración temporal (para sincronizar las medidas tanto del ConoProbe como del sistema de posicionamiento óptico) y después una calibración espacial (para relacionar el sistema de coordenadas definido por el *rigid body* y el del ConoProbe). Se fijó una frecuencia de 100 Hz del sensor ConoProbe ya que el sistema de posicionamiento óptico trabaja a esta frecuencia. Se desarrolló una interfaz en Matlab que agrupaba todos los procedimientos necesarios para la calibración temporal y espacial, así como para el escaneo de superficies.



Figura 2. Sistema de posicionamiento óptico. Cámara OptiTrack FLEX: V100R2 (izquierda) y zona de trabajo con las dos cámaras infrarrojas (derecha)

3.1. Calibración temporal

El objetivo de este paso de calibración era encontrar el desfase (número de muestras) que existe entre las medidas del dispositivo ConoProbe y del sistema de posicionamiento. El protocolo de calibración consistió primero en colocar el ConoProbe sobre una superficie plana apuntando con el láser a un objeto. Después se acercó y se alejó varias veces el dispositivo de ese objeto mientras se obtenía tanto la posición del *rigid body* (centro geométrico de los marcadores ópticos, coordenadas x_c , y_c y z_c) como la distancia al objeto (d). Para encontrar el desfase entre dos señales se utilizó la función de correlación cruzada $\Phi[n]$ que proporciona una medida de la similitud entre dos señales:

$$\Phi[n] = \sum x_c[m+n]d[m]$$

La amplitud de las dos señales (por ejemplo, x_c y d) no coincide si la dirección en la que se mueve el dispositivo durante este paso de calibración no coincide con la dirección de uno de los ejes del sistema de coordenadas del sistema de posicionamiento óptico (por ejemplo, el eje X). Para corregir este problema y así facilitar el cálculo del desfase, se empleó el análisis de componentes principales (“principal component analysis”, PCA) para encontrar la dirección de máxima variabilidad en la posición del *rigid body*. Después se calculó la función de correlación cruzada con los datos de posición del *rigid body* proyectados sobre la primera componente principal y la medida de distancia del dispositivo ConoProbe. Se obtuvo un desfase de 9 muestras de la posición y orientación del *rigid body* respecto a la medida de la distancia del dispositivo ConoProbe.

3.2. Calibración espacial

Una vez que las medidas de ambos dispositivos estaban sincronizadas, fue necesario establecer la relación espacial que hay entre el sistema de coordenadas C definido por el *rigid body* colocado sobre el ConoProbe (origen en el centro geométrico de los marcadores ópticos) con el sistema de coordenadas propio del dispositivo ConoProbe. Cuando se mueve el dispositivo, la nueva posición/orientación del ConoProbe viene definida por la transformación o matriz T_i dada por el sistema de posicionamiento óptico. La medida de la distancia d_i del ConoProbe se realiza desde la lente y a lo largo de un eje definido por el vector unitario \hat{d} respecto del sistema de coordenadas C . El *offset* l es el desplazamiento en X, Y y Z desde el origen del sistema de coordenadas C hasta la lente. Tanto la dirección \hat{d} como el *offset* l eran desconocidos y por tanto fue necesario llevar a cabo la calibración espacial por ajuste de pares de puntos para obtener estos parámetros [4]. El protocolo de calibración espacial consistió en señalar con la punta de un puntero con marcadores ópticos exactamente el punto que fue señalado previamente con el láser del ConoProbe. Este paso se realizó para 15 posiciones no pertenecientes a un mismo plano dentro del volumen de trabajo y variando la distancia, altura y orientación del ConoProbe. Después se estimaron los parámetros \hat{d} y l que minimizaban el error cuadrático medio entre las posiciones de los puntos obtenidos con el puntero p'_i y las posiciones 3D obtenidas con el dispositivo ConoProbe y el sistema de posicionamiento óptico p_i . Los parámetros de calibración resultantes fueron $\hat{d}=(0.0,0.0,-1.0)$ y $l=(31.4,60.2,-56.0)$ mm.

Finalmente, para obtener las coordenadas 3D de los puntos p_i de la superficie barridos por el dispositivo ConoProbe fue necesario aplicar la siguiente ecuación [4]:

$$p_i = T_i(l + d_i \hat{d})$$

4. Evaluación

Se escaneó la superficie de varios objetos para evaluar la calidad del sistema desarrollado y su viabilidad en el entorno de la RIO. En estas pruebas se aplicó tanto el desfase obtenido en la calibración temporal como la dirección de medida \hat{d} y el *offset* l estimados en la calibración espacial. Se intentó en todos los casos, excepto en la prueba del escalón, escanear toda la superficie del objeto.

4.1. Escalón

La primera prueba que se realizó consistió en escanear un maniquí con forma de escalón creado a partir de dos tablas blancas lisas situadas una encima de la otra. Se comparó la altura del escalón obtenida con el sistema de escaneado (diferencia entre la media de los valores del eje Y de la parte superior e inferior del escalón) con el grosor de la tabla colocada encima (medido con un pie de rey).

El escaneo duró 40 segundos y se obtuvieron 2031 puntos tras eliminar los datos que no cumplían los requisitos establecidos previamente. En la Figura 3 se muestran los

resultados obtenidos del escaneo (media y desviación estándar $-STD$). La altura del escalón obtenida con el sistema de escaneado fue de 16.3 mm y con el pie de rey 16.6 mm. Por tanto, el error cometido fue de 0.3 mm.

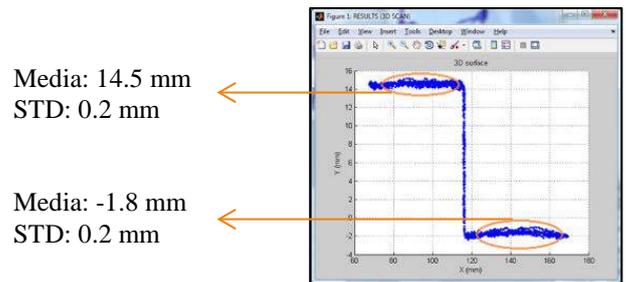


Figura 3. Perfil del escalón escaneado

4.2. Cavidad

Se simuló una cavidad con dos figuras de madera ya que en el entorno de la RIO es frecuente este tipo de superficies. El tiempo de escaneo fue de 12 minutos y se obtuvieron 24614 puntos tras filtrar las medidas. La Figura 4 muestra el escaneo obtenido. Se observa que hay regiones de la cavidad que no se escanearon por completo.

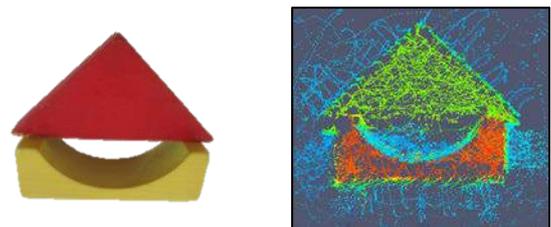


Figura 4. Cavidad con dos figuras de madera. Figuras reales (izquierda) y planta de la superficie escaneada (derecha)

4.3. Líquido

Se escaneó un recipiente antes y después de añadir un líquido (obtenido a partir de un lavado de hígados de pollo) con el objetivo de evaluar el sistema de escaneado en presencia de líquidos (Figura 5). El tiempo de escaneo en ambos casos fue de 9 minutos y el número de puntos obtenidos tras filtrar fueron 16436 y 23187 para el recipiente sin líquido y con líquido respectivamente. En el caso del escaneo del recipiente con líquido se bajó el requisito de la *SNR* al 40% ya que el líquido atenuaba mucho la señal. Se seleccionó una región de 2 x 2 cm en el centro de las dos superficies escaneadas y se estimó la altura del líquido como la diferencia entre las medias de estas dos regiones en el eje Y. También se midió la altura del líquido con una regla milimetrada. La altura del líquido obtenida con el sistema de escaneado fue de 11.6 mm y con la regla 11.5 mm. Por tanto, el error cometido fue de 0.1 mm.

4.4. Aplicador de RIO

Por último se comprobó si sería posible escanear una superficie desde un extremo de un aplicador de RIO ya que sería deseable obtener la superficie que ve el aplicador justo antes de radiar el lecho tumoral. Las medidas del aplicador eran 5 cm de diámetro, longitud

máxima 28 cm y bisel de 30°. Primero se escaneó la superficie de objeto y a continuación, sin mover el objeto, se situó el aplicador rodeándolo. Después se escaneó el objeto desde el extremo superior del aplicador colocando el ConoProbe en posición vertical (Figura 6) porque si se inclinaba el dispositivo ConoProbe el láser apuntaba fuera del aplicador. Las superficies del objeto antes y después de colocar el aplicador coinciden cualitativamente, aunque se observa cómo algunos puntos en los extremos del objeto no se obtienen al realizar el escaneo a través del aplicador (Figura 6).

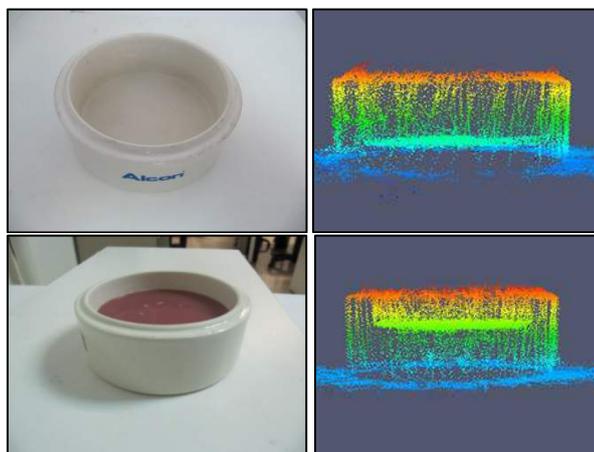


Figura 5. Escaneo de líquido. Recipiente vacío (arriba) y con líquido (abajo). Objeto real (izquierda) y superficie escaneada (derecha)

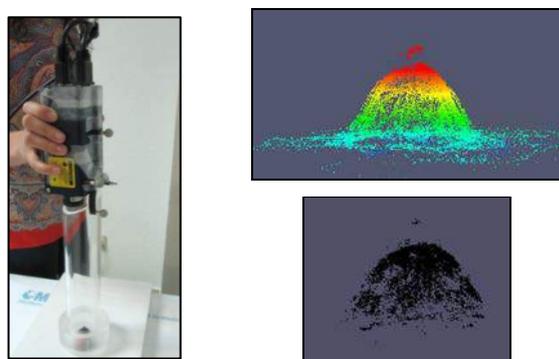


Figura 6. Prueba de escaneo con aplicador. Posición del aplicador y del dispositivo ConoProbe (izquierda), superficie escaneada del objeto sin aplicador (derecha, arriba) y con el aplicador colocado (derecha, abajo)

5. Discusión

Se ha desarrollado un sistema de escaneo de superficies integrando la información de distancia que proporciona un dispositivo de holografía conoscópica ConoProbe y la información de posición y orientación de este dispositivo que facilita un sistema de posicionamiento óptico.

Diferentes pruebas con diversos materiales y formas han permitido comprobar que el sistema de escaneo funciona incluso con líquidos. El error que se obtuvo en la prueba del escalón y en la prueba del líquido (menor de 0.5 mm) era inferior al error de posición del aplicador (en torno a 2 mm) [2]. Respecto a la prueba de la cavidad, hay regiones que no se escanearon por completo ya que los

puntos en esas regiones incumplían alguno de los requisitos definidos previamente. Es bastante probable que si se repitiera el escaneo se tuviera información de toda la cavidad. La interfaz desarrollada tiene la limitación de que muestra la superficie escaneada después de terminar el proceso de escaneo, lo que no permite comprobar en qué zonas no se adquieren suficientes puntos para volver sobre ellas antes de terminar el proceso. Respecto a escanear con el aplicador de RIO, fue posible obtener la superficie del objeto alrededor del centro del aplicador colocando verticalmente el dispositivo ConoProbe. Es complicado obtener la superficie próxima a las paredes del aplicador ya que o bien el cono de luz que vuelve al ConoProbe se ve afectado por las paredes del aplicador o el láser incide en la pared del aplicador y al ser transparente se señala un punto fuera del mismo. De todas formas, el sistema de escaneo desarrollado proporciona más información en este escenario que la que se obtendría con un sistema de escáner 3D de luz estructurada (no se podría escanear nada de la superficie con el aplicador colocado). La información de la superficie del lecho tumoral es útil para la estimación de la distribución de la dosis real que recibe un paciente en un procedimiento de RIO.

Como líneas futuras se plantea la visualización en tiempo real de la superficie que se está escaneando y obtener una medida cuantitativa del error entre la superficie escaneada (puntos) y un *gold standard* (por ejemplo, la superficie extraída de una imagen TAC del objeto). Sería interesante realizar más pruebas de escaneo con el aplicador y con distintos materiales (incluyendo líquidos) que asemejen más los presentes en el lecho tumoral e incorporar la información obtenida de la superficie en la estimación de la distribución de la dosis en un escenario de RIO.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (IPT-2012-0401-300000, TEC2013-48251-C2-1-R, DTS14/00192), EU FP7 IRSES TAHITI (#269300) y fondos FEDER.

Referencias

- [1] Pascau J, et al. An innovative tool for intraoperative electron beam radiotherapy simulation and planning: description and initial evaluation by radiation oncologists. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, vol 83, sup 2, 2012, pp e287-e295 (ISSN: 0360-3016).
- [2] García-Vázquez V, et al. Feasibility of integrating a multi-camera optical tracking system in intra-operative electron radiation therapy scenarios. *Physics in Medicine and Biology*, vol 58, sup 24, 2 013, pp 8769-82 (ISSN: 1361-6560).
- [3] Costa F, et al. Dose distributions in pelvic intra-operative radiation therapy (IOERT). *Radiotherapy & Oncology*, vol 115, sup 1, 2015, pp S280-1 (ISSN: 0167-8140).
- [4] Burgner J, et al. A study on the theoretical and practical accuracy of conoscopic holography-based surface measurements: Toward image registration in minimally invasive surgery. *International Journal of Medical Robotics and Computer Assisted Surgery*, vol 9, sup 2, 2013, pp 190-203 (ISSN: 1478-596X).

Setting up a C-arm for its use as a tomograph

A. García-Santos², C. de Molina^{1,2}, I. García², A. Martínez^{1,2}, J. Pascau^{1,2}, M. Desco^{1,2,3}, M. Abella^{1,2}

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

² Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid

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

Abstract

The C-arm radiology equipment offers a wide variety of movements that, together with its characteristic structure, makes it possible to be used in intraoperative scenarios. Such a scanner is conventionally intended to obtain planar images with no depth information. This system can be used as a tomograph in situations in which a CT system is not available, due to cost issues or when the patient cannot be moved. Therefore, we have designed a new acquisition protocol that solves the effects of non-idealities that hinder its use as a tomograph, including a high quality detection and data preprocessing, an accurate positioning system, a dedicated calibration and a fitted reconstruction software for the C-arm. The results obtained from the evaluation of the proposed protocol on real data, show the feasibility of the proposal.

Introduction

C-arm is a mobile fluoroscopic system. It consists of two units: the X-ray generator and the detector (image intensifier or flat panel) mounted in an arc-shaped wheeled base, and the workstation unit used to visualize, store, and manipulate the images. The C-arm allows a great variety of movements, and its characteristic structure makes it possible to be used in intraoperative cases, as the arc can be situated around the patient lying in the bed.

There are situations in which a CT system is not available, due to cost issues or when the patient cannot be moved (for instance, during surgery or in ICU). In those contexts, the use of a C-arm as a tomograph, presents several difficulties: the system may have mechanical strains changing the relative positions of the source and the detector producing artifact in the reconstructed image [1], and the movements of source-detector pair may differ from a circular path, therefore a calibration method that characterizes the geometry of the system [2] is needed. To obtain good quality images, it is necessary to design a new acquisition protocol that solves the effects of these non-idealities including a fitted calibration of the system, not needed when it is used for planar imaging [3].

Our experiments, based on the C-arm Model SIREMOBIL Compact L of Siemens, show the feasibility of obtaining tomographic images by using this 2D scanner.

1. System under study

The Siemens C-arm consists of an X-ray source and an image intensifier attached to a C-arm gantry. The geometry is depicted in Figure 1.

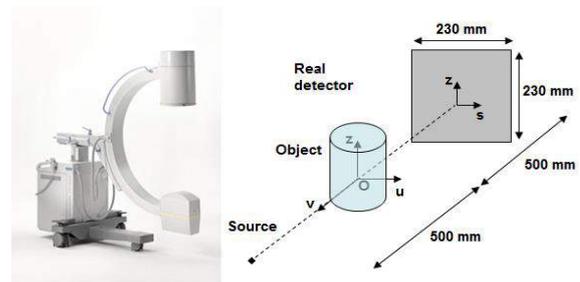


Figure 1. Left: SIEMENS C-arm. Right: Description of the geometrical configuration of the system

The C-arm can rotate around two different axes in order to obtain X-ray images of the region of interest from different angular positions: horizontal tilt (rotation around the horizontal supporting arm) and vertical tilt (rotation on the C-arm plane).

2. Positioning system

The SIREMOBIL, which is not aimed for tomography, is completely manual and only has a very rudimentary angular positioning: a scale drawn in the arm with a resolution of 5 degrees. In order to avoid artifacts in the reconstructed images we have integrated a positioning system based on the ADIS16209 digital inclinometer connected to the computer by a single board microcontroller: LaunchPad board (details of the implementation can be found in [4]). The right image of Figure 2 shows the position of the inclinometer in the C-arm connected via USB cable to the laptop whereas the left image shows the LaunchPad board connected with the inclinometer by using the PCB.



Figure 2. Positioning system (left) and its placement on top of the detector (right)

3. Detection

The detector of the system is an X-ray image intensifier. In order to obtain digital images to carry out the reconstruction process and solve the line distortion and vignetting of the images that it produces, we have integrated a flat panel detector in the C-arm: the XRpad 4336 detector that is connected via Wi-Fi with the laptop. The dimensions of the flat panel detector (35×43 cm) are much bigger than those of the image intensifier integrated in the C-arm (a circle of 23 cm of diameter), which would enable a bigger field of view. However, the system has a built-in collimator to restrict the X-ray beam to the dimensions of the original detector reducing also the useful area of the flat panel to the hexagon shown in Figure 3.

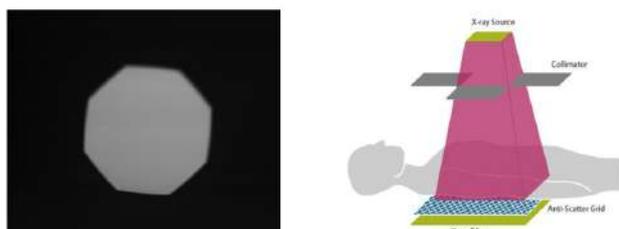


Figure 3. Useful area of the flat panel detector (left), illustration of a collimator function (right)

On the other hand, for tomography, we need to place the sample in the central point between the source and the detector, so the system can acquire projections around it. Due to the regular cone-beam geometry of the C-arm that implies a magnification of the sample, the field of view (FOV) is reduced to a diameter of 11.5 cm as shown in Figure 4.

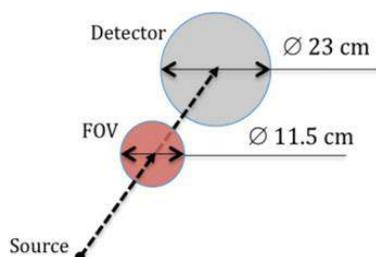


Figure 4. Illustration of the dimension of the detector and the FOV of our system

This small scanning area supposes a problem regarding to the type of rotation movement that we can do with the C-arm since it is not isocentric in both movements.

The horizontal tilt movement (Figure 5, right) is isocentric keeping always the sample projected into the same area of the detector; however, the vertical tilt movement is non-isocentric and cannot be used, since in several projections the sample would be out of the small field of view as can be seen in Figure 5.

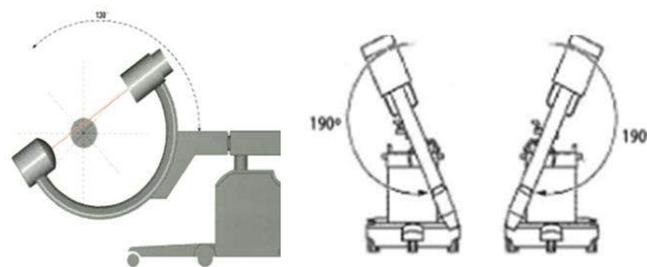


Figure 5. Non-isocentric vertical tilt movement (left) and horizontal tilt movement (right)

In order to fix the flat panel to the C-arm, a metallic holder shown in Figure 6 was used. It is composed by two parts: one side is adjusted to the image intensifier of the C-arm using screws and the other part has industrial velcro to attach it to the flat panel .



Figure 6. Part of the holder that is introduced in the C-arm detector (left). Flat panel fixed to the C-arm. (middle) Part of the holder that is attached to the flat panel (right)

4. Data processing

We have developed a software tool in Matlab to perform the pre-processing of the images obtained from the flat panel, N_0 .

The resulting image is obtained from equation 1 and will be input data for the reconstruction software.

$$NormData = \frac{N_0 - N_{dark}}{N_{flood} - N_{dark}} \quad Eq.1$$

where N_{dark} is the detector signal in the absence of radiation and N_{flood} is the projection image under irradiation without an object in the field.

First of all, a previous calibration process was performed in order to find dead, over-saturated or under-saturated pixels presented in any image due to faulty detectors in the panel. These pixels are then replaced by the local intensity mean in a 3x3 neighborhoods in all N_0 , N_{flood} and N_{dark} images to avoid artifacts.

Since some of the acquired projections had different intensity values (probably due to variations of the source), a correction of these values was also done. In order to do this, a background region of interest (ROI) is defined and every projection is multiplied by a factor so that the average intensity in that ROI matches the average intensity in the N_{flood} projection's ROI.

Figure 7 shows some of the processed images.

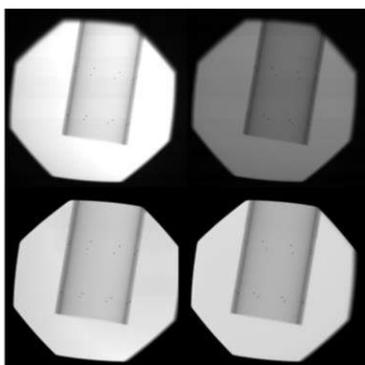


Figure 7 Projections before (top) and after (bottom) intensity correction

The final step is to convert these images into a format compatible with Mangoose [5], the FDK-based reconstruction software we are using for this work.

5. Geometrical calibration

The objective of the geometrical calibration, needed in all tomography system, is to characterize the misalignments of the system in order to obtain an accurate image reconstruction from the projection data. Furthermore, the C-arm has a certain flexibility presenting different mechanical strains depending on its position due to the weight of the source and detector. To obtain an accurate image reconstruction from the projection data we need to carry out a geometrical calibration to characterize the position of the source and detector each time the arc is moved. To this end we adapted a calibration algorithm previously developed in the laboratory using Matlab [3]. The parameters are estimated following the Cho's method [2] which was specifically designed to obtain the calibration parameters individually for each projection.

The method uses the projection of a calibration phantom [6] with two circular patterns formed by eight ball bearings symmetrically located in a cylinder. The calibration phantom has to be correctly placed in the center of the FOV in order to get a proper calibration file. To this end, a plastic tube was attached to one end of the phantom. The final position can be seen in Figure 8.



Figure 8. Photograph of the phantom used (top left). Placement of the phantom in the center of the detector by a plastic tube (bottom left and right)

The resulting mechanical calibration parameters are stored in a calibration file. Finally, we combine this calibration file and the angular position file that contains the values provided by the inclinometer.

After obtaining the calibration file, it should be possible to reconstruct other samples if they are acquired in the same angular positions, given that the calibration parameters are constant and invariable in time. We have evaluated the stability of these parameters repeating two times the calibration process. Figure 9 shows one of the most important calibration parameters obtained, the horizontal displacement of the detector.

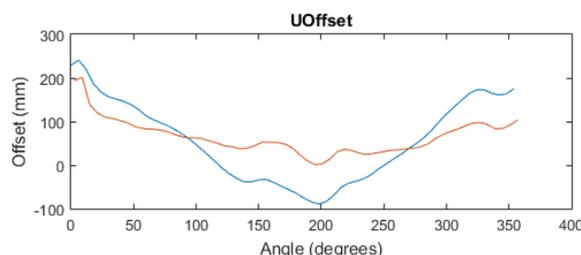


Figure 8. Calibration parameter (offset in the horizontal axis of the detector) for two different experiments (red and blue)

6. Acquisition protocol

In summary, the steps needed to obtain a tomographic image from a standard C-arm system are the following depicted in the workflow:

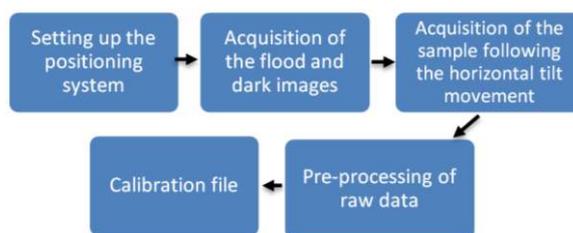


Figure 9. Workflow of the acquisition protocol for using a C-arm as a tomograph

7. Results

The results obtained with 60 projections, a span angle of 360 degrees and a step angle of 6 degrees starting in 0 degrees are show in Figure 11. Left panel shows the reconstructed image without using the calibration file whereas right panel shows the reconstructed one when the calibration file is applied.

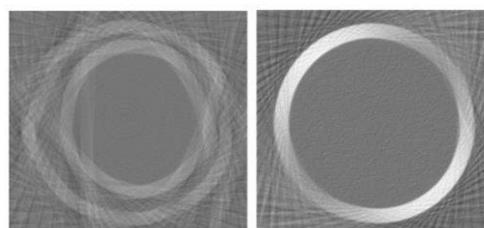


Figure 11. Axial view of the reconstructed image without calibration (left) and with calibration (right)

Once we have the calibration file it should be possible to obtain the tomography of a different sample as long as the X-ray projection images are acquired at the same angular positions than those stored in the calibration file.

To evaluate the proposed acquisition-reconstruction protocol, a rat was acquired with a step angle of 6 degrees

starting from angular position 0 degrees and with a span angle of 360 degrees.

These raw images were processed using the developed software tool explained in Section 4 carry out the flood-dark correction and together with the calibration file were given as input parameters to Mongoose. Figure 12 shows an axial view of the abdomen, with and without calibration. As can be seen in these results, misalignment artifacts severely affect the quality of the image making the calibration very important step.

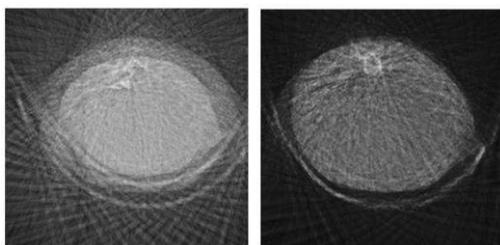


Figure 102. Axial view of the abdomen of a rat study, reconstructed image without calibration (left) and with calibration (right)

8. Discussion and conclusion

We have proposed a new acquisition protocol to incorporate tomographic capabilities in a system originally designed for planar images: the SIREMOBIL C-arm developed by SIEMENS. The proposed acquisition protocol solves the effects of the non-idealities that hinder its use as a tomograph, not needed when it is used for planar imaging: (1) incorporation of an angular positioning system, (2) protocol for exhaustive calibration of the system, (3) integration of a digital detector to solve the drawbacks of the image intensifier and (4) development of a software process the raw data..

The results on real data show the feasibility of the proposal and the quality of the images are reasonable if we compare with a real CT.

One of the main problems we found is the lack of stability of the calibration values, which hinders the reconstruction of a sample different from the calibration phantom itself. The main reason of this no repeatability of geometrical parameters is a mechanical strain of the C-arm on the other rotation direction due to the weight of the holder for the flat panel. Future work will be the repetition of these experiments with a C-arm with an integrated digital detector.

Other important limitation due to the small FOV, is the inability of using vertical tilt movement since it is not isocentric. Given that with the horizontal tilt only the head and the limbs of the patient can be acquired, the evaluation of the vertical tilt movement would be an important breakthrough as it would be able to acquire any part of the body.

Finally, the reconstructed images showed streak artifacts normal when using analytical reconstruction for acquisitions with low number of projections. Future work includes the use of a more advanced reconstruction

algorithm, which will increase the quality of the reconstructed images not only from few numbers of projections but also with a smaller span angle.

Acknowledgement

This work was partially funded by projects IPT-2012-0401-300000, TEC2011-28972-C02-01, TEC2013-48251-C2-1-R, and TEC2013 47270-R from Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación.

References

1. M Paraíso, C de Molina, J Pascau, M Desco, M Abella. Evaluation of the effect of calibration accuracy in a C-arm for its use in tomography. "Evaluation of the effect of calibration accuracy in a C-arm for its use in tomography". Libro de Actas XXX CASEIB 2012, s.p., 2012.
2. Youngbin Cho, Douglas J. Moseley, Jeffrey H. Siewerdsen, David A. Jaffray. "Accurate technique for complete geometric calibration of cone-beam computed tomography systems". Med. Phys., 2005. 32(4): p. 968-83.
3. C de Molina, J Pascau, M Desco, M Abella. Calibration of a C-arm X-ray system for its use in tomography. XIII Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing 2013, IFMBE Proceedings: 245-248, 2014.
4. A. García-Santos, C. de Molina, I. García, J. Pascau, M. Desco, M. Abella. "Enhancement of the angular calibration accuracy in a C-arm for its use in tomography". Libro de Actas XXXII CASEIB 2014, s.p., 2014.
5. M Abella , JJ Vaquero , A Sisniega , J Pascau , A Udías , V García , I Vidal , M Desco . "Software Architecture for Multi-Bed FDK-based Reconstruction in X-ray CT Scanners". Computer methods and programs in biomedicine, 2012. 107(2): p. 218-32.
6. T. A. W. and T. J. R. Noo, F. R. Clackdoyle, C. Mennessier, "An analytic method based on identification of ellipse parameters for scanner calibration in conebeam tomography," 2000.

Escala cuantitativa de radiodensidades y distancias aplicable a la artroplastia de rodilla y de cadera

A. Olías López^{1,2}, E. Garcia-Nieto¹, L. Coalla Sánchez², B. García García², A. Ros Felip¹

¹ Departamento de Ingeniería Mecánica - ETS Industriales, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España,

² Cátedra de Inteligencia Analítica Avanzada, Universidad de Oviedo, Asturias, España, albaolias@hotmail.com

Resumen

Las plataformas informáticas utilizadas en el pre y postoperatorio de las artroplastias de rodilla o cadera se programan en Matlab (Mathworks, Natick, MA, USA) a partir de una interfaz gráfica de usuario y requieren radiografías digitales de las articulaciones que cumplan la normativa DICOM. A partir de estas radiografías se seleccionan puntos manualmente para calcular ángulos y ejes relacionados con la biomecánica de los implantes. Tradicionalmente se ha usado la escala de Hounsfield para evaluar la radiodensidad de los tejidos. Esta escala está limitada a algunos tipos de radiografía incompatibles con los implantes metálicos. El objetivo de este trabajo es desarrollar una escala análoga a la de Hounsfield aplicable a la artroplastia y que, además de definir densidades de tejidos, permita la acotación de distancias y ejes necesarios en el informe quirúrgico. De 136 radiografías de rodilla y 158 de cadera se han obtenido con Matlab resultados de radiodensidades y distancias. Los resultados se han clasificado por tipos de radiografía y zonas de interés para después realizar un estudio sobre la metodología estadística más adecuada para generar la escala de densitometría y distancias buscada.

1. Introducción

La artroplastia de rodilla y de cadera es un procedimiento quirúrgico que se realiza con el objetivo de recuperar la movilidad y estabilidad de la articulación afectada, reduciendo significativamente el dolor provocado por la artrosis severa. Este procedimiento consiste en la sustitución parcial o total de la articulación mediante componentes metálicos, plásticos y/o cerámicos. Estas prótesis consideran las especificaciones mecánicas necesarias para un buen funcionamiento cinemático de la articulación [1] y requieren estudiar dicha cinemática para comprobar la evolución de este implante.

A lo largo de los años, la artroplastia ha ido en aumento. Se estima que para el año 2030, en Estados Unidos, incrementará su número en un 174% (572.000 casos) para artroplastias de cadera y en un 673% (3,48 millones de casos) para la rodilla [2].

Así mismo, las metodologías de estudio de la cinemática han ido evolucionando, desde técnicas manuales bidimensionales hasta técnicas asistidas por ordenador 2D/3D mediante transformadas de Fourier [3], ecuaciones de Euler [4], [5] o registro de imagen [6], [7], [8], [9]. En este trabajo se presenta una nueva metodología de estudio quirúrgico mediante registro de imágenes 2D a partir de Matlab, realizándose mediciones semiautomáticas en la propia radiografía. El procedimiento requiere validar la

entrada de datos relativos a la densidad de las zonas de estudio.

El objetivo de este trabajo es obtener una escala de radiodensidades específica para Matlab que se ajuste a las zonas que habría que estudiar en la biomecánica de la rodilla y de la cadera, identificando en primer lugar los ejes y ángulos necesarios para la biomecánica. Esta escala es similar a la de Hounsfield extendida, usada en CT, que trata de reducir los problemas de artefactos de prótesis metálicas [10]. La escala a obtener distingue diferentes áreas óseas, mientras que la escala de Hounsfield no es tan específica.

2. Materiales y métodos

Para determinar la escala de radiodensidades de la plataforma informática se han usado 136 radiografías de rodilla y 158 de cadera. En rodilla, se distinguió entre tres tipos de radiografías: telerradiografías anteroposteriores, radiografías laterales y radiografías axiales. Se tuvo una muestra de 54 hombres y 82 mujeres, con una edad comprendida entre los 45 y los 79 años. De las radiografías realizadas, se agruparon en prequirúrgicas o postquirúrgicas, dependiendo de si el paciente tenía o no prótesis de rodilla. En la Figura 1 podemos ver las zonas de estudio en radiografías de la rodilla. En ella, se distinguen ocho zonas en las telerradiografías (TR), cuatro en las radiografías laterales y tres en las radiografías axiales. Estas zonas corresponden a las áreas necesarias para formar la biomecánica de la rodilla, como son, por ejemplo, los ejes mecánicos y anatómicos del fémur y la tibia, que están discurren por el centro de la cabeza femoral, el centro de la rodilla y el centro del tobillo [11] (zonas A, D y E de la Figura 1).

En cadera, sólo se estudió un tipo de radiografía: la anteroposterior (AP). De todas las consideradas, 110 eran radiografías para el estudio prequirúrgico y 48 de estudio postquirúrgico. La muestra total estaba compuesta por 94 hombres y 64 mujeres, con una edad entre 33 y 87 años. En la Figura 2 podemos ver las zonas de estudio para el caso de la cadera. En ella se distinguen 11 zonas para el estudio prequirúrgico y 13 zonas para el postquirúrgico. Al igual que para el caso de la rodilla, estas zonas acotan las áreas que forman los ejes mecánicos de la cadera.

En cada zona, independientemente de la articulación, se obtuvieron los datos de las intensidades de píxel, indicando su valor mínimo y máximo, a partir de Matlab. Además, se determinó el intervalo de longitudes que deberían formar los segmentos entre dos puntos en aquellas zonas que requerían más de un punto. Por

ejemplo, para la zona F de la rodilla (que corresponde a la zona D de la cadera), se estudió el centro del cuello femoral y, para determinar este punto, se necesitaron cuatro puntos del contorno del fémur en esa zona, dos mediales y dos laterales. Por tanto, para este caso, aparte de medir la densidad de píxel en esa zona, se requiere determinar la anchura promedio del cuello femoral.

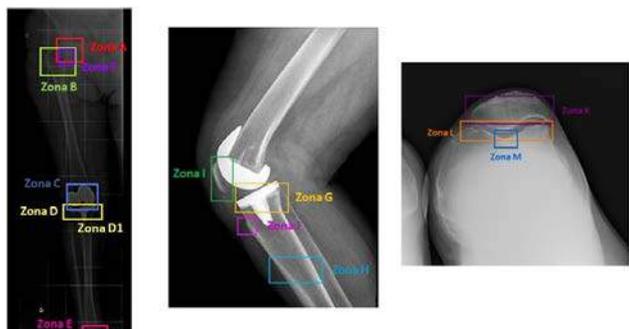


Figura 1. Zonas de estudio en las radiografías de rodilla.

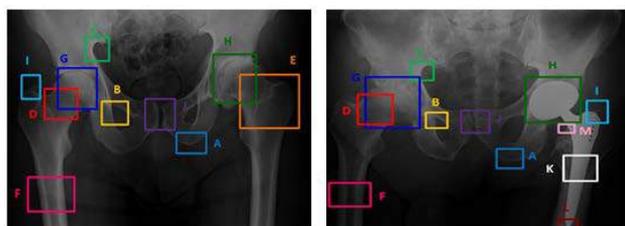


Figura 2. Zonas de estudio de radiografías de cadera.

Los datos, tanto de radiodensidades como de distancias, en algunos casos, no se obtenían en las radiografías originales, sino que previamente, en Matlab, se requería hacer el complemento de la imagen, es decir, obtener la imagen opuesta invirtiendo los tonos de píxel. Esto se debía a que las radiografías, obtenidas en Matlab, no se mostraban con las mismas intensidades que en una radiografía original. En la Figura 3 podemos ver la imagen que se obtuvo al introducir la radiografía en Matlab y la que se utilizó una vez aplicado el complemento de la imagen.

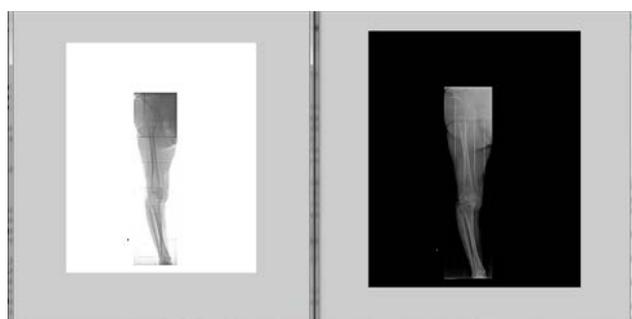


Figura 3. Radiografías mostradas por Matlab sin invertir los tonos (izquierda) y una vez invertidos (derecha).

Los datos obtenidos en cada radiografía fueron:

- Tipo de radiografía: TR, lateral, axial y AP.
- Extremidad mostrada en la radiografía: derecha, izquierda o ambas.
- Existencia de prótesis.

- Sexo del paciente.
- Edad del paciente.
- Densidades máximas y mínimas de la zona.
- Distancias máximas y mínimas de la zona, para los casos en los que se requería más de un punto en ella.

Cuando en la radiografía aparecía más de una extremidad, se obtenían los datos de cada una por separado, considerando que, en vez de haber una única radiografía con las dos extremidades, había dos con una extremidad cada una. De esta manera, las radiografías se clasificaban en el tipo de radiografía junto a su extremidad, por ejemplo, TR derecha y TR izquierda, obteniendo un total de:

- 13 TR con prótesis.
- 16 TR sin prótesis.
- 29 laterales con prótesis.
- 26 laterales sin prótesis.
- 26 axiales con prótesis.
- 26 axiales sin prótesis.
- 48 AP con prótesis.
- 110 AP sin prótesis.

La metodología para analizar todos los datos y así restringir los valores mínimos y máximos de radiodensidades y de distancia consistió en extraer todos los datos característicos de cada muestra necesarios para el estudio y las condiciones necesarias de cada uno. Así, se comprendió que inicialmente, las radiografías se debían distinguir entre las que tenían prótesis y las que no, ya que las zonas a estudiar variaban.

Para poder elegir el mejor ajuste de intervalos de mínimos y máximos y así no generar errores tipo I (dar valores buenos como erróneos) ni errores tipo II (dar valores por buenos siendo erróneos), se decidió restringir los valores de las variables mínimos, máximo y distancias por tres metodologías diferentes:

- Restricción por intervalo t-Student (99%): se tomó el mínimo/máximo valor de la muestra y se le restó/sumó, respectivamente, el radio del intervalo de confianza para la media.
- Restricción por desviación típica: se tomó el mínimo/máximo valor de la muestra y se le restó/sumó, respectivamente, la desviación típica de la muestra.
- Restricción por rango: se tomó el mínimo/máximo valor de la muestra y se le restó/sumó, respectivamente, el rango en el que se mueven los datos.

El intervalo t-Student es demasiado restrictivo y debía tenerse en cuenta la dispersión de los datos, ampliando así los intervalos obtenidos. Por esta razón, los resultados se estudiaron con tres metodologías.

3. Resultados

Como se describió en el apartado anterior, el número de radiografías que se utilizaban para obtener los resultados

variaba entre 13 y 110 muestras. Esto influye en los resultados obtenidos, ya que, además, al estudiar los datos, se encontró que, para el caso de radiografías laterales y axiales, existían dos intervalos de valores, unos alrededor de 60.000 y otros alrededor de 1.000. Estos últimos son datos de radiografías en los que no ha sido necesario aplicar el complemento de la imagen, tomándose datos de la imagen original. Para generar intervalos de valores no era posible juntar los resultados de ambos y se requirió dividir este tipo de radiografías en:

- 29 laterales con prótesis, de las cuales, 17 tomaban valores alrededor de 60.000 y 12 tomaban valores alrededor de 1.000.
- 26 laterales sin prótesis, de las cuales, 17 tomaban valores alrededor de 60.000 y 9 tomaban valores alrededor de 1.000.
- 26 axiales con prótesis, de las cuales, 19 tomaban valores alrededor de 60.000 y 7 tomaban valores alrededor de 1.000.
- 26 axiales sin prótesis, de las cuales, 25 tomaban valores alrededor de 60.000 y 1 tomaba valores alrededor de 1.000.

A la vista de estos resultados, se concluyó que dependiendo del número de radiografías, la metodología para obtener los intervalos de radiodensidad y de distancia variaba:

- Si el número de radiografías en la muestra es menor que 4, no se puede hallar ninguna restricción por falta de datos.
- Si el número de radiografías está comprendido entre 4 y 10, se considera que existe un número muy pequeño de datos y el intervalo a usar en la escala de radiodensidades y distancias debe ser el obtenido por los resultados de rango.
- Si el número de radiografías es mayor que 10, el intervalo a usar en la escala de radiodensidades y distancias debe ser el obtenido por los resultados de la desviación típica.

Como se puede ver, los resultados obtenidos por t-Student finalmente no se utilizaron ya que eran demasiado restrictivos pudiendo obtener errores tipo II. Además, la restricción por desviación típica tenía en cuenta la dispersión de los datos.

Los resultados obtenidos, para que sean factibles en Matlab, deben estar enteros, por lo cual, los resultados fueron redondeados (inferiores por debajo y superiores por encima) a cifras significativas para una restricción de un conjunto de datos. Por ejemplo, si una restricción inferior por rango dio 64.562,87 se tomó el número 64.560, ya que los cálculos dan valores aproximados y se trata de introducir al sistema un valor para que no permita valores menores – como este caso – o mayores que la restricción.

Durante el análisis de los datos, se verificó si los resultados variaban en función del sexo y la edad. En la rodilla, estos datos no influían en los resultados, al contrario que en la cadera, ya que era necesario distinguir si el paciente era femenino o masculino.

A continuación, se muestra algún ejemplo de las escalas obtenidas.

3.1. Escala de radiodensidades y de distancias en TR

Zona	Pixel		Distancia	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
A 1	64550	65340	120	310
			40	130
A2	64530	65320	130	340
			50	130
B	64530	65250	60	190
C	64330	65230	70	290
D	64480	65040		
D1	64450	65130	170	180
E	64500	65100	40	190
F	64530	65240	80	200

Tabla 1. Resultados obtenidos TR preoperatorio.

Zona	Pixel		Distancia	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
A 1	64590	65270	100	290
			50	140
A2	64570	65300	130	350
			50	130
B	64540	65130	70	180
C	64380	65240	90	270
D	64450	65240	170	430
E	64490	65090	40	190
F	64600	65170	80	190

Tabla 2. Resultados obtenidos TR postoperatorio.

3.2. Escala de radiodensidades y de distancias en AP

Zona	Pixel		Distancia			
	Mínimo	Máximo	Femenino		Masculino	
			Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
A	64470	65360				
B	64460	65450				
C	64470	65460				
D	64460	65420	280	500	320	500
E	64440	65380	250	380	300	430
F	64460	65450				
G	64480	65430	400	640	490	710
H1	64520	65440	440	730	540	840
H2	64480	65440	430	770	530	820
I	61640	65370				
J	64450	65470				

Tabla 3. Resultados obtenidos AP preoperatorio.

Zona	Píxel		Distancia			
	Mínimo	Máximo	Femenino		Masculino	
			Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
A	64470	65360				
B	64460	65450				
C	64470	65460				
D	64450	65460				
E	64450	65460				
F	64460	65450				
G	64400	65460				
H1	64480	65460	510	700	540	770
H2	64440	65470	430	670	440	780
I	64410	65500				
J	64440	65440				
K	64420	65470				
L	64430	65470				
M	64450	65470				

Tabla 4. Resultados obtenidos AP postoperatorio.

4. Conclusiones

Los resultados fueron validados en el nuevo estudio quirúrgico y se comprobó que no aparecía ninguno de los dos tipos de errores: dar valores buenos como erróneos o dar valores por buenos siendo erróneos.

Los resultados obtenidos han permitido obtener una escala de radiodensidades, a semejanza de la escala de Hounsfield extendida para prótesis metálicas, válida para más de un estudio quirúrgico en el que se use Matlab. Esta escala es más específica que la escala de Hounsfield, ya que obtiene resultados de zonas más concretas del cuerpo humano. Además, esta escala distingue entre sexos, sobre todo en la zona de la cadera, de tal manera que se constata que los hombres tienen huesos más grandes que las mujeres. Aun así, se requiere un estudio más profundo y detallado para que estos datos puedan usarse como método de calibración estándar.

5. Futuros pasos

En determinadas radiografías, existe muy poca muestra y sería conveniente obtener un número mayor de radiografías para su estudio.

Aunque el estudio está validado, puede darse el caso de que aparezca alguno de los errores. Si esto ocurriera, se podría ampliar la restricción por rango, para el primer tipo de error o, para el segundo, reducir la restricción tomando los resultados obtenidos por t-Student.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Clínica de Traumatología Ubarmin de Elcano (Pamplona, Navarra) el material proporcionado para este estudio y al Dr. Manuel Martínez Grande la ayuda prestada.

Referencias

- [1] Canale S. T., Beaty J. H., Campbell's Operative Orthopaedics, 11 ed. Elsevier, 2007 (ISBN: 978-0-323-07243-4).
- [2] Kurtz S, Ong K, Lau E, Mowat F, Halpern M. Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030. *Journal of Bone and Joint Surgery - American Volume*, vol. 89A, no. 4, 2007, pp. 780-785 (ISSN: 0021-9355).
- [3] Banks S. A., Hodge W. A. Accurate measurement of three-dimensional knee replacement kinematics using single-plane fluoroscopy. *IEEE Transactions of biomedical engineering*, vol. 43, no. 6, 1996, pp. 630-649 (ISSN: 0018-9294).
- [4] Fukuoka Y., Hoshino A., Ishida A. A simple radiographic measurement method for polyethylene wear in total knee arthroplasty. *IEEE Transactions on rehabilitation engineering*, vol. 7, no. 2, 1999, pp. 288-233 (ISSN: 1063-6528).
- [5] Ryd L., Albrektsson B.E.J., Carlsson L., Dansgard F., y col. Roentgen stereophotogrammetric analysis as a predictor of mechanical loosening of knee prosthesis. *The journal of bone and joint surgery*, vol. 77-B, no. 3, 1995, pp. 377-383 (ISSN: 0301-620X).
- [6] Callaghan J.J., Insall J.N., Greenwald A.S., Dennis D.A., y col. Mobile-Bearing Knee Replacement: Concepts and Results. *AAOS Instructional Course Lectures*, Cap. 45 Vol 50, 2001.
- [7] Bei Y., Fregly B. J. Multibody dynamic simulation of knee contacts mechanics. *Med. Eng. Phys.*, vol. 26, no. 9, 2004, pp. 777-789 (ISSN: 1350-4533).
- [8] Ashraf T., Newman J.H., Desai V.V., Beard D., y Nevelos J.E. Polyethylene wear in a non-congruous unicompartamental knee replacemetn: a retrieval analysis. *The Knee*, vol. 11, 2001, pp. 177-181 (ISSN: 0968-0160).
- [9] Laende E.K., Deluzio K.J., Hennigar A.W., and Dunbar M. J. Implementation and validation of an implant-based coordinate system for RSA migration calculation. *Journal of biomechanics*, vol. 42, no. 14, 2009, pp. 2387-2393 (ISSN 0021-9290).
- [10] Coolens C, Childs P. J. Calibration of CT Hounsfield units for radiotherapy treatment planning of patients with metallic hip prostheses: the use of the extended CT-scale. *Physics in Medicine and Biology*, vol. 48, no.11, 2003, pp. 1591-1603 (ISSN 0031-9155).
- [11] Tetsworth K., Praley D. Malalignment and degenerative arthropathy. *Orthopedic Clinics of North America*, vol. 25, no. 3, 1994, pp. 367-377 (ISSN: 0030-5898).

Detección automática de landmarks para evaluación objetiva de la reconstrucción mamaria post-mastectomía

F. J. Núñez Benjumea¹, T. Gómez Cía², B. Acha³, R. Boloix³, C. Serrano³

¹ Grupo de Innovación Tecnológica, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España, francisco.nunez.exts@juntadeandalucia.es

² UGC Cirugía Plástica y Grandes Quemados, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España, tomas.gomez.sspa@juntadeandalucia.es

³ Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, {bacha,cserrano,rboloix}@us.es

Resumen

Este trabajo presenta un método para la detección automática de un conjunto de landmarks o puntos de referencia (escotadura supraesternal, axilas, pezones y surco submamario) útiles para la evaluación de la reconstrucción mamaria post-mastectomía a partir de imágenes clínicas. Este método está basado en el análisis morfológico y de la iluminación, así como en el algoritmo de Dijkstra. Se ha llevado a cabo una evaluación del método desarrollado en términos de precisión y rendimiento sobre un conjunto de 21 imágenes. El método propuesto presenta una buena precisión en general, aunque aún hay margen de mejora para la detección de algunas de las landmarks. El rendimiento está condicionado por el tiempo de ejecución, que depende del tamaño de la imagen. En el caso de que se desee utilizar este método para programas de cribado, se recomienda trabajar con un tamaño de imagen de 100 píxeles de alto.

1. Introducción

El cáncer de mama es el cáncer más común en mujeres tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. Se estima que alrededor de 508.000 mujeres murieron en 2011 debido a esta enfermedad [1]. Para superar esta enfermedad existen varios procedimientos quirúrgicos que pueden aplicarse en función del tamaño y tipo de tumor. Los más comunes son la mastectomía y la lumpectomía. La cantidad de tejido extirpado en estos procedimientos puede variar en gran medida dependiendo de las características de la paciente y del tumor [2].

Los cambios en la apariencia tras el tratamiento quirúrgico del cáncer de mama tienen un impacto considerable en la rehabilitación psicosocial y calidad de vida de las supervivientes, siendo importante un buen resultado estético tras la cirugía.

Los enfoques actuales para la evaluación estética de los resultados de la reconstrucción mamaria son bastante limitados, siendo un reto la definición de los parámetros óptimos que faciliten su cuantificación [3]. En este sentido, se deben determinar los factores del tratamiento que tienen un impacto considerable en el resultado estético, así como los parámetros a considerar al evaluar el resultado.

Actualmente, cirujanos, médicos y pacientes a menudo evalúan la simetría y proporcionalidad de la reconstrucción de forma subjetiva y cualitativa [3]. Sin embargo, estos métodos son altamente dependientes de la variabilidad inter e intra-observador, y su naturaleza cualitativa limita posteriores análisis. Los métodos cuantitativos actuales tienen en cuenta medidas antropométricas [4], bidimensionales [5-6] o tridimensionales [7-8].

Los resultados estéticos satisfactorios están relacionados con la forma y tamaño de la mama, así como con su ubicación en el pecho, entre otros factores. Las medidas más comunes tomadas sobre el cuerpo de la paciente se representan en la Figura 1, usando como referencia las siguientes landmarks: escotadura supra-esternal (ESE), pezones y surco sub-mamario (SSM).

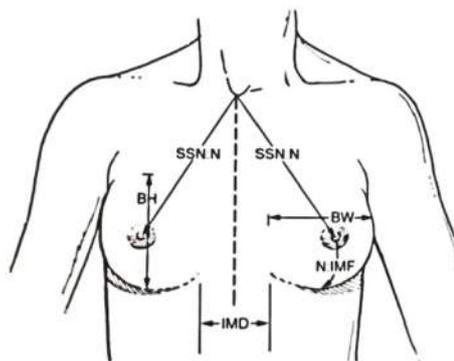


Figura 1. Medidas antropométricas comunes para la evaluación estética de la reconstrucción mamaria. SSN: Escotadura supra-esternal. N: Pezón. BH: Altura de la mama. BW: Ancho de la mama. IMF: Surco sub-mamario. IMD: Distancia inter-mamaria.

La detección automática de estas landmarks podría proporcionar un método cuantitativo y objetivo para la evaluación del resultado de la reconstrucción mamaria post-mastectomía. Por otra parte, estas landmarks podrían constituir las bases anatómicas para llevar a cabo la reconstrucción virtual de la mama a partir de una imagen clínica para ayudar al cirujano en la planificación de la reconstrucción, lo que ha demostrado ser de ayuda en

términos de reducción de la toma de decisiones intraoperativas y de los tiempos quirúrgicos [9]

2. Materiales y métodos

El método desarrollado está basado en un análisis morfológico y de iluminación y en el algoritmo del camino más corto de Dijkstra [10]. El método completo incluye un preprocesado automático de la imagen en el que se segmenta la silueta, se detectan referencias globales (centroide y eje de simetría) y se parcela la imagen (cuello, axila I, axila D, mama I y mama D). Tras este preprocesado, se lleva a cabo la detección automática de las *landmarks*.

2.1. Detección de la ESE

La ESE, punto donde las clavículas se unen al esternón, está a menudo ubicada en la zona más oscura de la parcela del cuello. Para su detección se propone un enfoque basado en un análisis de la iluminación. Sobre el canal rojo de la parcela del cuello, se realiza la corrección de la iluminación global sustituyendo el nivel promedio de intensidad de la fila i -ésima (el método es análogo para las columnas) por la diferencia entre el valor original y el resultante de modelar la intensidad promedio de las filas con un polinomio de regresión de segundo orden. La coordenada y de la ESE será la correspondiente al mínimo global de las intensidades corregidas tras eliminar los puntos anteriores (posteriores) al primer (último) cruce por cero para evitar la dispersión. La Figura 2 ilustra este proceso.

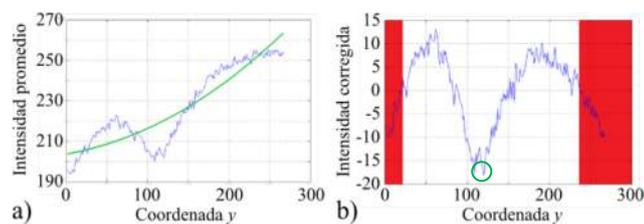


Figura 2. Detección de la ESE. a) Intensidad promedio de las filas (azul) y polinomio de regresión de 2º orden (verde). b) Intensidad promedio corregida (azul), puntos descartados (rojo) y mínimo global (verde).

2.2. Detección de los pezones

Para la detección de los pezones se propone un algoritmo de dos pasos: en primer lugar se detectan posibles regiones candidatas en las parcelas de ambas mamas y posteriormente se clasifican por parejas en función de características morfológicas y de intensidad. Dado que en el canal verde el pezón muestra niveles bajos de intensidad, segmentamos dicho canal en ambas regiones siguiendo un algoritmo multi-umbral basado en el método de Otsu [11] con 5 umbrales, y se descartan las regiones pertenecientes a los 3 niveles más brillantes. Las regiones restantes son sometidas a un filtrado morfológico (cierre más apertura) para suavizar los bordes con un elemento estructural circular cuyo radio se calcula automáticamente en función del tamaño de la región siguiendo la Ecuación 1.

$$r = \sqrt{(f_p^2 + c_p^2)/\alpha} \quad (\text{Ecuación 1})$$

donde f_p y c_p son el número de filas y columnas de la parcela correspondiente. α se ha calculado de forma empírica para optimizar el resultado de la detección. En este trabajo $\alpha = 250$. Posteriormente, se excluyen aquellas regiones que cumplan con alguno de los siguientes criterios morfológicos: (i) región en contacto con el marco de la parcela, (ii) su eje mayor es 3 (o más) veces superior a su eje menor, (iii) regiones con al menos un hueco, y (iv) su tamaño es menor que el elemento estructural calculado anteriormente. Los polígonos convexos de las regiones restantes son considerados los candidatos.

Para la clasificación, se empareja un candidato de cada región en todas las combinaciones posibles y, para cada pareja, se calcula el valor absoluto de las siguientes características: (i) diferencia de tamaño, (ii) diferencia de las distancias entre los centroides de cada región y el eje de simetría, (iii) diferencia de las distancias entre los centroides de cada región y la primera fila de las parcelas, y (iv) diferencia de la intensidad promedio del canal verde de cada región. Los centroides de la pareja de regiones más similares (con menores diferencias) son considerados los pezones detectados.

2.3. Detección del SSM

Para la detección del SSM, este trabajo presenta una modificación del método propuesto por Cardoso et al. [12], en el que hacen un uso intensivo del algoritmo de Dijkstra para hallar los extremos externos del SSM. En este trabajo, con el objetivo de mejorar el rendimiento, se asume que la axila es el punto inicial del surco y, como primera aproximación, el punto final será un punto situado a la misma altura que la axila y en el lado opuesto de la parcela de la mama. La detección de la axila se realiza siguiendo un enfoque basado en el análisis morfológico y de la iluminación. Para ello, se segmenta el canal rojo de la parcela de la axila siguiendo el algoritmo multi-umbral basado en el método de Otsu con 3 umbrales, y se descartan las regiones pertenecientes a los 3 niveles más brillantes. Posteriormente se eliminan las regiones espurias mediante la aplicación de un cierre morfológico con un elemento estructural circular cuyo radio es igual al 5% de la altura de la parcela de la axila. Por último, se descartan las regiones que estén en contacto con los bordes laterales y superior de dicha parcela. La axila se considera el punto más alto de la región restante. La Figura 3 ilustra este proceso.

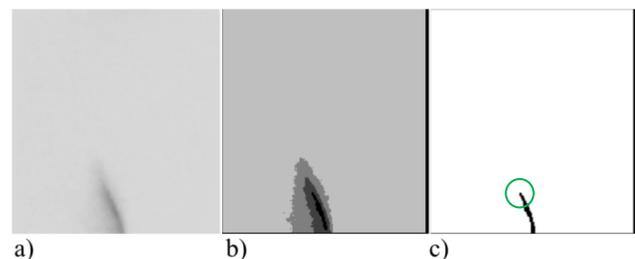


Figura 3. Detección automática de la axila. a) Canal rojo de la parcela de la axila. b) Segmentación multi-umbral. c) Región restante (la axila es el punto más alto).

Una vez detectada la axila, se procede a la detección del SSM. En primer lugar, se calcula la imagen gradiente del canal verde de la parcela de la mama mediante la aplicación del operador de Sobel [13]. Tras normalizar la intensidad de la imagen resultante, se aplica la transformación no lineal definida en la Ecuación 2 para realzar el contraste de la imagen.

$$h(\bar{D}) = \begin{cases} 1 - \bar{d}_{ij}^\gamma & \bar{d}_{ij} \geq t_h \\ 0 & \text{e. o. c.} \end{cases} \quad (\text{Ecuación 2})$$

donde \bar{D} es la imagen gradiente normalizada, \bar{d}_{ij} es el valor de la intensidad del pixel situado en la i -ésima fila y j -ésima columna de la imagen \bar{D} , t_h es el umbral calculado como el promedio de \bar{D} , y γ es una constante cuyo valor se ha establecido de forma empírica a 0.5 para optimizar el resultado de la detección. A continuación se aplica el algoritmo de segmentación multi-umbral basado en el método de Otsu con 2 umbrales tras llevar a cabo la inversión de la imagen resultante. Los tres niveles resultantes son cuantizados a los valores [2, 16, 2048]. Esto resulta en una matriz de cuantización que servirá como la matriz de costes para aplicar a continuación el algoritmo de Dijkstra entre la axila y el punto final estimado para detectar el SSM. El surco resultante se refina descartando el conjunto de puntos del tramo final que cumplen las siguientes condiciones: (i) el coste asociado de cada punto del conjunto es igual al coste máximo, (ii) los puntos son consecutivos, y (iii) el conjunto incluye al punto considerado como final en la primera aproximación. La Figura 4 ilustra este proceso.

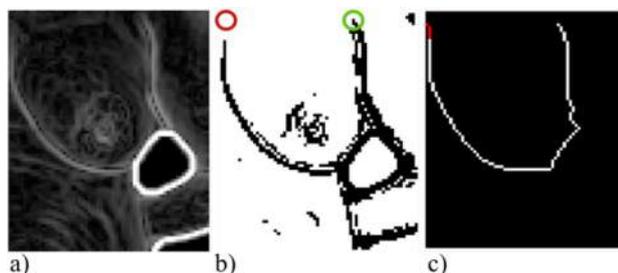


Figura 4. Detección del SSM. a) Realce de contraste de la magnitud del gradiente del canal verde. b) Imagen cuantizada (el punto inicial en verde y la aproximación del final en rojo). c) SSM detectado (blanco), en rojo los píxeles descartados tras refinar el SSM.

3. Resultados

La validación del método propuesto se ha realizado con un conjunto de 21 imágenes clínicas tomadas con una cámara Canon EOS 1000D con objetivo Canon EFS 17-85 mm sobre las que un experto ha marcado manualmente la ESE, pezones y SSM para establecer el *gold standard*. Se ha evaluado la precisión en términos de la distancia Euclídea entre las *landmarks* detectadas de forma manual y automática para la ESE, axilas y pezones, y en términos de sensibilidad (*SE*) y especificidad (*SP*) para el SSM (Ecuación 3). Estos valores se calculan sobre el área encerrada por el SSM y la recta que une sus puntos inicial y final.

$$\begin{aligned} SE &= VP / (VP + FN) \\ SP &= VN / (VN + FP) \end{aligned} \quad (\text{Ecuación 3})$$

donde *VP* son los verdaderos positivos, *FN* los falsos negativos, *VN* los verdaderos negativos y *FP* los falsos positivos.

Dado que la mayor carga computacional del método la soporta el algoritmo de detección del SSM, se ha llevado a cabo un análisis del rendimiento en términos del tiempo medio de ejecución para 5 resoluciones diferentes de la parcela de la mama de cada imagen (40, 60, 80 100 y 120 píxeles de alto) y de la variabilidad promedio en el tiempo de ejecución tras ejecutar el algoritmo 20 veces sobre la misma imagen.

Con el objetivo de analizar la evolución de la detección del SSM en función de la resolución, se ha evaluado su precisión para cada una de las resoluciones estudiadas.

3.1. Precisión de la detección

A continuación se resumen los resultados obtenidos respecto a la precisión de la detección del método.

<i>Landmarks</i>	ESE	Axila	Pezón
Media \pm std [cm]	2.47 \pm 1.70	1.66 \pm 1.36	5.06 \pm 4.43

Tabla 1. Error de detección de las *landmarks* ESE, axila y pezón en términos de la distancia Euclídea.

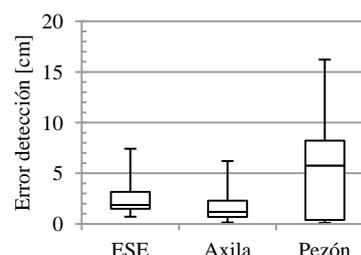


Figura 5. Distribución del error de detección para las *landmarks* ESE, axila y pezón.

La precisión de la detección de la ESE y de la axila se mantiene en unos niveles razonables, mientras que el error de detección del pezón indica que este método no parece apropiado para esta tarea y debe ser revisado.

Resolución [px]	40	60	80	100	120
SE (media) [%]	70.43	79.40	81.94	84.47	84.88
SE (std) [%]	21.99	20.74	20.99	20.59	20.17
SP (media) [%]	96.55	95.94	95.59	95.27	95.25
SP (std) [%]	3.02	3.61	3.76	3.60	3.72

Tabla 2. Error de detección del SSM para las 5 resoluciones bajo estudio en términos de sensibilidad y especificidad.

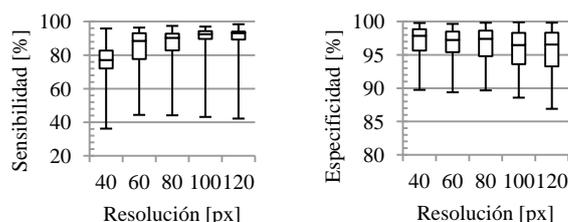


Figura 6. Distribución del error de detección del SSM para las 5 resoluciones bajo estudio en términos de sensibilidad (izquierda) y especificidad (derecha).

La evolución de la sensibilidad de la detección del SSM respecto al tamaño de la parcela de la mama presenta una tendencia ascendente que se estabiliza en torno a una resolución de 100 píxeles de alto, mientras que la especificidad se mantiene prácticamente constante para todas las resoluciones incluidas en el estudio.

3.2. Análisis del tiempo de ejecución

A continuación se resumen los resultados del rendimiento del algoritmo de detección automática del SSM.

Resol. [px]	40	60	80	100	120
Media [seg]	20.60	95.28	285.66	758.63	1510.68
Std [seg]	2.47	13.15	40.76	120.75	228.93

Tabla 3. Tiempos de ejecución del algoritmo de detección automática del SSM para cada resolución en estudio.

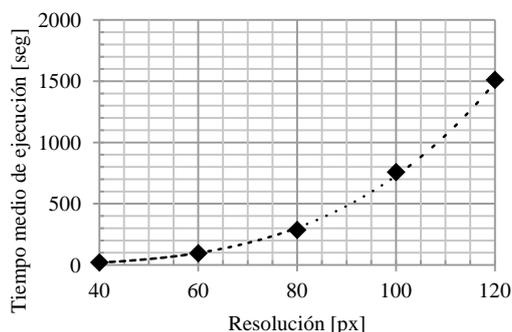


Figura 7. Tiempo medio de ejecución del algoritmo de detección automática del SSM en función de la resolución.

El tiempo medio de ejecución crece de manera exponencial al aumentar la resolución, mientras que la variabilidad en el tiempo de ejecución tras ejecutar el algoritmo 20 veces sobre la misma parcela (40 píxeles de alto) es de 13.85 ± 0.93 segundos.

4. Conclusiones

Se ha desarrollado y validado un método de detección automática de *landmarks* para la evaluación objetiva de los resultados de la reconstrucción mamaria post-mastectomía. El trabajo incluye un método novedoso para la detección automática de la ESE, ya que los autores no han hallado ninguna evidencia en la literatura de cómo abordar este problema. El método propuesto presenta una precisión adecuada, aunque aún hay margen de mejora en la detección de la ESN. Las imágenes usadas para la validación incluyen a pacientes mastectomizadas, por lo que carecen de alguno de los pezones. Este hecho, unido a que el método de detección del pezón está basado en una clasificación por parejas, podría motivar la baja precisión del método propuesto. Respecto a la detección automática del SSM, el método alcanza unos excelentes niveles de sensibilidad y especificidad que se estabilizan en torno a una resolución de la parcela de la mama de 100 píxeles de alto. El tiempo de ejecución de este algoritmo crece de manera exponencial al aumentar la resolución de la imagen, siendo útil para su uso en programas de cribado a una resolución de 100 píxeles.

Las líneas de trabajo futuro abarcarán la inclusión de más imágenes para validación, mejoras en los algoritmos de detección de la ESN y pezón, y un análisis de la variabilidad intra- e inter-observador.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía (proyecto RENACER exp. PI-0223/2012) y la Plataforma ITEMAS.

Referencias

- [1] World Health Organization. Global Health Estimates: methods and data sources for global causes of death 2000–2011. *Global Health Estimates Technical Paper WHO/HIS/HSI/GHE/2013.3*, 2013, Geneva, Switzerland.
- [2] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, vol 136, sup 5, 2015, pp E359-E386.
- [3] Oliveira HF. An affordable and Practical 3D Solution of the Aesthetic Evaluation of Breast Cancer Conservative Treatment. *PhD Thesis*, 2015, Porto.
- [4] Kim MS, Sbalchiero JC, Reece GP, Miller MJ, et al. Assessment of breast aesthetics. *Plast Reconstr Surg*, vol 121, sup 4, 2008, pp 186e-194e.
- [5] Kim MS, Rodney WN, Reece GP, Beahm EK, et al. Quantifying the aesthetic outcomes of breast cancer treatment: assessment of surgical scars from clinical photographs. *J Eval Clin Pract*, vol 17, sup 6, 2008, pp 1075–1082.
- [6] Pezner RD. Breast retraction assessment: an objective evaluation of cosmetic results of patients treated conservatively for breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, vol 11, 1985, pp 575–578.
- [7] Galdino GM, Nahabedian M, Chiaramonte M, Geng JZ, et al. Clinical applications of three-dimensional photography in breast surgery. *Plast Reconstr Surg*, vol 110, sup 1, 2002, pp 58-70.
- [8] Losken A, Seify H, Denson DD, Paredes AAJ, et al. Validating three-dimensional imaging of the breast. *Ann Plast Surg*, vol 54, 2005, pp 471–476.
- [9] Gómez-Cía T, Gacto-Sánchez P, Sicilia D, Suárez C, Acha B, Serrano C, et al. The virtual reality tool VirSSPA in planning DIEP microsurgical breast reconstruction. *International journal of computer assisted radiology and surgery*, vol 4, sup 4, 2009, pp 375-382.
- [10] Dijkstra EW. A note on two problems in connexion with graphs. *Numerische mathematic*, vol 1, sup 1, 1959, pp 269-271.
- [11] N. Otsu. A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms. *IEEE Transactions on systems, man, and cybernetics*, vol 1, 1979, pp 62-66.
- [12] Cardoso JS, Teixeira LF, Cardoso MJ. Automatic Breast Contour Detection in Digital Photographs. *HEALTHINF*, vol 2, 2008, pp 91-98.
- [13] Sobel I. Neighbourhood coding of binary images for fast contour following and general binary array processing. *Computer graphics and image processing*, vol 8, sup 1, 1978, pp 127-135.

Continuous convex relaxation methodology applied to retroperitoneal tumors

C. Suárez-Mejías¹, J.A. Pérez-Carrasco², C. Serrano², C. Parra Calderón¹, B. Acha²

¹ Technological Innovation Group, Virgen del Rocío University Hospital, Sevilla, Spain, {cristina.suarez.exts, carlos.parra.sspa}@juntadeandalucia.es

² Signal Theory and Communications Department, Sevilla, Spain, {jperez, bacha, cserrano}@us.es

Abstract

In this paper, two algorithms for the segmentation of tumors in soft tissues are presented and compared. These algorithms are applied to the segmentation of retroperitoneal tumors. Method: The algorithms are based on a continuous convex relaxation methodology with the introduction of an accumulated gradient distance (AGD). Algorithm 1 is based on two-label convex relaxation and Algorithm 2 applies multilabel convex relaxation. Results: Algorithms 1 and 2 are tested on a database of 6 CT volumes and their results are compared with the manual segmentation. The multilabel version performs better, achieving a 91% of sensitivity, 100% of specificity, 88% of PPV and 89% of Dice index. Conclusions: To the best of our knowledge, this is the first time that the segmentation of retroperitoneal tumors has been addressed. Two segmentation algorithms have been compared and the multilabel version obtains very good results.

Introduction

The segmentation of tumors in radiological images is a challenge. Methods based on active contour are widely used for tumors in liver [1], lung [2-4], prostate [5-7] and lymph nodes [8,9] in axillaries and pelvic regions. Besides, active curve evolution can lead to local optima of the minimization energy function and suffers from high sensitivity to initialization. Graph cut techniques have the advantage of guaranteeing global optima almost in real time. Thus, these techniques have been successfully applied in recent works [10][11]. In [12-16] the authors also applied graph-cut for the segmentation of lung, brain and prostate tumors. Also, Zhang et al. [17] used it for cervical lymph nodes on sonograms and Feulner et al. [18, 19] for lymph node detection in the mediastinum. In this paper retroperitoneal masses are segmented. They are a diverse group of benign and malignant tumors that arise within the retroperitoneal space but outside the major organs in this space. Among the retroperitoneal masses, 70%–80% are malignant [20]. The retroperitoneal space is hidden toward the back of the abdomen where organs are quite mobile. Thus, retroperitoneal tumors do not have an established pattern and can grow quite large, even moving organs out of their path, before being discovered. Due to these characteristics, well-known methods for the automatic segmentation of tumors does not usually perform well when they are applied to segment this kind of tumors.

In this paper, two algorithms for segmentation of retroperitoneal tumors are proposed and compared. The proposed algorithms are based on continuous convex relaxation method [21-24] which shares the advantages of both active curves and graph cuts. Some recent studies [25]

showed that, in 3D, convex relaxation approaches outperform graph cuts in terms of speed and accuracy. In [26] is used to segment the carotid in 3D MRI images, in [27] to extract myocardial scar tissue, in [28] to segment the femoral artery lumen and outer wall surfaces, in [29] for lateral ventricles in preterm neonates and in [30,31] to delineate 3D prostate. In these algorithms the accumulated gradient distance is introduced as novelty in the minimization of the energies. A preliminary version based on two labels was published in [32] and tested with only three CT images. A second algorithm has been developed, that is based on a multilabel convex relaxation.

Methods

In this paper, a comparison between two algorithms for the segmentation of retroperitoneal tumors using a continuous convex relaxation methodology has been carried out. The two algorithms consist of four stages: a pre-processing step, a second stage to compute the accumulated gradient distance image, a continuous convex relaxation stage and a final post-processing stage to improve the segmentation results. The first algorithm implements a two-label segmentation. The second one uses a multi-label strategy to implement the segmentation.

Preprocessing stage

This stage is common for the two algorithms and it implements a contrast enhancement operation. First, the tumor is manually segmented in one CT slice. The manual segmentation does not need to be performed on a specific slice, only on a slice where the tumor is included. Furthermore, this segmentation does not have to be very precise. The same manual segmentation was used for the two algorithms. This manual segmentation is employed to estimate the mean Hounsfield level inside the tumor. Then, an exponential law is applied to all the slices within the CT volumes (see Eq. 1). According to the parameters of this exponential law, values close to the mean inside the tumor will have an approximate linear mapping whereas those values far from the mean will be closely saturated to 0 or 1.

$$output = \frac{1}{1 + e^{-ov/level}} \quad (1)$$

In Eq. (1) ov is the Hounsfield gray level of the original image and $level$ is the average Hounsfield value inside the tumor in the slice manually segmented.

Computation of the Accumulated Gradient Distance Volume stage

The second step that both algorithms share is the computation of the *accumulated gradient distance* for each CT volume. In this stage the gradient of the volume GV is first computed in the three directions x , y and z . Once the gradient has been obtained we proceed to compute the accumulated gradient distance volume ($AGDV$) or gradient distance from the manually segmented tumor in one slice to the rest of the volume. To do this, the *generalized distance function algorithm (GDF)* described in [33] is used.

Let $N^+(p)$ be the 13 neighbors in the 26-connected neighborhood of p which are scanned before p in a raster scan. Similarly, $N^-(p)$ are the 13 neighbors of p which are scanned before p in an antiraster scan. Let GV be the gradient volume computed in the previous step. And let $C_f(p, q) = GV(p) + GV(q)$ be the associated cost of two neighboring voxels p and q . The GDF algorithm proceeds as follows:

- 1) Initialize the accumulated gradient distance, d_f , of pixel p as: $d_f(p) = 0$, if p belongs to the tumor in the manually segmented slice and $d_f(p) = +\infty$ otherwise.

- 2) Iterate until stability, for each pixel p :

Scan image in raster order:

$$d_f \leftarrow \min \{d_f(p), \min \{d_f(q) + C_f(p, q), q \in N^+(p)\}\} \quad (2)$$

Scan image in anti-raster order:

$$d_f \leftarrow \min \{d_f(p), \min \{d_f(q) + C_f(p, q), q \in N^-(p)\}\} \quad (3)$$

The accumulated gradient distance provides low values in the tumor area and high values outside the tumor. Figure 1 illustrates the preprocessing and the information contained in the Gradient Distance Image.



Figure 1. a) A slice of the patient before the enhancement operation, b) same slice after the contrast enhancement operation, c) Gradient Distance Image.

Two-label Segmentation (Algorithm 1)

In this stage, the accumulated gradient distance image ($AGDV$) will be utilized to carry out the segmentation. In the two algorithms, the segmentation has been implemented using the fast continuous max-flow method (CMF) proposed by J. Yuan et al [21][23]. In the two-label implementation [32], the continuous convex relaxation algorithm solves the segmentation as the following minimization problem:

$$\min_{u(x) \in [0,1]} \int_{\Omega} (1-u(x))C_s(x)dx + \int_{\Omega} u(x)C_t(x)dx + \int_{\Omega} C(x)|\nabla u(x)|dx \quad (4)$$

Where C_s and C_t are regional terms, $u(x) \in [0,1]$ is the labeling function and $C(x)$ is a penalty function. The most right term of Eq. (4) is the regularization term and $|\nabla u(x)|$ is the absolute gradient of the labeling function $u(x)$, thus indicating the boundary of the segmented region.

If the minimization problem is well defined, the cost function $C_s(x)$ should take high values outside the tumor and low values inside the tumor. Similarly, $C_t(x)$ should take low values outside the tumor and high values inside the tumor.

In our implementation, the terms C_s and C_t are computed using the information provided by the $TAGD$ as follows:

$$(5)$$

The constant 0.16 in Eq. (5) has been fixed experimentally. It corresponds to the average mean value of $AGDV$ outside the tumor for the different cases that have been analyzed.

Multi-label Segmentation (Algorithm 2)

In Algorithm 2, the AGD 3D volume is thresholded in order to form a mask to be applied to the preprocessed image. The resultant 3D image after applying this mask to the preprocessed image is called $TAGD$ (*Thresholded by Accumulated Gradient Distance*) image and it is used as input to the continuous convex relaxation segmentation. Differently to the two-label algorithm, in the multi-label segmentation algorithm the minimization function in Eq. (4) is substituted by:

$$\min_{u_i(x) \in [0,1]} \sum_{i=1}^n \int_{\Omega} (u_{i-1}(x) - u_i(x))\rho_i(x)dx + \int_{\Omega} C(x)|\nabla u_i(x)|dx \quad (6)$$

$$\text{s.t. } 1 = u_0(x) \geq u_1(x) \geq \dots \geq u_{n-1}(x) \geq u_n(x)$$

where $u_i(x) \in [0,1]$ and the regional terms $\rho_i(x)$ must take low values within region I_i . As retroperitoneal tumors are usually composed by different ranges of gray levels, several labels are required to select them. Some experimental tests were done and the best option was to use four labels: one for the background, one for different tissues not belonging to the tumor, and two labels for the tumor. In this sense, $\rho_i(x)$ was defined as:

$$\begin{aligned} \rho_1(x) &= |TAGD(x) - 0| \\ \rho_2(x) &= |TAGD(x) - \mu + \sigma| \\ \rho_3(x) &= |TAGD(x) - \mu| \\ \rho_4(x) &= |TAGD(x) - \mu - 4\sigma| \end{aligned} \quad (7)$$

$TAGD$ image is a 3D gray-level image where ideally, the tumor values are around μ , where μ is the average gray-level of the tumor and σ its standard deviation within the manually segmented slice. After the minimization, the tumor will be concentrated in the central labels, more

specifically, in labels 2 and 3 and labels 1 and 4 will include background or other tissue values.

The penalty function in Eq. 6 is computed as follows:

$$C(x) = \frac{b}{1 + a \cdot |\nabla TAGD(x)|}, \quad a, b > 0 \quad (8)$$

where parameters a and b control the weight of the gradient in the penalty function $C(x)$ and $|\nabla TAGD(x)|$ is the absolute value of the gradient of the $TAGD$ volume. The values for a and b , obtained experimentally, are 100 and 2 respectively.

Results

The algorithm 1 and the algorithm 2 have been programmed in MATLAB R2011a (The MathWorks Inc. 3 Apple Hill Drive, Natick, MA 01760-2098, US) and have been validated using 6 CT images of retroperitoneal tumors, each one composed by 200 512x512 slices. Some objective performance measurements have been calculated: Sensitivity (Se), Specificity (Sp), Positive Predictive Value (PPV), Jaccard index and Dice index. Both Jaccard and Dice coefficients measure the agreement between two sets in terms of false positive, false negative, true negative and true positive counts. In our approach, true positives are those voxels classified as tumor both by the algorithm and the specialist. False positives are those voxels classified as tumor by the algorithm but not by the specialist. True negatives are voxels classified as not belonging to the tumor both by the tool and the specialist. Finally, false negatives are voxels classified as not belonging to the tumor by the algorithm but classified as tumor by the specialist. Table 1 shows these coefficients for the two algorithms in the 6 cases analyzed.

As shown in Table 1, Algorithm 1, which uses a two-label scheme, did not select tumors correctly in 2 out of the 6 cases analyzed, whereas Algorithm 2 (multilabel) selected properly the tumors in all the cases. In Fig. 1 comparisons between segmentation results obtained with Algorithm 1 and Algorithm 2 with respect to the manual segmentation (in red) are shown.

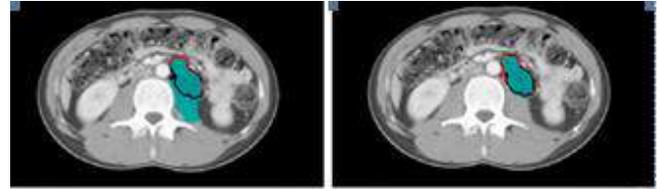


Figura 2. Example of segmentation. Left: Result of Algorithm 1 (in blue) Right: Result of Algorithm 2 (in blue). In red, manual segmentation provided by the specialist.

Conclusions

In this paper the comparison and validation of two algorithms for semiautomatic segmentation of retroperitoneal tumors is presented. Both algorithms are based on continuous convex relation optimization. The first one uses a two-label implementation and the second one follows a multilabel scheme. Both algorithms have been assessed using 6 real cases (200 512x512 CT slices) and compared to their manual segmentations were provided by one specialist (used as ground truth segmentations). Several parameters such as PPV, Sensitivity, Specificity, Jaccard, or DICE coefficients were computed to quantify the performance and accuracy of both algorithms. The multilabel version performs much better than the single-label version, achieving a 90% of Sensitivity, 100% of Specificity, 88% of PPV, 80% of Jaccard index and 89% of Dice index.

Case	Algorithm 1					Algorithm 2				
	Se	Sp	PPV	Jaccard	mDice	Se	Sp	PPV	Jaccard	mDice
1	0	0	0	0	0	0,96	0,99	0,81	0,78	0,88
2	0,86	0,99	0,90	0,79	0,88	0,96	0,99	0,93	0,89	0,94
3	0,74	0,99	0,88	0,68	0,80	0,86	1	0,89	0,77	0,87
4	0,95	0,99	0,62	0,59	0,74	0,78	1	0,87	0,69	0,81
5	0,97	0,99	0,63	0,62	0,76	0,94	1	0,92	0,87	0,93
6	0,003	0,99	0	0,002	0,005	0,93	1	0,87	0,82	0,90
Mean±Desviation	0,59±0,46	0,83±0,40	0,51±0,41	0,45±0,35	0,53±0,41	0,91±0,07	1±0,01	0,88±0,04	0,80±0,07	0,89±0,05

Table 1 Performance of Algorithm 1 and Algorithm 2

Acknowledgments

This research has been cofinanced by P11-TIC-7727 (Government of Andalusia, Spain), PT13/0006/0036.

References

- [1] Luo Z. Segmentation of liver tumor with local C-V level set. *Mechanic Automation and Control Engineering (MACE) IEEE* 2011, pp 7660-7663.
- [2] Wook-Jin C, Tae-Sun C. Automated pulmonary nodule detection based on three-dimensional shape-based feature descriptor. *Comput Meth Prog Bio* 113 vol 1, 2014, pp 37-54.
- [3] Kuruvilla J, Gunavathi K. Lung cancer classification using neural networks for CT images. *Comput Meth Prog Bio* 113, vol 1, 2014, pp 202-209.
- [4] Sun T, Wang J, Li X, Lv P et al. Comparative evaluation of support vector machines for computer aided diagnosis of lung cancer in CT based on a multi-dimensional data set. *Comput Meth Prog Bio* vol. 111, sup 2, 2013, pp 519-524.
- [5] Gao Y, et al. Prostate segmentation by sparse representation based classification. *Med Image Computing and Computer-Assisted Intervention* vol 15, 2013, pp 451-458.
- [6] Moradi M, Janoos, et al. Two solutions for registration of ultrasound to MRI for image-guided prostate interventions. *Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBS, 2012*, pp. 1129-1132.
- [7] Plajer I, Nguyen-Pham T-K, Detlef Richter. Tumour Segmentation by Active Contours in 3d CT Wavelet Enhanced Image Data, *17th European Signal Processing Conference*, Glasgow, Scotland, 2009.
- [8] Chen Q, Quan F, Xu J, Rubin D L. Snake model-based lymphoma segmentation for sequential CT images. *Comput Meth Prog Bio* vol. 111, sup. 2, 2013, pp 366-375.
- [9] Barbu A, Suehling M, Xun X et al. Automatic Detection and Segmentation of lymph Nodes from CT Data. *IEEE T Med Imaging*, vol 31, 2012, pp 241-250.
- [10] Boykov Y, Funka G. Graph cuts and efficient N-D image segmentation. *Int. J. Comput. Vision*, vol.70,2009,pp109-131.
- [11] Boykov Y, Kolmogorov V. An experimental comparison of min-cut/max-flow algorithms for energy minimization in vision. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.* Vol 26, 2004, pp 1124-1137.
- [12] Ballangan C, et al. Lung tumor segmentation in PET images using graph cuts. *Comput Meth Prog Bio* vol.109, sup.3, 2013, pp 260-268
- [13] Song Q, Chen M, Bai J et al Surface region context in optimal multi-objet Graph Based Segmentation: Robust Delineation of Pulmonary Tumors, *IPMI*, 2011, pp 61-72.
- [14] Lermé N, Malgouyres F, Rocchisani JM Fast and memory efficient segmentation of lung tumors using graph cuts. *MICCAI, Third International workshop on Pulmonary Image Analysis*, Beijing, 2010, pp. 9-20.
- [15] Chen V, Ryan S. Graph cut segmentation technique for MRI brain tumor extraction, *Image Processing Theory, Tool and Applications* 2010, pp 284-287.
- [16] Moschidis E Graham J. Interactive Differential Segmentation of the Prostate using Graph-Cuts with a Feature Detector-based Boundary Term. *In Proc. MIUA*, 2010, pp. 191-195.
- [17] Zhang J, Wang Y, Shi X. An improved graph cut segmentation method for cervical lymph nodes on sonograms and its relationship with node's shape assessment. *Comput Med Imag Grap* vol 33, 2009, pp 602-607.
- [18] Suzuki K. Segmentation based features for lymph node detection from 3D Chest CT, LNC, *Machine Learning in Medical Imaging*, 7009, 2011, pp 91-99.
- [19] Feulner J, Zhou S, Hammon M et al Lymph node detection and segmentation in chest CT data using discriminative learning and a spatial prior. *Med Image Anal*, 2012
- [20] Rajiah P, et al. Imaging of Uncommon Retroperitoneal Masses. *RadioGraphics*, vol. 31, 2011, pp 049-976.
- [21] Yuan J, Bae E et. al A study on continuous max-flow and min-cut approaches. *Computer Vision and Pattern Recognition*, San Francisco 2010, pp 2217-2224.
- [22] Bae E, et al. Global minimization for continuous multiphase partitioning problems using a dual approach. *Int. J. Comput. Vis.* Vol 92, sup1, 201, pp 112-129.
- [23] Cremers D et al, Convex relaxation techniques for segmentation, stereo and multiview reconstruction. *Markov Random Fields for Vision and Image Processing* 2011.
- [24] Punithakumar K, Yuan J, et al A Convex Max-Flow Approach to Distribution-Based Figure-Ground Separation, *SIAM J. Imaging Sciences* vol 5 sup 4, 2012, pp 1333-1354.
- [25] Yuan J, Ukwatta E, et al A fast global optimization-based approach to evolving contours with generic shape prior. *UCLA Tech. Report CAM*, 2012, pp 12-38.
- [26] Ukwatta E, Yuan J, et al. 3-D carotid multi-region MRI segmentation by globally optimal evolution of coupled surfaces. *IEEE T Med Imaging* vol32 sup4, 2013, pp770-785.
- [27] Rajchl M, et al. Interactive Hierarchical Max-Flow Segmentation of Scar Tissue from Late-Enhancement Cardiac MR Images. *IEEE TMI* vol33 sup1, 2014, pp159-72.
- [28] Ukwatta E, et al. Joint segmentation of 3D femoral lumen and outer wall surfaces from MR images, *International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention*, vol 8149 2013, pp 534-541.
- [29] Qiu W, Yuan J, et al. Lateral ventricle segmentation of 3D pre-term neonates US using convex optimization. *MICCAI vol 16*, 2013, pp 559-566.
- [30] Yuan J, Qiu W, et al. Efficient 3D Endfiring TRUS Prostate Segmentation with Globally Optimized Rotational Symmetry. *CVPR, Conference on IEEE* 2013, pp 2211-2218.
- [31] Qiu W, Yuan J et al. Prostate Segmentation: An Efficient Convex Optimization Approach With Axial Symmetry Using 3-D TRUS and MR Images. *IEEE T Med Imaging* vol 33, sup 4, 2014, pp 947-960.
- [32] Perez-Carrasco J, et al Segmentation of Retroperitoneal Tumors Using Fast Continuous Max-Flow Algorithm. *XIII MEDICOM* vol 41, 2013, pp360-363.
- [33] Vincent L Minimal path algorithms for the robust detection of linear features in gray images, *ISSM Proc.*, Amsterdam, The Netherlands, 1998 pp. 331-338.

Módulo de clasificación de estructuras anatómicas del cerebro basado en el análisis multiparamétrico de imágenes de resonancia magnética en la herramienta CogniVis.

J. García-Nova^{1,2}, B. Rodríguez-Vila^{1,2}, P. Sánchez-González^{1,2}, Marta Luna^{1,2}, J. M. Tormos³, E.J. Gómez^{1,2}

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

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

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

Resumen

En este trabajo de investigación se describe la metodología utilizada para la segmentación y clasificación de estructuras anatómicas cerebrales en la herramienta de visualización y navegación CogniVis. Dicha metodología utiliza algoritmos de registros 3D entre nubes de puntos generadas en estudios de resonancia magnética de pacientes y modelos generados con el atlas cerebral LPBA40 para obtener un modelo tridimensional del cerebro del paciente con las estructuras anatómicas segmentadas lo que sirve de ayuda y soporte a la decisión clínica.

1. Introducción

El estudio de las imágenes volumétricas de resonancia magnéticas del cerebro se ha convertido en un elemento esencial para el diagnóstico de patologías, lesiones y planificación de tratamientos en pacientes con daño cerebral adquirido [1].

A través del análisis cualitativo de las imágenes de resonancia magnética (MRI) del cerebro los especialistas son capaces de reconocer las distintas estructuras anatómicas que lo conforman, e identificar tumores y lesiones estructurales; pero este tipo de análisis se basa en el aprendizaje y la experiencia del especialista. Por otro lado, la segmentación de las estructuras cerebrales permite un análisis cuantitativo morfológico aportando información de tamaño, localización y volumen de las estructuras lo que permite un mejor diagnóstico.

Habitualmente se utiliza el método de segmentación manual, donde el radiólogo parcela las diferentes estructuras en cada imagen de un estudio de manera interactiva. Este proceso consume mucho tiempo y recursos y la segmentación puede tener variabilidad intra- e inter-especialista, pues existen estructuras anatómicas que no tienen contornos definidos y dependen en gran medida de la apreciación del especialista.

Por esta razón, la comunidad científica realiza innumerables esfuerzos para desarrollar algoritmos de segmentación basados en técnicas de visión por ordenador que sirvan de apoyo y soporte a la extracción y clasificación de las estructuras anatómicas del cerebro.

Numerosos algoritmos de segmentación se aplican a cortes individuales de imágenes de resonancia magnética para obtener la segmentación de las regiones anatómicas del cerebro pero este enfoque no suele ser adecuado para la segmentación de estructuras complejas, ya que algunos elementos pueden aparecer desconectados dentro de un mismo corte aunque realmente tengan vinculación en capas adyacentes [2]. También puede ocurrir que los estudios de imágenes que se les realizan a los pacientes provengan de equipos diferentes, con distintas configuraciones y donde puede variar el número de cortes de imagen del estudio; esto hace que sea difícil relacionar estructuras segmentadas en cortes tomados a alturas diferentes.

Este trabajo propone una metodología que permite segmentar las estructuras anatómicas del cerebro mediante un enfoque tridimensional, donde a partir del registro 3D entre las nubes de puntos formadas por descriptores robustos tomados en los planos coronal, sagital y axial de un paciente y la nube de punto creada a partir del atlas cerebral LPBA40 (The LONI Probabilistic Brain Atlas) [3] se pueden obtener las estructuras anatómicas segmentadas en el cerebro del paciente.

2. Materiales y Método

La metodología propuesta se basa en el análisis de las características tridimensionales de los estudios MRI en pacientes para construir sus modelos volumétricos y posteriormente realizarles un registro 3D con el modelo de normalidad obtenido del atlas cerebral LPBA40.

En la Figura 1 se representa la secuencia de procesos que conforman la metodología. Esta parte del pre-procesado y acondicionamiento de los estudios de imágenes de los pacientes para llevarlos a un espacio anatómico común normalizado en intensidad. Luego se aplica el algoritmo extractor de características NBDA (Neuroanatomic-Based Detection Algorithm) [4] a todos los cortes de imagen en los planos coronal, sagital y axial y se construye una nube de punto tridimensional con las características extraídas que describe el modelo volumétrico del cerebro del paciente.

Paralelamente se obtiene la nube de puntos del modelo de normalidad al aplicar el algoritmo NBDA a todos los cortes de imagen en los tres planos del atlas cerebral LPBA40, que está construido con los estudios MRI de 40 pacientes sanos y cuenta con 56 estructuras cerebrales que han sido segmentadas de manera manual por expertos.

Una vez obtenidas las dos nubes de puntos se emplea un algoritmo de registro iterativo para obtener el campo de vectores de transformación que relaciona ambas nubes. El campo de vectores obtenido es aplicado al modelo tridimensional del atlas. De esta manera logramos obtener un modelo volumétrico modificado con las características del paciente y con las estructuras parceladas del atlas. Posteriormente, y utilizando técnicas de clasificación, se obtienen las estructuras anatómicas del paciente.

La visualización y navegación del modelo volumétrico obtenido se realiza a través de la herramienta CogniVis [5] la cual permite visualizar las estructuras segmentadas en tres dimensiones.

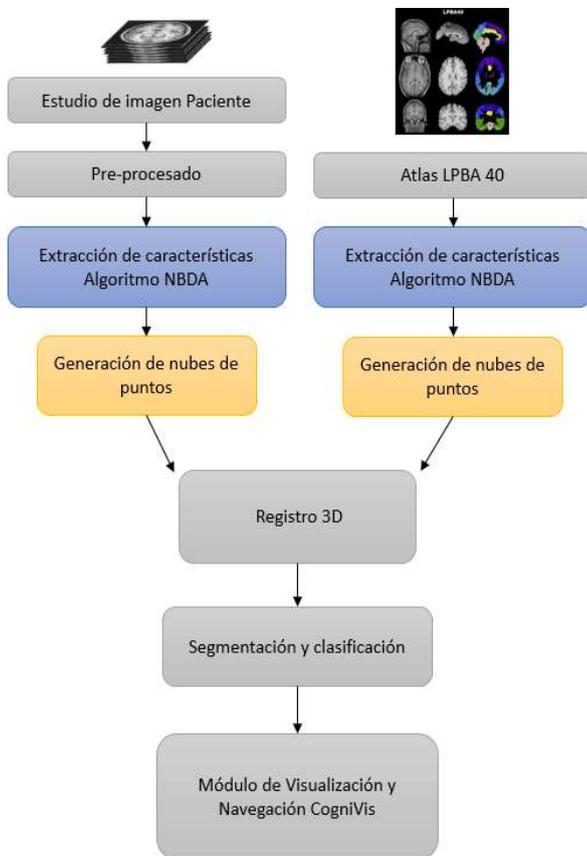


Figura 1: Esquema de la metodología.

Módulo de pre-procesado

En este bloque se realiza el ajuste de la posición, orientación y tamaño de cada estudio de imágenes que se desee procesar, se realiza una normalización de intensidad y se aplica el algoritmo de skull-stripping [6] para extraer el cerebro y poder aplicar los algoritmos detectores de características en un espacio anatómico común.

Módulo extractor de características

El módulo extractor de características utiliza el algoritmo NBDA [4] el cual se basa en el algoritmo SURF [7] y está especialmente diseñado para obtener puntos característicos robustos de manera homogénea en imágenes de resonancia magnética, como se muestra en la Figura 2.

El NBDA permite ser utilizado en la identificación de estructuras anatómicas en la región cortical y subcortical del cerebro. Este algoritmo se aplica a todos los cortes de imagen en los planos coronal, sagital y axial y con los puntos característicos de cada plano se crea una nube de puntos que caracteriza al cerebro del paciente.

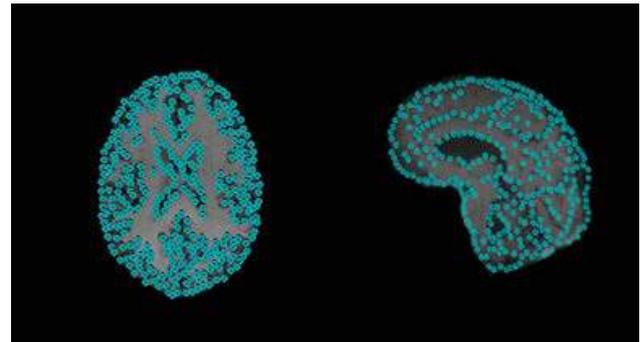


Figura 2: MRI axial y sagital con las características detectadas con el algoritmo NBDA.

Módulo de registro 3D

Una vez obtenidas las nubes de puntos tridimensionales, tanto en el estudio del paciente como en el modelo de normalidad del atlas LPBA40, se aplica un algoritmo de registro iterativo ICP (Iterative Closest Point) [8] que intenta encontrar de manera recursiva la transformación que mejor empareje ambas nubes de puntos, minimizando la distancia entre ellos.

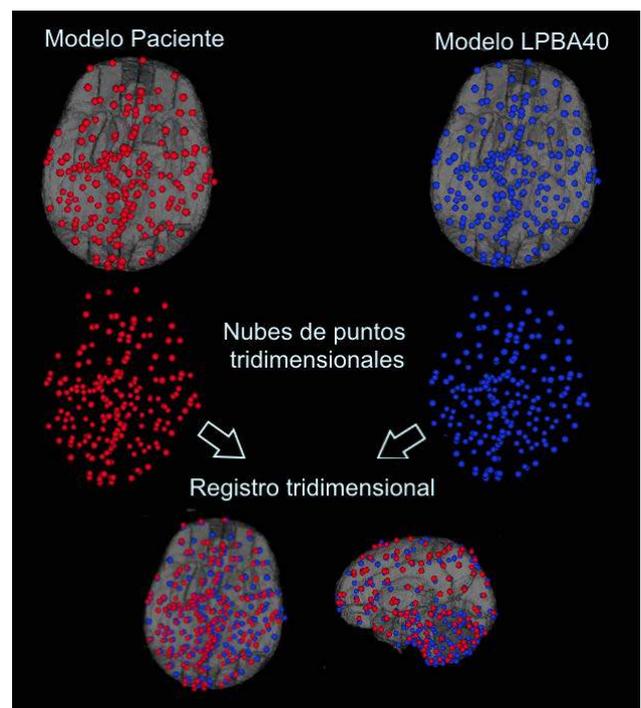


Figura 3: Funcionamiento del módulo de registro 3D

De esta forma se encuentra una matriz capaz de relacionar los puntos de ambos modelos permitiendo ajustar de manera no rígida el modelo de normalidad del atlas LPBA40 con el modelo del paciente, según se aprecia en la Figura 3. De esta manera se obtiene un modelo 3D transformado del atlas LPBA40 con las características específicas del modelo del paciente.

Módulo de segmentación y clasificación

La función principal de este módulo es la segmentación y clasificación de las regiones tridimensionales en el modelo 3D generado a partir del atlas transformado.

Las estructuras que se van a segmentar se muestran en la Tabla 1.

Lóbulo Frontal		Lóbulo Occipital	
- Giro frontal superior (Dcho. Izdo.)		- Giro occipital superior (Dcho. Izdo.)	
- Giro frontal medio (Dcho. Izdo.)		- Giro occipital medio (Dcho. Izdo.)	
- Giro frontal inferior (Dcho. Izdo.)		- Giro occipital inferior (Dcho. Izdo.)	
- Giro precentral (Dcho. Izdo.)		- Cuña o Cúneo (Dcho. Izdo.)	
- Giro orbitofrontal medio (Dcho. Izdo.)			
- Giro orbitofrontal lateral (Dcho. Izdo.)		Lóbulo temporal	
- Giro recto (Dcho. Izdo.)		- Giro temporal superior (Dcho. Izdo.)	
		- Giro temporal medio (Dcho. Izdo.)	
Lóbulo Parietal		- Giro temporal inferior (Dcho. Izdo.)	
- Giro postcentral (Dcho. Izdo.)		- Giro parahipocampal (Dcho. Izdo.)	
- Giro superior parietal (Dcho. Izdo.)		- Giro lingual (Dcho. Izdo.)	
- Giro supramarginal (Dcho. Izdo.)		- Giro fusiforme (Dcho. Izdo.)	
- Giro angular (Dcho. Izdo.)			
- Precuña o Precúneo (Dcho. Izdo.)		Otras estructuras	
		- Ínsula	
Lóbulo Límbico		- Caudado	
- Giro circular (Dcho. Izdo.)		- Putamen	
- Hipocampo (Dcho. Izdo.)		- Cerebelo	
		- Tronco cerebral	

Tabla 1: Lista de estructuras que pueden ser segmentadas.

Estas estructuras se segmentan aplicando técnicas de clasificación mediante las cuales se pueden parcelar las nubes de puntos en regiones tridimensionales y de esta forma obtener las estructuras anatómicas segmentadas.

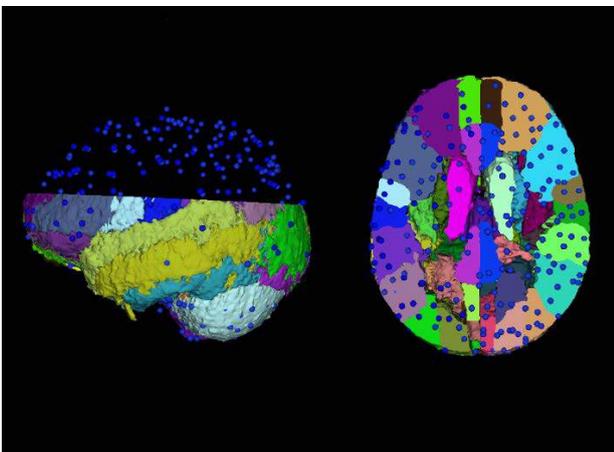


Figura 4: Modelo tridimensional con estructuras segmentadas y clasificadas

En la Figura 4 se muestra la nube de puntos del modelo volumétrico transformado obtenido en el módulo de registro, donde se distinguen las estructuras anatómicas clasificadas.

Módulo de Visualización

El módulo de visualización se ha implementado en la herramienta CogniVis, la cual está especialmente diseñada para la navegación y visualización 3D de imágenes médicas cerebrales. Entre las principales funcionalidades que presenta esta herramienta se encuentra la posibilidad de trabajar con múltiples volúmenes 3D en una misma escena pudiéndose modificar la posición, orientación, tamaño y transparencia de los mismos (ver Figura 5).

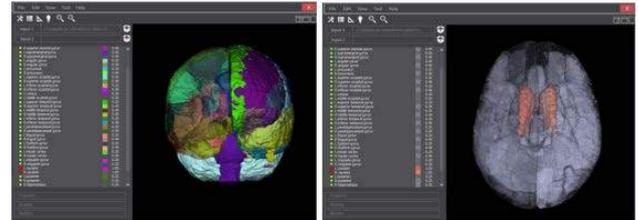


Figura 5: Vistas de la herramienta CogniVis

La metodología se ha implementado en el lenguaje de programación Visual C++ usando las librerías de código abierto VTK [9] e ITK [10].

3. Resultados

La metodología descrita ha sido implementada en el módulo de segmentación y clasificación de estructuras cerebrales de la herramienta de visualización y navegación CogniVis (ver Figura 6).

El módulo ha sido diseñado a partir de los requerimientos técnicos y funcionales proporcionados por un grupo de clínicos del Instituto Guttmann.

Resultados preliminares muestran que esta metodología puede ser de gran utilidad para la segmentación de estructuras anatómicas de estudios MRI de pacientes con baja resolución espacial (pocos cortes de imágenes) por la gravedad de su estado.

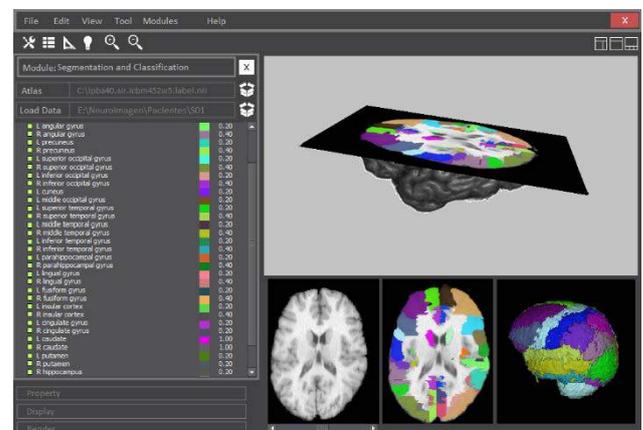


Figura 6: Módulo de Segmentación y clasificación de la herramienta CogniVis.

4. Discusión y conclusiones

La segmentación y clasificación de las estructuras anatómicas del cerebro permite analizarlas cualitativa y cuantitativamente, pues a través de este proceso obtenemos información que nos permite definir las y compararlas morfológicamente con estructuras semejantes en modelos de normalidad o con estudios de un mismo paciente para detectar cambios que amplíen la base de conocimiento de las mismas.

La metodología que se presenta en este trabajo propone un enfoque 3D para la segmentación y etiquetado de las estructuras cerebrales donde se tiene en cuenta todo el volumen tridimensional del estudio.

Con esta metodología se detectan características distintivas en todos los cortes coronales, sagitales y axiales generando así una nube de puntos espacial que describe el cerebro del paciente y a través de algoritmos de registro espaciales se calcula una matriz de transformación capaz de relacionar las estructuras del modelo etiquetado del atlas LPBA40 con el modelo 3D del paciente y utilizando algoritmos de clasificación se obtienen las estructuras cerebrales del modelo.

Agradecimientos

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

Referencias

[1] Schortliffe EH, Perreault LE, editors. Medical informatics: computer applications in health care and biomedicine, chapter Imaging systems, Springer, 2nd edition 2001: 485-538.

[2] Emiliano Allevatoa, Rodrigo Pedarréa, "Segmentación de imágenes digitales 3d en regiones y contornos activos para la generación de mallas de superficie", Mecánica Computacional Vol. XXV, pp. 1149-1161. Santa fe, Argentina, Noviembre 2006.

[3] Shattuck DW, Mirza M, Adisetiyo V, Hojatkashani C, Salamon G, Narr KL, Poldrack RA, Bilder RM, Toga AW, Construction of a 3D Probabilistic Atlas of Human Cortical Structures, NeuroImage (2007), doi:10.1016/j.neuroimage.2007.09.031.

[4] M. Luna, F. Gayá, "Neuroanatomic-Based Detection Algorithm for Automatic labeling of Brain Structures in Brain Injury", XIII Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing 2013, Volume 41 of the series IFMBE Proceedings pp 1694-1697.

[5] J. García-Novoa, B. Rodríguez-Vila, CogniVis: 3D Visualization and Navigation Module of Brain Structures, International Conference on Recent Advances in Neurorehabilitation, Valencia, España, Junio 2015

[6] Stefan Bauer, Thomas Fejes, Mauricio Reyes, "A Skull-Stripping Filter for ITK", The Insight Journal, Enero 2012 January-December.

[7] Herbert Bay, Andreas Ess, Tinne Tuytelaars, Luc Van Gool "SURF: Speeded Up Robust Features", Computer Vision and Image Understanding (CVIU), Vol. 110, No. 3, pp. 346-359, 2008.

[8] Besl, Paul J.; N.D. McKay (1992). "A Method for Registration of 3-D Shapes". IEEE Trans. on Pattern Analysis and Machine Intelligence (Los Alamitos, CA, USA: IEEE Computer Society) 14 (2): 239-256. doi:10.1109/34.121791.

[9] Schroeder, Will; Martin, Ken, Lorensen, Bill, "The Visualization Toolkit (4th ed.)", 2006, Kitware, ISBN 978-1-930934-19-1

[10] T.S. Yoo, M. J. Ackerman, W. E. Lorensen, W. Schroeder, V. Chalana, S. Aylward, D. Metaxas, R. Whitaker. Engineering and Algorithm Design for an Image Processing API: A Technical Report on ITK - The Insight Toolkit. In Proc. of Medicine Meets Virtual Reality, J. Westwood, ed., IOS Press Amsterdam pp 586-592 (2002).

Sistema de digitalización de imágenes de microscopía mediante teléfono móvil para el telediagnóstico de tuberculosis

M. Postigo Camps¹, D. Cuadrado Sánchez¹, A. Martínez Martínez¹, S. Gil Casanova¹, P. Merino Amador², M.J. Ledesma Carbayo¹, M.A. Luengo Oroz¹

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

² Servicio de Microbiología, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España.

Resumen

En 2013, nueve millones de personas enfermaron de tuberculosis y 1,5 millones murieron por esta causa. Una de las grandes barreras para la erradicación de la enfermedad es la falta de personal cualificado que pueda analizar por microscopía óptica las muestras de los pacientes. En estas situaciones la telemedicina y, en concreto, la telefonía móvil se presenta como una solución atractiva.

El objetivo de esta investigación es evaluar y validar metodologías de digitalización de muestras de esputo utilizando smartphones. Para ello se analizan diferentes adaptadores móvil-microscopio que permiten alinear ambos elementos y se elabora un protocolo de digitalización. El protocolo se crea en base a una evaluación de los parámetros determinantes en la digitalización, los dispositivos móviles y las especificaciones de la cámara. Esta investigación concluye que es viable la adquisición de imágenes de esputo, válidas para el diagnóstico de la tuberculosis, utilizando smartphones y adaptadores impresos en 3D por menos de un euro.

Este sistema puede integrarse con plataformas como TuberSpot que permiten el análisis online de las muestras utilizando inteligencia colectiva y gamificación.

1. Introducción

La tuberculosis (TB) es una enfermedad prevenible y tratable, reconocida por la Organización Mundial de la Salud como la segunda causa mundial de mortalidad causada por un agente infeccioso. En 2013, nueve millones de personas enfermaron de tuberculosis y 1,5 millones murieron por esta causa [1]. El diagnóstico de la tuberculosis en muchos de los países en vías de desarrollo está restringido al análisis de muestras de esputo a través del microscopio. Las muestras deben ser previamente teñidas con una de las dos tinciones aprobadas internacionalmente, Ziehl-Neelsen o el procedimiento con fluorocromo auramina-O que se utiliza con microscopía de fluorescencia. El objetivo del análisis microscópico es la identificación y cuantificación de bacilos *Mycobacterium Tuberculosis*, un proceso que puede llevar hasta 20 minutos a un técnico microscopista. Hoy en día no hay suficientes especialistas en aquellas comunidades con mayor prevalencia de la enfermedad. A esto hay que sumar, la variabilidad del técnico debida a la fatiga que genera estar largos periodos de tiempo frente al microscopio.

Por otro lado, la usabilidad de los *smartphones* y sus precios cada vez más económicos han permitido su

expansión geográfica. Actualmente existen seis mil millones de líneas de teléfono, el 70% de ellas en países en vías de desarrollo. Las mejoras en las cámaras de los *smartphones*, la capacidad de registro de datos y la conexión a redes inalámbricas hacen de la telefonía un móvil un potencial interesante para la adquisición y transmisión de imágenes de microscopía.

2. Objetivos

El objetivo de esta investigación es el diseño e implementación de un sistema de adquisición de imágenes de microscopía óptica basado en telefonía móvil. Los parámetros del sistema a analizar y validar son la forma de alinear el móvil al ocular del microscopio, la capacidad de los dispositivos móviles para adquirir imágenes de esputo útiles en el diagnóstico de la tuberculosis y, los parámetros de la cámara móvil y las técnicas básicas de postprocesado de imágenes que representan con mayor fidelidad lo observado a través del microscopio. A pesar de que el diagnóstico con auramina-O permite un cribado más rápido de las muestras, se aplicarán estos estudios a muestras con tinción Ziehl-Neelsen por su mayor especificidad en los resultados.

El sistema debe poder integrarse con TuberSpot [2], un sistema basado en inteligencia colectiva y gamificación para el análisis de imágenes. Mediante juegos online, voluntarios no pertenecientes al campo médico analizan muestras digitalizadas. Utilizando inteligencia artificial se combinan los resultados obtenidos por distintos jugadores sobre una imagen para obtener un resultado de fiabilidad equivalente a la de un técnico microscopista.

3. Materiales y métodos

3.1. Adaptadores móvil-microscopio

Los adaptadores móvil-microscopio son soportes mecánicos que permiten fijar y alinear un teléfono móvil al ocular de un microscopio. Actualmente se comercializan varios modelos cuyo precio oscila entre 60 y 100€. A lo largo de esta investigación se han utilizado y comparado dos de ellos, Digiscoping [3] y Magnifi [4], y se han impreso otros dos adaptadores en 3D.

Digiscoping (ver Figura 1) puede utilizarse con una gran variedad de teléfonos y microscopios. Su uso obliga a ajustar mecánicamente la posición del móvil con respecto al microscopio para poder visualizar correctamente todo el campo de visión.

Los adaptadores Magnifi (ver Figura 2), sin embargo, poseen las dimensiones específicas para un modelo de iPhone. A pesar de su menor versatilidad, esto les permite enganchar directamente el teléfono al adaptador sin necesidad de ajuste mecánico.



Figura 1. Adaptador Universal Digiscoping



Figura 2. Adaptador Magnifi

Los adaptadores impresos en 3D presentan una diferencia fundamental frente al resto de adaptadores, su bajo coste de producción. Para este proyecto se han impreso dos adaptadores. El primero de ellos es universal en cuanto a que su diseño tan versátil como Digiscoping, y el segundo es un adaptador específico para el móvil Sony Xperia Z2 y para el microscopio Zeiss, modelo AX05COP2. Ambos diseños se han adquirido en Thingiverse [5], un repositorio online de diseños digitales tridimensionales, y se han modificado con Blender, un software libre y gratuito. La impresión 3D se ha realizado con PLA (poliácido láctico) en las impresoras Witbox de BQ y Prusa i3 de RepRap respectivamente, en un tiempo entre 4 y 5 horas cada una de ellas (ver Figura 3 y 4). El coste de impresión, asociado al consumo de material, de cada uno de estos adaptadores es inferior a un euro.



Figura 3. Adaptador universal impreso en 3D



Figura 4. Adaptador impreso en 3D, específico para Sony Xperia Z2 y microscopio Zeiss AX05COP2

3.2. App 'Microscope'

Para el proceso de digitalización se ha diseñado Microscope, una aplicación Android que permite digitalizar imágenes, asociarlas al perfil de un paciente y enviarlas al servidor en red. La aplicación cumple los

requisitos de anonimización y privacidad de datos del paciente. Microscope está pensada para ser usada por personal no cualificado en aspectos médicos, su diseño es sencillo y orientado a la usabilidad.

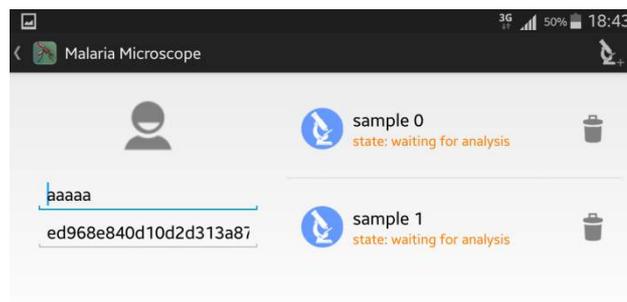


Figura 5. Screenshot de Microscope correspondiente al perfil de un paciente, contiene el identificador público, el identificador codificado y dos muestras digitalizadas que ya han sido enviadas a TuberSpot y están pendientes de ser analizadas.

3.3. Protocolo de digitalización

Distintos estudios demuestran la validez del telediagnóstico a través de muestras digitalizadas con cámaras fijas cuando se comparan con el diagnóstico convencional [6]. Sin embargo, no existen estudios acerca de la validez y viabilidad del diagnóstico usando imágenes de microscopía adquiridas con un *smartphone*. Para su evaluación, así como para optimizar el proceso de adquisición de imágenes se ha realizado un estudio consistente en una fase de digitalización y un cuestionario. En la fase de digitalización se adquirieron más de 200 imágenes de múltiples muestras que en conjunto representan todas las posibles gradaciones de bacilos (negativo, *scanty*, +1, +2, +3) [7]. En esta fase se recogieron observaciones de los especialistas que han contribuido a la extracción y ratificación de las conclusiones del cuestionario.

El cuestionario está formado por 12 preguntas, para el cual se ha utilizado una selección de 35 imágenes. Todas las imágenes están realizadas sobre el mismo campo de una muestra +3 (muestra con más de diez bacilos por campo). En cada pregunta se incorporan varias imágenes, cada individuo debe elegir la imagen en la que se considera que sería más sencillo y preciso la detección de bacilos. Las imágenes de cada pregunta están adquiridas modificando un único parámetro de la cámara y manteniendo el resto de parámetros en valores estándar. Los parámetros que se han valorado han sido: teléfono móvil, resolución, aumentos del zoom, tipo de zoom, balance de blancos, brillo, contraste, compensación de exposición, tipo de enfoque, ISO, iluminación de la sala y técnicas de suavizado.

El cuestionario ha sido completado por ocho especialistas del Servicio de Microbiología del Hospital Clínico San Carlos y del Programa Apopo.

Como ejemplo, en la Figura 6 se visualizan las imágenes utilizadas en una pregunta del cuestionario.

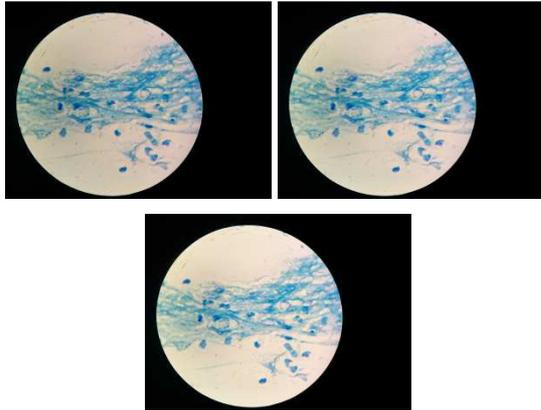


Figura 6. (De arriba hacia abajo y de izquierda a derecha) Imagen con valor de balance de blancos: 0.3, 0.7, 1

4. Resultados

A pesar del reducido número de participantes las respuestas guardan una gran unanimidad que ha permitido llegar a las siguientes afirmaciones:

- existen dispositivos que adquieren con mayor fidelidad que otros. Entre los analizados de las marcas Samsung, Sony y Nexus el que obtiene resultados considerablemente mejores es el Sony Xperia Z2.
- las lentes de los *smartphones* no están optimizadas para la digitalización a 1 cm de distancia del motivo (distancia a la que se sitúa el móvil del ocular del microscopio). En las imágenes obtenidas hay un ligero desenfoque que aumenta en los bordes del campo de visión.
- la resolución de los teléfonos móviles actuales es muy superior a la necesaria para la identificación de microorganismos.
- el zoom digital de la cámara es útil para la identificación de microorganismos y preferible al zoom de los visualizadores de imágenes.
- el formato de fichero *.jpeg* frente al formato *.png* comprime de tal manera la imagen que repercute en la identificación de microorganismos.
- la identificación de bacilos en imágenes de esputo se puede optimizar aumentando el contraste, el brillo y/o el balance de blancos. Estos cambios también se pueden realizar en la adquisición o como postprocesado de la imagen.

Los datos más representativos en los que se apoyan estas conclusiones se representan en las Figuras 6, 7, 8 y 9. El conjunto restante de datos se puede encontrar en la Tabla 1.

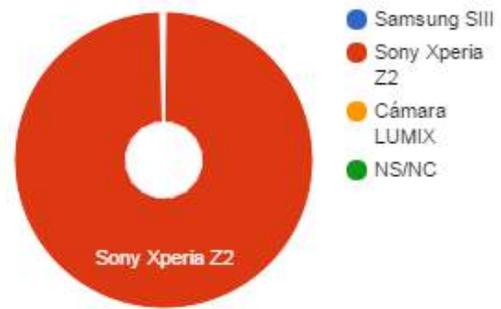


Figura 7. Distribución de las respuestas en cuanto al dispositivo de adquisición



Figura 8. Distribución de las respuestas en cuanto a los aumentos del zoom

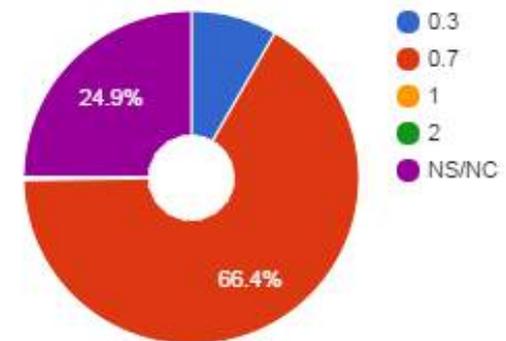


Figura 9. Distribución de las respuestas en cuanto al valor de la compensación de exposición.

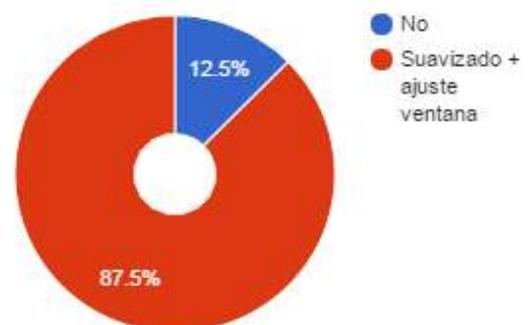


Figura 10. Distribución de las respuestas en cuanto al uso de técnicas de postprocesado de imagen

Resolución	Enfoque	ISO	Zoom (dispositivo)	Balance blancos	Luz sala	Exposición mínima (forma de obtención)	Contraste/ Brillo/ Saturación
NS/NC: 30%	NS/NC: 63%	NS/NC: 75%	95 mm _ Xperia: 100%	Auto: 75%	NS/NC: 63%	Comp. Exp_0.3_app FV5: 100%	NS/NC: 75%
2.1 MPx: 10%	Auto: 25%	800: 12.5%	x4_ SIII: 0%	Bombilla: 12.5%	Encendida: 37%	Comp. Exp_ -1 _ app Cámara: 0%	+4: 25%
3.1 MPx: 20%	Manual: 12%	3200: 12.5%	75%_Galería Windows: 0%	NS/NC: 12.5%	Apagada: 0%	Apert. Obturador_corto_app FV5: 0%	+2: 0%
8 MPx: 20%	Infinito: 0%	Alta sensibilidad: 0%				NS/NC: 0%	
20.7 MPx: 20%							

Tabla 1. Resultados cuestionario

En base a estos resultados se ha formalizado un protocolo de digitalización. Este protocolo ha sido utilizado en la creación del primer repositorio de imágenes de muestras reales de esputo adquiridas con telefonía móvil. El repositorio contiene 100 imágenes correspondientes a 20 muestras que en conjunto representan todas las posibles gradaciones de bacilos. Treinta y cinco imágenes de este conjunto se han introducido en el juego TuberSpot, donde ya han sido analizadas por más de 1000 jugadores diferentes.

Adicionalmente, en junio de 2015 se ha validado el sistema de adquisición en una prueba sobre el terreno en un centro de salud de Mozambique. En esta prueba sobre el terreno se adquirieron 53 imágenes con el adaptador Digiscoping y con el teléfono móvil Sony Xperia Z2.

5. Conclusiones

A pesar de existir ligeras diferencias entre una muestra digitalizada con el teléfono móvil y la misma muestra observada a través del microscopio, es posible adquirir imágenes de microscopía de muestras de esputo con un adaptador móvil-microscopio y un *smartphone*, sin necesidad de conocimientos técnicos. El sistema propuesto tiene un coste mínimo en comparación con otras cámaras usadas específicamente en este contexto y posee una calidad de imagen suficiente para identificar y cuantificar *M. tuberculosis* en las imágenes.

Es importante resaltar que las muestras cuya extensión no es lo suficiente fina pueden poseer zonas desenfocadas ya que no es posible enfocar al mismo tiempo todas las profundidades. En esta línea, sería interesante automatizar un desplazamiento vertical de la platina, digitalizar a diferentes niveles de Z y fusionar las diferentes imágenes [8]. Otro trabajo a plantear es pasar de la digitalización de campos individuales de la muestra a la digitalización automática de toda la muestra, crear el llamado ‘*whole slide image*’ (WSI). Hoy en día, existen tecnologías que lo implementan el WSI, sin embargo, su coste aún es elevado. Por último, otro paso interesante sería intercambiar el microscopio por tecnologías más baratas, compactas, ligeras y sencillas de usar que también

adquieran imágenes lo suficientemente precisas para generar resultados útiles en el campo de la salud. Algunas de las tecnologías emergentes en este campo son Foldscope [9], las lentes PDMS[10] o Keeploop. Hoy por hoy, estas tecnologías no se pueden incorporar al diagnóstico de la TB ya que no poseen los aumentos necesarios o porque la proporción del campo de visión que se encuentra enfocada es muy reducida.

Referencias

- [1] WHO. *Global Tuberculosis Report 2014*. World Health Organization, 2014.
- [2] Página web de TuberSpot. <http://tuberspot.org/es/>. (Consultada: Septiembre 2015).
- [3] Página web de Digiscoping | Adapters. <http://www.digiscoping.co.uk/?Cat=Adapters>. (Consultada: Septiembre 2015).
- [4] Página web de Magnifi. <http://www.arcturuslabs.com>. (Consultada: Septiembre 2015).
- [5] Página web de Thingiverse | Universal Camera Phone/Microscope Adapter by Ggoss. <http://www.thingiverse.com/thing:78071>. (Consultada: Septiembre 2015).
- [6] Campbell WS, Lele SM, West WW, Lazenby AJ, Smith LM, Hinrichs SH. (2012). *Concordance between whole-slide imaging and light microscopy for routine surgical pathology*. *Human pathology*, vol 43, no 10, 2012, pp 1739-1744.
- [7] Weyer K. *Laboratory services in tuberculosis control. Part II: microscopy*. *World Health Organization Technical Bulletin*, vol 98, 1998, pp 258.
- [8] Li S, Kwok JT, Wang Y. *Multifocus image fusion using artificial neural networks*. *Pattern Recognition Letters*, vol 23, no 8, 2002, pp 985-997.
- [9] Cybulski JS, Clements J, Prakash M. *Foldscope: origami-based paper microscope*. *Plos ONE*, vol 20, 2014, no 6.
- [10] Sung YL, Jeang J, Lee CH, Shih WC. *Fabricating optical lenses by inkjet printing and heat-assisted in situ curing of polydimethylsiloxane for smartphone microscopy*. *Journal of biomedical optics*, vol 20, 2015, no 4, pp 047005-047005.

Señales Biomédicas 2

Jueves 5 de Noviembre

Mecanismo de inicio de la fibrilación ventricular debido a alternancias cardiacas

I. Hernández-Romero^{1,2}, M.S. Guillem³, F. Alonso², F. Atienza¹, F. Fernández-Avilés¹, A.M. Climent¹

¹ Servicio de Cardiología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España. E-mail: ismherrom@gmail.com

² Universidad Rey Juan Carlos, Madrid, España

³ Instituto ITACA, Universitat Politècnica de Valencia, Valencia, España

Resumen

Las alternancias cardíacas son las alteraciones latido a latido de la duración del potencial de acción y la amplitud de la onda de calcio intracelular que se cree son precursoras de la fibrilación. El objetivo del presente estudio es esclarecer el papel de las alternancias en el inicio de la fibrilación ventricular. Para ello se ha realizado mapeo óptico de voltaje y calcio sobre corazón aislado de conejo tanto en condiciones basales como tras la administración de un fármaco antiarrítmico (i.e. Verapamilo). Los resultados muestran que la combinación de las alternancias cardiacas y velocidades de conducción heterogéneas forman un sustrato susceptible del inicio de la fibrilación ventricular mediante bloqueos parciales asociados a reentradas. La reducción de las alternancias mediante la administración de Verapamilo demostró ser un tratamiento antiarrítmico efectivo.

1. Introducción

Las alternancias se definen como la variación entre latidos sucesivos de la duración potencial de acción (APD) o la amplitud del transitorio calcio intracelular CaT [1]. Estas son la causa de las alternancias en la onda T del electrocardiograma de superficie, las cuales están consideradas como un importante biomarcador de inestabilidad eléctrica y consecuentemente del riesgo de sufrir un episodio de muerte súbita debido a una fibrilación ventricular (FV) [2].

Pese a que existen en la literatura un alto número de trabajos estudiando los diversos fenómenos capaces de generar la aparición de alternancias cardiacas [3-4], los mecanismos por los cuales las alternancias pueden provocar el inicio de la fibrilación no se conocen. Por ello, nuestro principal objetivo es tratar de esclarecer el papel de las alternancias cardiacas en los procesos de inicio de FV. Para ello se han realizado mapeos simultáneos de voltaje y calcio sobre corazones aislados de conejo a los cuales se les inducían alternancias tanto de voltaje como de calcio justo antes del inicio de la FV. Además se ha propuesto y evaluado un tratamiento antiarrítmico capaz de prevenir la aparición de las alternancias cardiacas y consecuentemente la probabilidad de sufrir episodios de muerte súbita (i.e. bloqueo de la corriente lenta de calcio mediante la administración de Verapamilo).

2. Métodos

2.1. Preparación del corazón aislado

Los experimentos se realizaron en conejos New Zealand (n=5) en el Hospital Gregorio Marañón de Madrid tras la aprobación del comité de investigación ética y animal y siguiendo las indicaciones de la convención de Helsinki así como la normativa española al respecto. En concreto los corazones fueron aislados mediante toracotomía tras la anestesia general de los animales mediante pentobarbital. Los corazones fueron aislados e inmersos en solución cardioplégica a 4°C (en mM): 140 NaCl; 5.4 KCl; 1 MgCl₂; 5 HEPES; 11 Glucosa; 1.8 CaCl₂ con un pH de 7.4. Los corazones fueron perfundidos de forma retrograda a través de la aorta con un flujo constante con solución de Krebs modificada a 36.5°C (en mM: NaCl, 120; NaHCO₃, 25; CaCl₂, 1.8; KCl, 5.4; MgCl₂, 1; glucosa, 5.5; H₂PO₄Na H₂O, 1.2, pH 7.4). El medio fue oxigenado de forma continua mediante el burbujeo de carbógeno. Todos los compuestos fueron adquiridos en Sigma-Aldrich (Dorset, UK).

2.2. Sistema de mapeo óptico

A los corazones se les perfundió por vía aórtica 20 µL del tinte sensible a voltaje di-4-ANBDQPQ durante 5 minutos y 250 µL del tinte sensible a calcio rhod2-AM durante 30 minutos, tras la administración de 10 mM de Blebistatina [5]. El tinte Di-4-ANBDQPQ se excitó mediante la utilización de una luz LED CBT-90-R (peak power output 32 W; peak wavelength 628 nm; Luminus Devices, Billerica, MA, USA) utilizando un filtro de excitación de D640/206 (Chroma Technology, Bellows Falls, VT, USA). Por su parte el tinte Rhod-2(AM) fue excitado mediante una LUZ LED CBT-90-G (peak power output 58 W; peak wavelength 524 nm; Luminus Devices) con un filtro de excitación de D540/256 (Chroma Technology). Las luces fueron colimadas con una lente plano-convexa (LA1951; Thorlabs, Newton, NJ, USA). La emisión de fluorescencia de los tintes fue registrada a través de un filtro multibanda diseñado específicamente (ET585/50-800/ 200 m; Chroma Technology) y recogida por una lente de alta sensibilidad (f/# 0.95; DO-2595; Navitar). Los registros de voltaje y calcio se realizaron mediante la utilización de sistema de mapeo óptico de alta densidad basado en una cámara

electron-multiplied charge-coupled device (EMCCD; Cascade-128+: 12x128, 24-um-square pixeles, 16 bit; Photometrics, Tucson, AZ, USA). La señal fue digitalizada con un conversor analógico/digital de 16 bits con una frecuencia de muestreo de 512 Hz. Los datos fueron registrados, visualizados, segmentados y salvados usando herramientas propias creadas en MATLAB (The MathWorks).

2.3. Protocolo experimental

Se aplicó un protocolo de estímulo a ritmos crecientes, comenzado con una longitud de ciclo de estímulo de 350 ms y aumentando paulatinamente la frecuencia hasta el inicio de FV. El corazón fue desfibrilado tras la inducción de FV con un pulso DC (5 J). El protocolo fue repetido tras la infusión del fármaco antiarrítmico, Verapamilo (2µM), en bolo por vía aortica a través de la cánula. La concentración fue elegida en rango en cuál sus efectos electrofisiológicos característicos son observables [6].

2.4. Análisis de datos

Se analizaron 580 registros con una duración entre 5 y 20 segundos usando software propio diseñado en MATLAB. Los datos fueron filtrados para eliminar el ruido de fluorescencia, aplicando un filtrado espacial con una máscara gaussiana de tamaño 7x7 pixeles y temporalmente con filtro de Savitzky-Golay con una ventana de 15 muestras. La línea base presente en los datos fue eliminada y se normalizaron pixel por pixel. Los pixeles que no mostraban tejido fueron descartados aplicando una máscara definida por el usuario. Se midieron los APDs de las señales ópticas de voltaje al 80% de repolarización (APD80) y la amplitud de los transitorios de calcio (CaT).

El análisis espacial de la distribución de alternancias se realizó tanto para las señales de voltaje y calcio. Los mapas de alternancias de APD se definieron como la diferencia de APD del potencial de acción entre activaciones simultaneas y los mapas de alternancias de CaT como el porcentaje de la diferencia en amplitud de transitorios de calcio entre activaciones simultaneas (n y $n+1$) en cada píxel (x, y), formulándose:

$$\Delta APD(x,y)_n = APD(x,y)_{n+1} - APD(x,y)_n$$

$$\rightarrow \begin{cases} \Delta APD(x,y)_n > 2 \text{ ms} & \text{ROJO} \\ |\Delta APD(x,y)_n| \leq 2 \text{ ms} & \text{BLANCO} \\ \Delta APD(x,y)_n < -2 \text{ ms} & \text{AZUL} \end{cases} \quad (1)$$

$$\Delta CaT(x,y)_n = \frac{CaT(x,y)_{n+1} - CaT(x,y)_n}{\max(CaT(x,y)_{n+1}, CaT(x,y)_n)}$$

$$\rightarrow \begin{cases} \Delta CaT(x,y)_n > 5\% & \text{NARANJA} \\ |\Delta CaT(x,y)_n| \leq 5\% & \text{BLANCO} \\ \Delta CaT(x,y)_n < -5\% & \text{VERDE} \end{cases} \quad (2)$$

No se consideraron alternancias de APD cuando la diferencia estaba por debajo de 2 ms, ya que la frecuencia de muestreo no permite tener una resolución mayor; y

tampoco cuando las alternancias CaT eran menores del 5% para evitar los errores introducidos por el ruido. Además, solo se consideró que un registro presentaba alternancias si la variación corto-largo-corto estuvo presente durante al menos 6 activaciones consecutivas.

Con el objetivo de visualmente identificar la aparición de alternancias espacialmente discordantes (i.e. cuando en una región cardiaca los latidos siguen una secuencia Largo-Corto-Largo-... mientras en una región vecina la secuencia es Corto-Largo-Corto-...), la fase de alternancias de cada punto de registro fue identificada. En concreto, la fase de alternancias se consideró positiva para secuencias de APDs largo-corto (escala roja) y para pulsos CaT alto-bajo (escala naranja); y por el contrario, se consideró negativa para secuencias de APDs corto-largo (escala azul) y para pulsos CaT bajo-alto (escala verde). Las regiones entre zonas de tejido con fases de alternancia discordantes fueron definidas como líneas nodales y mostradas en blanco.

Además de las alternancias, para cada punto registrado se midió la velocidad de conducción (CV) local media. Para ello se estimó el gradiente de tiempos de propagación espaciales medidos a partir de las isócronas.

2.5. Análisis de estadístico

El porcentaje de la superficie mapeada que mostraba alternancias fue medido en cada registro y presentado como media e intervalo de confianza del 95% (IC). Se utilizó el test de suma de rangos de Wilcoxon para comparar los datos entre los grupos. Valores de $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

3. Resultados

3.1. Evolución de las alternancias previa a FV

Las distribuciones de alternancias de voltaje y calcio presentes en la superficie epicárdica de los ventrículos de las distintas preparaciones mostraron diferentes grados de complejidad en función del ritmo aplicado. Un ejemplo representativo del inicio y desarrollo de estas alternancias puede observarse en la Figura 1.

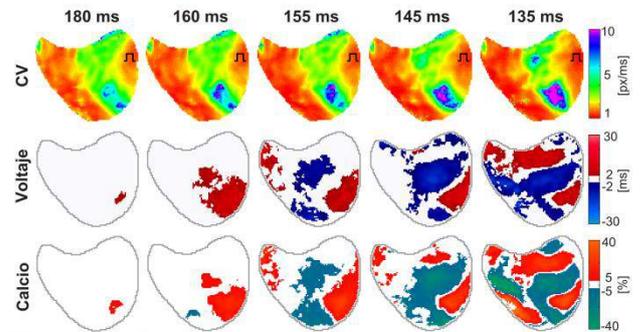


Figura 1. Distribuciones de la velocidad de conducción (CV) local media, alternancias de APD y alternancias de CaT medidas en la superficie epicárdica ventricular durante la aplicación del protocolo de ritmos crecientes.

La evolución de los parámetros medidos de esta preparación muestra como la distribución de CV local media se mantiene constante con independencia del ritmo aplicado, mostrando tres bandas: una primera zona de conducción lenta cerca del punto de estimulación, una banda intermedia cuya CV local es mayor con regiones de conducción rápida y por último una tercera zona de conducción lenta mayor y más alejada del lugar de estímulo. Sin embargo, las distribuciones de voltaje y calcio muestran una progresión de las alternancias cuya complejidad aumenta al incrementar el ritmo de estímulo, siendo similar en ambos registros. Como se aprecia en la figura, para un ritmo de estimulación de 180 ms aparece una pequeña región con alternancias en las proximidades del lugar de estímulo. A medida que el ritmo aumenta hay más superficie que muestra alternancias, permaneciendo con la misma fase hasta alcanzar los 160 ms. A continuación, aparecen otras regiones con fase opuesta a la fase de la zona cercana al estimulador y conforme el ritmo se incrementa; aumenta el número de zonas con alternancias espaciales discordantes delimitadas por líneas nodales, ocupando gran parte de la superficie ventricular.

3.2. Mecanismo de inicio de la fibrilación

El protocolo de ritmos de estimulación crecientes fue capaz de inducir FV en todas las preparaciones. En condiciones basales la FV se indujo con un ritmo de estimulación de 142.5 ± 16 ms. En la Figura 2 puede verse el mecanismo precursor que inicia la FV para un ejemplo representativo. Alejado del lugar de estímulo, donde la CV local es lenta, se producen alternancias de calcio espacialmente discordantes de gran magnitud. En esta región aparece un bloqueo en la principal dirección de propagación, activándose tardíamente. Esta activación tardía crea una gran heterogeneidad de repolarización y junto a la CV lenta existente en esta zona excitable, el frente de onda puede reentrar. Esta reentrada se mantiene en pulsos sucesivos generando FV. Esta secuencia de eventos se identificó en tres de las preparaciones; en las otras 2, el momento concreto del inicio de la FV no pudo ser mapeado dado que el registro de la cámara no es continuo durante el experimento.

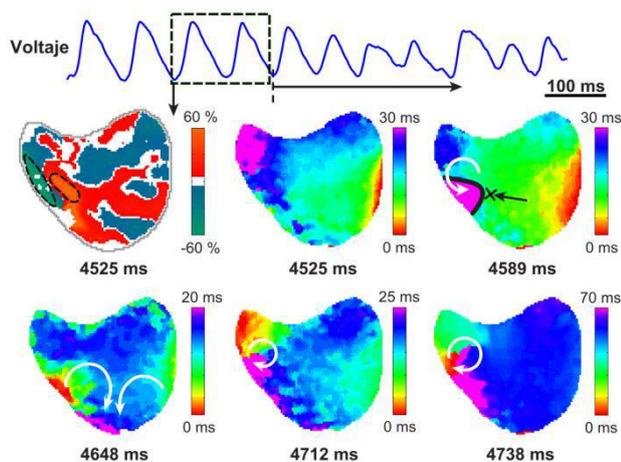


Figura 2. Secuencia de fenómenos que desencadenan el inicio de FV. Mapa de alternancias CaT (arriba izquierda) y los subsiguientes 5 mapas de isócronas que muestran el inicio de FV. La señal óptica de voltaje se muestra arriba.

3.3. Efecto antiarrítmico del Verapamilo sobre las alternancias

Dado que las alternancias de calcio parecen jugar un papel fundamental en el inicio de la FV, se evaluó el potencial efecto antiarrítmico de un bloqueante de la corriente lenta de calcio, Verapamilo. En la Figura 3, puede observarse como para el mismo ritmo de estimulación, 140 ms, las alternancias existentes en condiciones basales no se reprodujeron tras la administración del fármaco aun teniendo una distribución de CV local media similar.

Además, la administración de Verapamilo produjo una disminución de la longitud de ciclo previa a la inducción de FV (142.5 ± 16 frente a 96.3 ± 18.4 ms). Este efecto del Verapamilo estuvo asociado con una menor área de alternancias discordantes tanto para los APDs (41.6% - 95% IC 26.1 a 57.1- frente a 5.4% -95% IC -0.5 a 11.2-, $P < 0.05$) como para los CaTs (34.5% -95% IC 25.4 a 43.6- frente a 6.6% -95% IC -3.1 a 16.3-, $P < 0.05$) para un ciclo de estimulación de 150 ms, véase la Figura 4.

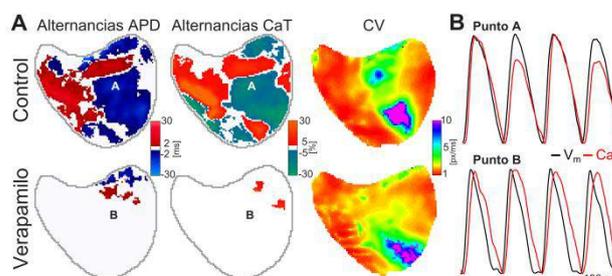


Figura 3. Efecto del Verapamilo en las alternancias. A) Mapas de alternancias de voltaje y calcio junto a la distribución de CV local media en condiciones basales y tras la administración de Verapamilo B) Señales ópticas de voltaje y calcio normalizadas de los puntos A y B en los mapas.

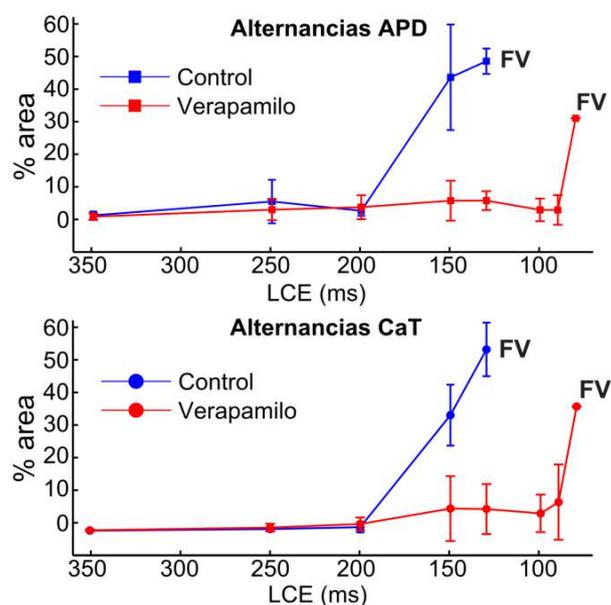


Figura 4. Porcentaje de área de alternancias que muestra la superficie ventricular registrada durante la aplicación del protocolo de ritmos crecientes en condiciones basales y tras administrar Verapamilo.

4. Discusión

4.1. Principales contribuciones

Nuestros resultados demuestran una implicación directa del fenómeno de las alternancias en los mecanismos de la fibrilación ventricular e indican que no es exclusivamente necesario que exista un problema fisiológico para que se produzca una reentrada. Por el contrario, un tejido cardíaco sano cuya actividad sea forzada fuera de los límites fisiológicos basales, puede formar un sustrato funcional heterogéneo capaz de crear gradientes de propagación susceptibles de generar y perpetuar reentradas, y por consiguiente causar una muerte súbita mediante fibrilación ventricular. Por ello, hemos demostrado como administrando un fármaco y alterando esta secuencia de eventos, a través del control de la dinámica que promueve alternancias, puede convertir este escenario a uno menos arritmogénico que no entrañe peligro.

En esta secuencia de eventos, se ha mostrado como el desarrollo de alternancias, sobre todo en los registros de calcio, tiene un papel crucial en el inicio de la FV. La conjunción de dos fenómenos: grandes alternancias de calcio capaces de realizar un bloqueo en la dirección principal de propagación y una CV lenta en esa región son capaces de iniciar reentradas que se mantengan y deriven en FV. Las alternancias han sido ampliamente descritas previamente a nivel subcelular, tisular y de órgano completo en estudios experimentales y teóricos [3-4,7]; sin embargo, el papel que juega sobre el inicio y mantenimiento de los procesos arrítmicos seguía sin estar suficientemente entendido en la actualidad.

Además, la CV local observada no es homogénea y su distribución puede mantenerse a diferentes frecuencias de estímulo. Cerca del lugar de estímulo la CV es más lenta, posiblemente porque la carga celular dificulta la propagación del estímulo aplicado y hasta que no se han activado las suficientes células no se transmite correctamente el frente de onda.

Por último, una vez observada la progresión que provoca FV, hemos demostrado que la aplicación de un fármaco que modifique esta secuencia puede evitar esta inducción. En nuestro caso, el uso de Verapamilo altera la dinámica de calcio bloqueando los canales de calcio de tipo L, por lo que a pesar de reducir el APD, al limitar la aparición de alternancias se retrasa el riesgo de iniciar FV.

4.2. Limitaciones

Nuestras observaciones están restringidas a corazones de conejo por lo que el extrapolar estos resultados a otros modelos debe realizarse cuidadosamente. Además, el pequeño tamaño muestral de los experimentos realizados puede hacer que sobrevaloren algunos de los resultados observados.

4.3. Implicaciones clínicas

Desde el punto de vista clínico, otros estudios han hecho énfasis en la necesidad de analizar las alternancias en la onda T, ya que es un importante biomarcador de muerte súbita (e.g. pacientes con canalopatías como Síndrome de

Brugada o Long-QT) y puede ser un factor de peso en la decisión de prescribir el uso un desfibrilador implantable o una terapia antiarrítmica. El presente estudio demuestra que un factor a tener en cuenta es la relación de dichas alternancias junto con las zonas presentes de velocidad de conducción lenta. Este hecho sugiere que además de la importancia de estudiar las alternancias de onda T; su relación con marcadores de conducción lenta, como duración del intervalo QRS, puede aportar una ayuda notable en el tratamiento de estas patologías.

5. Conclusiones

En el presente estudio hemos mostrado que la combinación de las alternancias cardíacas espacialmente discordantes y velocidades de conducción heterogéneas forman un sustrato susceptible del inicio de la fibrilación ventricular mediante bloqueos parciales asociados a reentradas. La reducción de las alternancias mediante la administración de Verapamilo, un fármaco que altera la dinámica de calcio, demostró ser un tratamiento antiarrítmico efectivo.

Agradecimientos

Financiado en parte por proyectos del Instituto de Salud Carlos III y Ministerio de Economía y Competitividad de España: (TEC2013-46067-R) de la Universidad Rey Juan Carlos, (PI13-01882, PI13-00903) de la Red de Investigación Cardiovascular (RIC) y Red de Terapia Celular del Instituto de Salud Carlos III (Ministerio de Economía y Competitividad, España).

Referencias

- [1] Weiss, J. N., Karma, A., Shiferaw, Y., et al. From pulsus to Pulseless the saga of cardiac alternans. *Circulation Research*, 2006, vol. 98, no 10, p. 1244-1253.
- [2] Rosenbaum, D. S., Jackson, L. E., Smith, J. M., et al. Electrical alternans and vulnerability to ventricular arrhythmias. *New England Journal of Medicine*, 1994, vol. 330, no 4, p. 235-241.
- [3] Gizzi, A., et al. Effects of pacing site and stimulation history on alternans dynamics and the development of complex spatiotemporal patterns in cardiac tissue. *Frontiers in physiology*, 2013, vol. 4.
- [4] Mironov, S., Jalife, J., Tolkacheva, E. G. Role of conduction velocity restitution and short-term memory in the development of action potential duration alternans in isolated rabbit hearts. *Circulation*, 2008, vol. 118, no 1, p. 17-25.
- [5] Wang, K., Lee, P., Mirams, G. R., et al. Cardiac tissue slices: preparation, handling, and successful optical mapping. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2015, vol. 308, no 9, p. 1112-1125.
- [6] Nawrath, H., et al. W. Kinetics and state dependent effects of verapamil on cardiac L-type calcium channels. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 1996, vol. 355, no 1, p. 79-86.
- [7] Qu, Z., Hu, G., Garfinkel, A., & Weiss, J. N. Nonlinear and stochastic dynamics in the heart. *Physics reports*, 2014, vol. 543, no 2, p. 61-162.

Filtro de atenuación optimizada para la mejora de calidad en registros mfVEP

Miguel Ortiz del Castillo¹, Luis de Santiago Rodrigo, Alfredo J. Fernández, Luciano Boquete

¹ Departamento de Electrónica, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, España, luis.desantiago@uah.es

Resumen

El análisis de las señales de potenciales evocados visuales multifocales (mfVEP) permite evaluar el estado de la vía visual, excitando visualmente por sectores la retina. El problema de las señales mfVEP es su bajo nivel de señal fácilmente enmascarado por el ruido ambiente. Este artículo presenta un tipo de filtrado en el cuál se optimiza la respuesta en frecuencia calculando la atenuación óptima, consiguiendo que la calidad del registro aumente: Filtro de Atenuación Optimizada (FAO). Además, se realiza un estudio de fiabilidad test-retest. A partir de señales de 24 sujetos sanos se calculan los resultados para los registros mfVEP sin filtrar, para los filtrados por el método típico (filtro ideal en frecuencia de 1-35Hz) y mediante el FAO. La relación señal a ruido (SNR) para el mejor canal obtenida es de 4.29 ± 1.26 (sin filtrar), 5.17 ± 2.81 (típico) y 7.24 ± 3.69 (FAO). Al calcular la variabilidad entre pruebas, el coeficiente de concordancia de Lin es de 0.929 (bruto), 0.938 (típico) y de 0.954 (FAO). A partir de estos resultados se concluye que el filtrado FAO mejora la calidad de los registros y reduce la variabilidad entre pruebas.

1. Introducción.

Los potenciales evocados visuales (VEP) son la respuesta eléctrica generada por las células del córtex occipital ante un estímulo visual. Esta respuesta es fácilmente registrada posicionando electrodos sobre el cráneo y presenta una medida objetiva y reproducible de la vía visual completa, desde la mácula, valorando la función desde los fotorreceptores, pasando por las células bipolares y las células ganglionares, hasta el córtex occipital. La estimulación visual más común se realiza mediante la estimulación con flash o damero del campo visual completo (Figura 1).

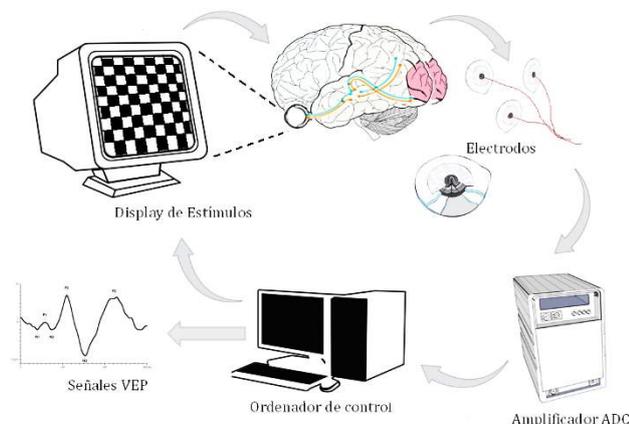


Figura 1. Sistemas de adquisición de potenciales evocados.

Esta técnica obtiene una respuesta global, pero no aporta información topográfica específica de la retina y la corteza visual.

Como mejora de la técnica VEP, se desarrolló la técnica de potenciales evocados multifocales (mfVEP) [1]. Esta técnica posibilita el estudio topográfico de diferentes sectores del campo visual, representados en la corteza visual primaria. Durante la prueba el paciente visualiza una pantalla, dividida en 60 sectores que a efectos del paciente se activan simultáneamente (a nivel técnico la secuencia de estimulación está regulada por la denominada secuenciación, lo que permite separar las respuestas asociadas a cada uno de los sectores en los que se ha dividido el campo visual), mientras se registra mediante electrodos la actividad en el córtex visual durante 500 ms por estímulo (ver Figura 2).

A posteriori, los registros se correlan con el estímulo visual para conocer la respuesta eléctrica asociada a cada sector. El siguiente paso es procesar las señales digitalmente para mejorar su calidad y se extraen parámetros que permiten el análisis (principalmente amplitudes y latencias). El análisis de estas señales se aplica al diagnóstico de diferentes patologías (glaucoma [2], neuritis óptica, esclerosis múltiple [3], etc) y/o para conocer el estado exacto del avance de la enfermedad (ver Figura 3). Se trata de una exploración no invasiva y de bajo coste.

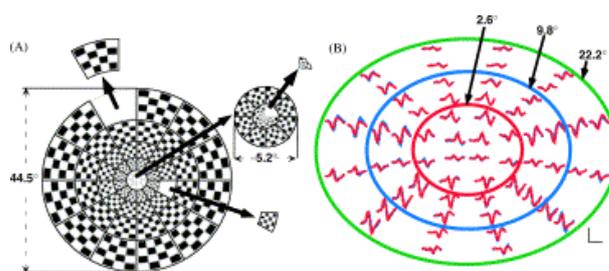


Figura 2. Pantalla de presentación de estímulos y mapa obtenido.

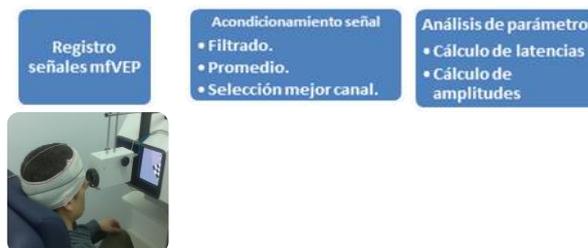


Figura 3. Diagrama de bloques la prueba mfVEP.

Uno de los problemas reconocidos de las señales mfVEP es su baja amplitud (orden de nV), que incluso puede ser cero en determinados puntos en sujetos de control, debido a las dobleces del córtex cerebral. La amplitud de las señales depende de la impedancia electrodo-piel, la cual se ve afectada por la presencia de grasa corporal o cuero cabelludo. Además, estas señales se ven interferidas por fuentes externas como pueden ser la tensión muscular, las ondas alfa del EEG o el ruido electromagnético de la sala. Por estos motivos es frecuente encontrar elevadas desviaciones entre los registros de un mismo sujeto en diferentes pruebas y entre señales de sujetos sanos, lo que limita la aplicación práctica de esta técnica.

En este trabajo se pretende desarrollar un nuevo método de filtrado que reduzca el ruido presente en los registros. Para ello, se calcularán los valores de atenuación de un filtro en frecuencia que permitan optimizar los parámetros de cuantificación de calidad de la señal. Estos resultados se compararán con el filtrado típico utilizado (filtro paso banda digital ideal entre 3 y 35Hz).

La prueba mfVEP se aplica para estudios longitudinales, en los que se realiza la prueba a un paciente cada cierto tiempo para estudiar su evolución. El ruido presente en los registros puede provocar diferencias entre los registros de dos pruebas, disminuyendo la especificidad de la prueba. En este en este trabajo hemos evaluado la variabilidad de la prueba entre dos instantes de tiempo con cada tipo de filtrado mediante una prueba test-retest.

2. Metodología.

2.1. Pacientes.

Para la realización de este estudio se han utilizado 48 ojos de 24 sujetos sanos (10 hombres y 14 mujeres) cuyas edades se encuentran comprendidas entre los 23 y los 38 años (edad media de 30.20 ± 7.55). Todos ellos presentaron un análisis oftalmológico y neuronal normal. Se han seguido los protocolos recogidos en la declaración de Helsinki. La fiabilidad test retest se realizó con nueve sujetos aleatoriamente elegidos, volvieron a repetir la prueba al día siguiente a la misma hora, utilizando el mismo equipo de captura y por los mismos técnicos para reproducir las mismas condiciones de captura que en la primera prueba.

2.2. Estímulo utilizado y captura de señales.

Para la captura de las señales se colocan (4+1) electrodos sobre el cuero cabelludo. Uno como tierra en la frente, uno como referencia en la nuca y tres electrodos activos sobre la nuca (Figura 4).

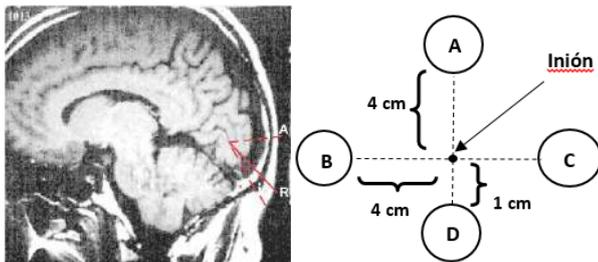


Figura 4. Colocación electrodos.(Tomada de [4])

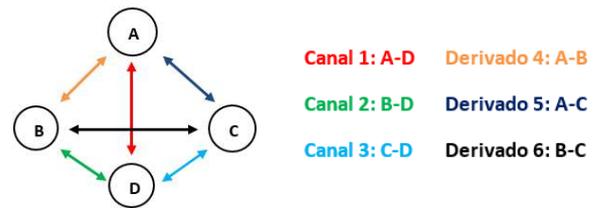


Figura 5. Obtención de canales derivados.

A partir de esta configuración se obtienen 6 canales de datos, tres canales directos (diferencia de potencial entre el electrodo de referencia y cada electrodo) y tres canales derivados (diferencia de potencial entre los electrodos activos) que se calculan mediante software (ver Figura 5). Los registros son monoculares (un solo ojo).

Las señales son amplificadas (10^5) y filtradas en el rango de frecuencia de 3 a 100Hz (preamplificador P511J; Grass Instruments, Rockland, MA) y muestreadas a 1200Hz. Una vez colocados los electrodos sobre la piel, se midió la impedancia uno a uno de todos los electrodos respecto al resto en paralelo mediante un medidor F-EZM5 y se obtuvieron valores por debajo de 2 K Ω . Por cada ojo se obtuvieron dos registros de siete minutos cada uno y posteriormente fueron promediados.

Para cuantificar la calidad de los registros, se ha utilizado la relación Señal a Ruido (SNR). Se definen dos ventanas temporales sobre cada registro de 500ms. La primera ventana, llamada ventana de señal (VS), se define entre 45ms-150ms y se considera que dentro de ella está contenida la señal debida al potencial evocado y al ruido. La segunda ventana, definida como ventana de ruido (VR), se define entre 325 y 450ms, considerándose que dentro de ella sólo se registra ruido. Debido a que la principal fuente de ruido son las ondas alfa, las ventanas de ruido se promedian entre los 60 sectores para obtener una medida más fiable. Finalmente, el valor de SNR se define como el ratio entre la energía medida en la ventana de señal y la energía medida en la señal promedio de las 60 ventanas de ruido. El mejor canal se define como aquel canal que presenta mayor SNR por cada ojo y sector de entre los seis posibles [2].

El análisis y preprocesamiento se realizó con programas propios escritos en Matlab (Matlab, Mathworks Inc., Natick, MA).

2.3. Filtro de atenuación optimizada (FAO).

Se calcula la transformada rápida de Fourier de la señal $X(k)$ que se pretende filtrar. Como la frecuencia de muestreo ha sido de 1200 Hz, realizando la FFT con 2048 muestreos, se obtiene el siguiente vector

$$V_f = \{0.59, 1.18, 1.77, \dots, 49.56\} \text{ Hz}$$

A partir de los 50Hz no se eligen valores pues se considera que no existe respuesta fisiológica. Para cada una de las señales del mejor canal de cada sector y ojo se aplica el algoritmo que se define en los siguientes pasos (Figura 6):

- (Paso 1). Se selecciona el primer valor del vector V_f .

- (Paso 2). Se toman 11 valores de atenuación en el intervalo $\alpha=0$ (máxima atenuación) y $\alpha=1$ (atenuación nula) en saltos de 0.1.
- (Paso 3). Se construyen 11 filtros paso banda, cuyo ancho de banda es la frecuencia elegida en el Paso 1 y la atenuación de cada uno de ellos son los 11 valores de α del Paso 2.
- (Paso 4). Se calcula la señal resultante al aplicar cada uno de los 11 filtros a la señal original en el tiempo.
- (Paso 5). Se calcula el parámetro Porcentaje de Energía (PoE). Este parámetro cuantifica la calidad de los registros mediante el cálculo de energía presente en la ventana de señal respecto a la de todo el registro. Si el PoE se acerca a su valor máximo (100%) significa que toda la energía del registro está en la ventana de señal, por lo que no hay ruido presente en el registro. Se ha utilizado este parámetro pues trabajos anteriores han demostrado sus ventajas sobre la relación señal a ruido [3].

$$PoE(\%) = \frac{E_{VS}}{E_{registro}} = \frac{\sum_{k=45ms}^{k=150ms} X^2(k)}{\sum_{k=0ms}^{k=500ms} X^2(k)} \times 100 \text{ (Eq. 1)}$$

- (Paso 6). Se selecciona como señal definitiva para este valor de frecuencia, aquella que presenta el valor de PoE más elevado. Esta señal se empleará como nueva señal de entrada para la siguiente frecuencia.
- (Paso 7). Se toma la siguiente frecuencia del vector V_f hasta que se recorra el vector entero.

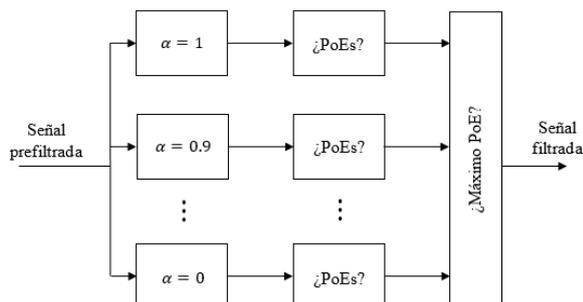


Figura 6. Algoritmo optimizador.

2.4. Calidad de las señales y fiabilidad test-retest.

Para evaluar la calidad de las señales se han utilizado los siguientes parámetros:

- El valor de SNR.
- El valor de ISNR. Para los dos ojos de un mismo paciente, se calcula el ratio ISNR como la división entre el valor de SNR del ojo derecho (OD) y el valor de SNR del ojo izquierdo (OI) de un mismo sujeto:

$$ISNR = \frac{SNR_{OD}}{SNR_{OI}} \text{ (Eq. 2)}$$

- La concordancia de las señales test-retest se ha evaluado mediante el coeficiente de concordancia de correlación (CCC) de Lin [5]. Este coeficiente toma el valor 1 en caso de concordancia perfecta y el valor 0 en caso de independencia entre las 2 medidas en un mismo sujeto.

3. Resultados.

3.1. Forma del filtro y de señal promedio.

Aplicando esta técnica para la base de datos de 24 sujetos sanos, si realizamos un promediado de la función de transferencia obtenida para el intervalo de 0 a 50 Hz, se obtiene el filtro mostrado en la Figura 7.

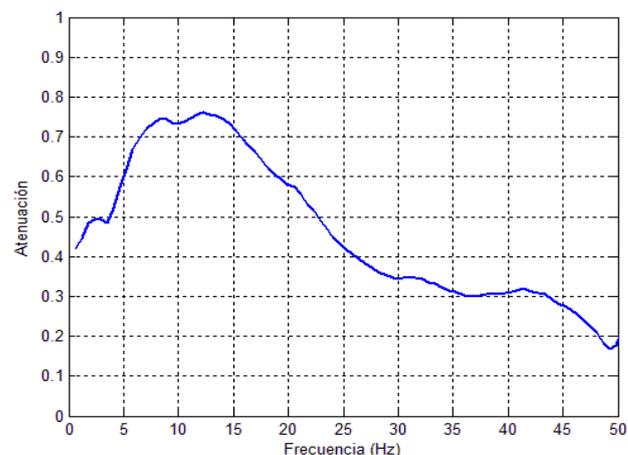


Figura 7. Forma de onda en frecuencia del filtro.

Una vez filtrada la base de datos de sujetos sanos, se comparan los resultados obtenidos mediante el algoritmo planteado (FAO) con el filtrado FFT estándar (filtro paso banda de 1 a 35 Hz) y con la señales sin filtrar (ver Tabla I). Como se observa, el nuevo algoritmo implementado mejora en gran medida al filtrado paso banda tradicional. La SNR aumenta y el ratio ISNR se aproxima más a uno.

Valor	Bruto	1-35Hz	FAO
SNR tc	2.75±0.73	3.34±2.30	4.77±3.02
SNR mc	4.29±1.26	5.17±2.81	7.24±3.69
ISNR tc	1.21±0.52	1.11±0.46	1.08±0.38
ISNR mc	1.11±0.54	1.07±0.35	1.05±0.33

Tabla I. Valores SNR (tc=todos los canales, mc=mejor canal)

En la Figura 8 se muestra un ejemplo de señales sin filtrar (SNR=3.88), filtradas FFT (SNR=4.92) y filtradas FAO (SNR=7.55).

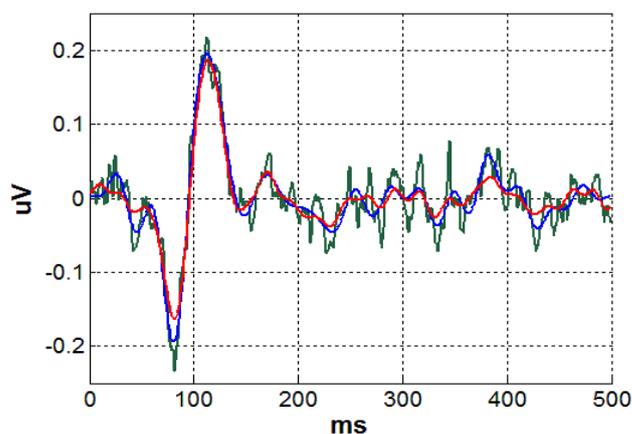


Figura 8. Ejemplo de señales: en bruto (verde) filtradas FFT (azul y filtradas FAO (rojo).

3.2. Estudio de fiabilidad test-retest.

En la **Tabla 2** se obtiene los resultados obtenidos en el estudio de concordancia. Cada día se calculó el filtro FAO.

Valor	Bruto	1-35Hz	FAO
CCC _{tc}	0,924	0,938	0,945
CI95%	0,792-0,978	0,805-0,981	0,826-0,983
CCC _{mc}	0,929	0,938	0,954
CI95	0,799-0,980	0,803-0,982	0,853-0,986

Tabla 2. Valores obtenidos prueba test-retest. (tc=todos los canales, mc=mejor canal, CI95%=intervalo de confianza)

Como era de esperar, se obtienen valores de CCC mayores para el mejor canal respecto a todos los canales. El CCC_{FAO} es ligeramente superior a los valores de CCC_{Bruto} y CCC_{1-35Hz}.

4. Discusión.

Trabajos anteriores confirman que los valores de SNR obtenidos a partir de la base de datos de este estudio son apropiados. En [5] obtienen la siguiente fórmula de cálculo de SNR de acuerdo a la edad $SNR=5.1-(0.01 \cdot \text{edad})$, válida para el mejor canal de cada sector aplicando el filtrado tradicional (FFT a 35Hz). El valor obtenido mediante esa fórmula es 4.8 y de manera práctica 5.17, valores que consideramos aceptable. En el trabajo [6] los autores mejoran la calidad de la señal usando un método de predicción basado en 40 electrodos virtuales, obteniendo unos valores de $SNR=3.87 \pm 1.08$ para la señal en bruto y de $SNR=4.36 \pm 1.03$ para la señal procesada con el método desarrollado (se corresponde a una ganancia del +12.66%). En trabajos anteriores nuestros [7], aplicando un filtro de Prony, se consigue una ganancia de $SNR=4.29 \pm 1.26$ y $SNR=6.20 \pm 1.58$ correspondiente al 44.52% y utilizando un filtro basado en Adaptive Noise Canceler [8] y en el mejor caso de todos los presentados, la ganancia pasa de $SNR=4.29 \pm 1.26$ a $SNR=6.96 \pm 1.53$, equivalente al 62.15%. El método presentado en este artículo, para el mejor canal mejora de $SNR=4.29 \pm 1.26$ a $SNR=7.24$ (FAO), correspondiéndose con una ganancia de +68.76%. En trabajos siguientes se deberá aplicar este parámetro sobre señales provenientes de pacientes con enfermedades de la vía visual.

Las aplicaciones clínicas de los potenciales evocados visuales multifocales se incrementarán si es posible mejorar la calidad de estas señales, de tal modo que estas señales reflejen fielmente el estado de la vía visual. Las señales mfVEP generalmente están muy contaminadas por ruido, debido a su baja amplitud. El desarrollo de técnicas digitales que permita mejorar su calidad es sumamente interesante, pues posibilitarán su aplicación clínica, especialmente para el diagnóstico y seguimiento de enfermedades de gran incidencia social, como la esclerosis múltiple (entre otras).

5. Conclusiones.

La principal conclusión de este trabajo es que el filtrado FAO mejora la calidad de la señal comparando sus

resultados con el filtrado típico. El parámetro SNR es ampliamente aceptado como medidor de la calidad de la señal, y en este caso se obtienen resultados más altos. La ventaja del filtrado de atenuación optimizada, es que atenúa las frecuencias presentes en la ventana de ruido, eliminando por tanto estas señales interferentes de la ventana de señal. Además, al ser más eficiente eliminando el ruido, la señal obtenida es más fiable, por lo que se reduce la variabilidad entre pruebas consecutivas.

Agradecimientos

Trabajo financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad mediante el proyecto “Análisis avanzado de las señales de los potenciales evocados multifocales aplicados al diagnóstico de las neuropatías ópticas” ref. TEC2011-26066.

Referencias

- [1] H. A. Baseler, E. E. E. Sutter, S. A. A. Klein, and T. Carney, “The topography of visual evoked response properties across the visual field,” *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, vol. 90, no. 1, pp. 65–81, Jan. 1994.
- [2] D. C. Hood and V. C. Greenstein, “Multifocal VEP and ganglion cell damage: Applications and limitations for the study of glaucoma,” *Prog. Retin. Eye Res.*, vol. 22, no. 2, pp. 201–251, 2003.
- [3] M. O. Del Castillo, L. de Santiago, A. Fernández, R. Blanco, J. M. Rodríguez-Ascariz, R. Barea, J. M. Miguel-Jiménez, E. M. Sánchez-Morla, and L. Boquete, “A new method for quantifying mfVEP signal intensity in multiple sclerosis,” *Biomed. Signal Process. Control*, vol. 22, pp. 119–125, Sep. 2015.
- [4] D. C. Hood, X. Zhang, J. E. Hong, and C. S. Chen, “Quantifying the benefits of additional channels of multifocal VEP recording,” *Doc. Ophthalmol.*, vol. 104, no. 3, pp. 303–320, 2002.
- [5] B. Fortune, X. Zhang, D. C. Hood, S. Demirel, and C. a Johnson, “Normative ranges and specificity of the multifocal VEP,” *Doc. Ophthalmol.*, vol. 109, no. 1, pp. 87–100, Jul. 2004.
- [6] B. a E. Mazinani, T. D. Waberski, A. W. a Weinberger, P. Walter, and G. F. Roessler, “Improving the quality of multifocal visual evoked potential results by calculating multiple virtual channels,” *Jpn. J. Ophthalmol.*, vol. 55, no. 4, pp. 396–400, Jul. 2011.
- [7] A. Fernández, L. De Santiago, R. Blanco, C. Pérez-Rico, J. M. Rodríguez-Ascariz, R. Barea, J. M. Miguel-Jiménez, J. R. García-Luque, M. Ortiz del Castillo, E. M. Sánchez-Morla, and L. Boquete, “Filtering multifocal VEP signals using Prony’s method,” *Comput. Biol. Med.*, vol. 56, pp. 13–19, Jan. 2015.
- [8] “53rd Symposium of International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV), 23–27 June 2015, Ljubljana, Slovenia,” *Doc. Ophthalmol.*, vol. 130, no. S1, pp. 11–58, Jun. 2015.

Caracterización de la Dinámica en la Eficiencia de la Red Neuronal en Esquizofrenia en Tarea Cognitiva Auditiva

Javier Gomez-Pilar¹, Jesús Poza Crespo¹, Alejandro Bachiller Matarranz¹, Carlos Gómez Peña¹,
Vicente Molina Rodríguez², Roberto Hornero Sánchez¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica (GIB), Dpt. TSCIT, Universidad de Valladolid, Paseo de Belén 15, 47011-Valladolid, España, javier.gomez@gib.tel.uva.es, alejandro.bachiller@uva.es, {jespoz, cargom, robhor}@tel.uva.es

² Dpt. de Psiquiatría, Facultad de Medicina, Universidad de Valladolid, Av. Ramón y Cajal 7, 47005-Valladolid, España, vmolina@med.uva.es

Resumen

El objetivo de este estudio es caracterizar los cambios dinámicos en la eficiencia de la red neuronal de pacientes con esquizofrenia (SCH) durante la realización de una tarea cognitiva auditiva basada en el paradigma odd-ball. Anteriores estudios sugieren que los daños cognitivos asociados con la SCH podrían estar relacionados con alteraciones funcionales de las redes neuronales, provocando un "síndrome de desconexión". Por ello, se registró la actividad electroencefalográfica (EEG) de 20 pacientes con SCH y 20 sujetos de control. Se estimó la conectividad mediante la coherencia espectral a partir del EEG. Posteriormente, se construyó la matriz de adyacencia para obtener dos medidas que cuantifican el intercambio de información en una red, así como su robustez frente a fallos a pequeña escala: la eficiencia global y la eficiencia local. La eficiencia global mostró un aumento de la capacidad de intercambio de información en controles y en pacientes en la respuesta de una tarea cognitiva con respecto al baseline. Sin embargo, únicamente el aumento de la eficiencia global en controles resultó significativo ($p < 0.05$). Por su parte, el análisis de la eficiencia local mostró diferencias significativas entre grupos en las zonas frontales, centrales y occipitales. Estos resultados sugieren que la organización de la red funcional en pacientes es menos robusta frente a fallos de pequeña escala, lo que indica un déficit en la capacidad de intercambiar información entre distintas regiones cerebrales. Estos hallazgos proporcionan una explicación sobre la menor integración de redes neuronales en pacientes con SCH, principalmente entre zonas cerebrales distantes.

1. Introducción

La esquizofrenia (SCH) es un desorden psiquiátrico caracterizado por síntomas positivos y negativos, frecuentemente acompañados de un deterioro en el proceso cognitivo [1]. Un diagnóstico temprano es crucial, ya que la efectividad del tratamiento disminuye cuanto más largo es el periodo de psicosis [2]. Diferentes investigaciones han señalado la SCH como un síndrome de desconexión, asociado con un déficit en la capacidad de integración de la información entre las diferentes regiones cerebrales [3]. A la luz de esta hipótesis, el análisis de la reorganización neuronal en la SCH podría aportar información relevante sobre los sustratos neuronales alterados en esta patología.

La conectividad neuronal entre distintas regiones cerebrales puede ser estudiada mediante herramientas de la Teoría de Redes Complejas. Estudios previos han utilizado

medidas de coherencia espectral a partir de señales de electroencefalograma (EEG) para formar el grafo de red en pacientes con SCH [4], [5]. El análisis de redes complejas permite obtener información sobre la capacidad de intercambio de información de la red cerebral. En concreto, distintas medidas de eficiencia han sido usadas como cuantificador de la capacidad de la red para transmitir información en paralelo entre nodos [6]. Por tanto, estas medidas también evalúan la capacidad de la red para reponerse ante fallos en uno de sus nodos.

Las oscilaciones neuronales son el principal mecanismo que permite la coordinación de actividades neuronales complejas. Típicamente, estas oscilaciones se dividen en distintas bandas espectrales: delta (δ , 1-4 Hz), zeta (θ , 4-8 Hz), alfa (α , 8-13 Hz), beta (β , 13-30 Hz) y gamma (γ , 30-70 Hz). Las bandas espectrales lentas (δ y θ) se corresponden con la sincronización o comunicación de la red en un rango espacial amplio [7]. Por otro lado, las bandas espectrales rápidas están asociadas con la sincronización local de la red [7]. Anteriores estudios mostraron un comportamiento diferente en el EEG de pacientes con SCH en bandas espectrales lentas [8] y rápidas [9] con respecto a los controles. Es por ello que el análisis de cada banda espectral por separado es relevante.

La SCH está relacionada con la memoria de trabajo [3]. Sin embargo, mientras que varios estudios se han centrado en la actividad cerebral en reposo [10], son pocos los que se han centrado en el paradigma *odd-ball* [11], [12]. No obstante, éste podría resultar más adecuado para la caracterización de la SCH [13]. En el presente estudio se pretende caracterizar la reorganización de la red neuronal en los pacientes con SCH como respuesta a una tarea cognitiva mediante dos medidas de la capacidad de transmisión de información en paralelo: eficiencia global (E_g) y eficiencia local (E_l).

2. Materiales

2.1. Sujetos

En el estudio participaron 20 controles sanos (14 hombres y 6 mujeres, edad = 33.3 ± 12.3 años, media \pm desviación estándar) y 20 pacientes con SCH crónica (14 hombres y 6 mujeres, edad = 36.7 ± 10.5 años, media \pm desviación estándar). El diagnóstico se realizó en el Hospital Clínico

de Valladolid de acuerdo con el *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM-IV) [1]. Todos los participantes dieron su consentimiento para participar en el estudio, el cual fue aprobado por el comité ético local.

2.2. Registros de EEG

La adquisición del EEG se realizó mediante el equipo de Brain Vision® (Brain Products GmbH; Munich; Alemania). Para la localización de electrodos se siguió el sistema internacional 10/20, con 17 electrodos (Fp1, Fp2, F3, F4, F7, F8, C3, C4, P3, P4, O1, O2, T5, T6, Fz, Pz y Cz). Los registros se realizaron mientras los participantes se mantenían sentados, relajados y con los ojos cerrados. La tarea auditiva *odd-ball* consistió en series de 600 tonos de 50 ms de duración, con intensidad de 90 dB y una distancia entre estímulos aleatoria entre 1.16 y 1.44 ms. Se presentaron tres diferentes tonos: objetivo (500 Hz), distractor (1000 Hz) y estándar (2000 Hz), con probabilidad de aparición de 0.2, 0.2 y 0.6, respectivamente. Las señales de EEG se obtuvieron con una frecuencia de muestreo de 250 Hz. Posteriormente, se realizó un referenciado promedio de todos los canales y se les aplicó un filtro *Finite Impulse Response* (FIR) con ventana de Hamming entre 1 y 70 Hz, junto con un filtro de ranura a 50 Hz para eliminar la frecuencia de red. Finalmente, el rechazo de artefactos se realizó en tres pasos para minimizar el efecto de ruido ocular y muscular [4], [11]: (i) eliminación de las componentes relacionadas con el movimiento ocular, de acuerdo a una inspección visual y espectral de las componentes procedentes del análisis de componentes independientes; (ii) segmentación de las señales procedentes de cada canal en ventanas de 1 segundo de duración desde 300 ms antes del estímulo auditivo hasta 700 ms posteriores a dicho estímulo; (iii) rechazo automático mediante umbralización adaptativa [4]. Sólo los tonos objetivo atendidos fueron considerados en posteriores análisis.

3. Métodos

3.1. Transformada Wavelet Continua

Para describir las propiedades dinámicas de cada segmento de 1 s libre de artefactos se utilizó la transformada wavelet continua (*Continuous Wavelet Transform, CWT*). La CWT fue obtenida mediante la convolución de la señal correspondiente al segmento de 1 s con una función Morlet compleja. Así, se obtuvo el escalograma *wavelet* (*Wavelet Scalogram, WS*), que resume la distribución de la energía de la señal en el plano tiempo-frecuencia [14]. Tanto los parámetros utilizados como el proceso seguido, son idénticos a los descritos en [11].

3.2. Coherencia Espectral

La coherencia espectral o coherencia cuadrática media (*Mean Squared Coherence, MSC*) es una medida comúnmente utilizada para evaluar la conectividad funcional entre dos regiones cerebrales [15]. Esta función real permite cuantificar la interacción funcional en el contenido espectral entre dos canales de EEG. La MSC de dos señales se define como la división entre la función de densidad espectral de potencia cruzada y la densidad espectral de potencia de cada una por separado [15]:

$$MSC_{ij}(t, f) = \frac{|WS_{ij}(t, f)|^2}{WS_{ii}(t, f)WS_{jj}(t, f)}, \quad (1)$$

donde i y j se refieren a cada uno de los canales evaluados, f a la frecuencia y t al instante temporal. Los valores de MSC obtenidos fueron promediados para cada banda espectral bajo estudio: θ , α , β y γ .

3.3. Teoría de redes complejas

Un grafo es una estructura matemática usada para modelar la relación entre dos objetos [16]. En el contexto de este estudio, un grafo está compuesto por nodos (electrodos) y uniones entre los mismos o aristas. Para dar valores, o pesos (w), a dichas aristas se utilizaron las medidas de MSC anteriormente calculadas entre cada par de electrodos. Así, se obtuvo un grafo de 17 nodos ($n=17$) para cada uno de los sujetos del estudio con pesos de sus enlaces denotados por w_{ij}^b , donde b indica la banda de frecuencia. El promedio de dichas redes en el grupo de control y en el grupo de SCH se muestra en la Figura 1.

Entre las múltiples propiedades que describen un grafo, en el presente estudio se seleccionaron la E_g y E_l . Con ello se pretendió evaluar simultáneamente la capacidad de la red para transmitir información en paralelo, así como su capacidad de reponerse ante fallos locales. La E_g se define como la media inversa de los caminos más cortos [17]:

$$E_g = \frac{1}{n} \sum_{i \in N} \frac{\sum_{j \in N, j \neq i} (d_{ij})^{-1}}{n-1}, \quad (2)$$

donde (d_{ij}) es el camino más corto entre i y j . Este parámetro proporciona una medida global de la red que evalúa el grado de integración de la misma [17]. Por su parte, la E_l es un indicador de la eficiencia de la comunicación entre los nodos vecinos de i , cuando i es eliminado [17]:

$$E_l = \frac{1}{n} \sum_{i \in N} \frac{\sum_{j, h \in N, j \neq i} w_{ij} w_{ih} (d_{ih}(N_i))^{-1}}{k_i(k_i-1)}, \quad (3)$$

donde $d_{ih}(N_i)$ es el camino más corto entre j y h que sólo contiene vecinos de i , y k_i es el grado del nodo i (suma de los pesos de las aristas del nodo i).

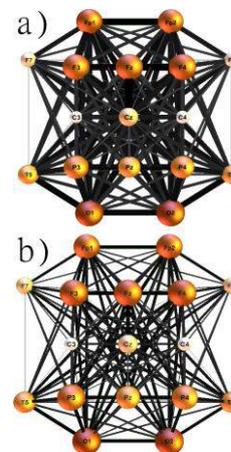


Figura 1. a) Grafo promedio del grupo de control. b) Grafo promedio del grupo SCH. El tamaño de los nodos y grosor de las aristas son proporcionales al grado de nodo y al valor de los pesos, respectivamente.

3.4. Análisis Estadístico

Para llevar a cabo el análisis estadístico de los resultados, primero se estudió la distribución de los datos. Se observó que los mismos no cumplían las condiciones de normalidad y homocedasticidad. Por ello, se utilizó: (i) el test de rangos con signo de Wilcoxon ($\mu=0.05$) para el análisis intra-grupo, y (ii) el test U de Mann-Whitney ($\mu=0.05$) para el análisis inter-grupo.

4. Resultados y Discusión

En primer lugar, se calculó la E_g durante la ventana de *baseline* ([-300 0] ms con respecto al estímulo auditivo) y de respuesta ([150 450] ms con respecto al estímulo) en cada una de las bandas espectrales de los controles y de los pacientes con SCH. Para independizar del tamaño de la red, se calcularon 50 surrogaciones sobre la red original y se normalizó la E_g entre dicho valor ($\{E_g\}_s$) [18]. Únicamente se encontraron diferencias significativas entre las ventanas evaluadas en la banda θ . La Figura 2 muestra un diagrama de cajas que resume los resultados obtenidos. Dado que únicamente se encontraron diferencias significativas en la banda θ , los resultados de la E_g sugieren que la principal reconfiguración neuronal de la red se produce a baja frecuencia y, por lo tanto, afectaría a la comunicación a larga distancia [7]. Además, pese a que el cambio en la E_g^θ es significativo en ambos grupos, es mayor en el grupo de control. Esto indica que los enfermos con SCH presentan un déficit en la reconfiguración de la red neuronal para aumentar la eficiencia de la comunicación. El hecho de que este proceso sea más importante a bajas frecuencias concuerda con anteriores estudios [4], [11], [12]. Durante la respuesta producida por la realización de la tarea cognitiva el principal cambio espectral se produce en la banda θ [4]. Es común encontrar un comportamiento diferenciado entre controles y pacientes con SCH en dicha banda, debido a la dificultad de estos últimos para integrar información entre regiones cerebrales distantes [11].

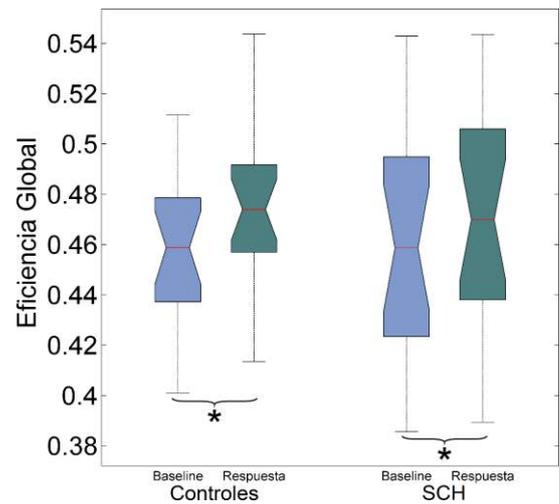


Figura 2. Diagrama de cajas de la distribución de la $\{E_g^\theta\}_s$ en la ventana de *baseline* y de *respuesta* para el grupo de control y el de pacientes con SCH. Los asteriscos muestran diferencias significativas entre ambas distribuciones (test de Wilcoxon, $\mu<0.05$).

Con el objetivo de realizar un análisis espacial en las frecuencias más significativas, se calculó la E_l en la banda θ . Los resultados se muestran en la Figura 3. Se aprecia como, en reposo, los valores de E_l^θ son similares en controles y en pacientes con SCH. El grupo de control muestra un aumento significativo de los valores de eficiencia, principalmente en la zona fronto-temporal izquierda en la ventana de respuesta. Sin embargo, en el grupo de pacientes con SCH, aunque también existe este aumento en la región temporal derecha, éste es mucho menor. Por otro lado, se aprecia como, durante la ventana de *baseline*, la distribución de la E_l^θ es muy similar en ambos grupos ($p>0.05$). Es durante la ventana de respuesta donde las diferencias se vuelven notables, principalmente en la zona fronto-central y occipital. De nuevo, estos resultados concuerdan con otros estudios, que asocian la

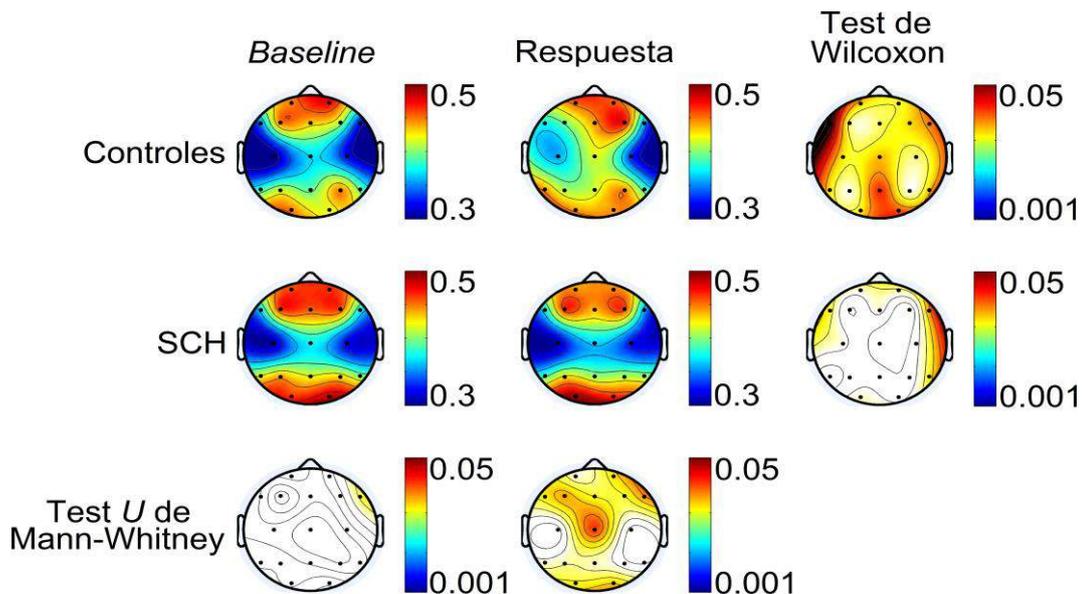


Figura 3. Diagramas espaciales con la distribución de la E_l^θ en la ventana de *baseline* y de *respuesta* para el grupo de control y el de pacientes con SCH. La columna derecha muestra diferencias intra-grupo (test de Wilcoxon, $\mu<0.05$), mientras que la fila inferior muestra las diferencias inter-grupo (test U de Mann-Whitney, $\mu<0.05$).

SCH con un déficit en la reestructuración de la red de modo por defecto (activa en reposo) hacia la *saliency network* (activa durante la respuesta de una tarea cognitiva) [3], [11]–[13].

Conviene remarcar que las conocidas redes de pequeño mundo (*small-world networks*) se asemejan a la red funcional neuronal [19]. Estas se caracterizan por poseer una elevada E_g al mismo tiempo que una elevada E_l [17], es decir, elevada comunicación global y local. Por tanto, los resultados también coinciden en este aspecto con los hallazgos encontrados en anteriores estudios sobre el grado de aleatoriedad de la red funcional cerebral [5], [6], [12].

Existen algunas limitaciones del estudio que merecen especial atención. En primer lugar, en futuros trabajos sería conveniente ampliar la población bajo estudio, tanto del grupo de control como de pacientes, de forma que aumente la potencia estadística de los resultados obtenidos. Además, sería conveniente realizar las adquisiciones de los registros de EEG mediante una distribución de electrodos de alta densidad para que pudieran obtenerse conclusiones más precisas sobre las propiedades de red. Por último, para completar la caracterización de las redes funcionales, podría ser interesante estudiar la similitud de estas redes con redes regulares o aleatorias.

5. Conclusiones

En el presente estudio se ha caracterizado la dinámica funcional neuronal de la SCH. Concretamente, se ha estudiado la eficiencia de la red neural de forma global y local, partiendo de registros de EEG. Se ha observado que la SCH se puede asociar con un déficit en la integración de la información entre zonas cerebrales distantes. Asimismo, la SCH afecta a la conectividad cerebral, generando redes menos robustas ante fallos en un nodo.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos TEC2014-53196-R del Ministerio de Economía y Competitividad y FEDER, y VA059U13 de la Consejería de Educación (Junta de Castilla y León). Javier Gomez-Pilar cuenta con una beca FPI-UVA de la Universidad de Valladolid.

Referencias

- [1] American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th Edition: DSM-5. 2013.
- [2] Marshall M, Lewis S, Lockwood A, Drake R, Jones P, Croudace T. Association between duration of untreated psychosis and outcome in cohorts of first-episode patients: a systematic review. *Arch. Gen. Psychiatry*, vol. 62, pp. 975–983, 2005.
- [3] Friston KJ. The disconnection hypothesis. *Schizophr. Res.*, vol. 30, pp. 115–125, 1998.
- [4] Bachiller A, Poza J, Gómez C, Molina V, Suazo V, Hornero R. A comparative study of event-related coupling patterns during an auditory oddball task in schizophrenia. *J. Neural Eng.*, vol. 12, pp. 016007, 2015.
- [5] Fallani FDV, Costa LDF, Rodriguez FA, Astolfi L, Vecchiato G, Toppi J, Borghini G, Cincotti F, Mattia D, Salinari S, Isabella R, Babiloni F. A graph-theoretical approach in brain functional networks. Possible implications in EEG studies. *Nonlinear Biomed. Phys.*, vol. 4 Suppl. 1, pp. S8, 2010.
- [6] Achard S, Bullmore E. Efficiency and cost of economical brain functional networks. *PLoS Comput. Biol.*, vol. 3(2), pp. 0174–0183, 2007.
- [7] Uhlhaas PJ, Singer W. Abnormal neural oscillations and synchrony in schizophrenia. *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 11, pp. 100–113, 2010.
- [8] Bachiller A, Lubeiro A, Díez A, Suazo V, Domínguez C, Blanco JA, Ayuso M, Hornero R, Poza J, Molina V. Decreased entropy modulation of EEG response to novelty and relevance in schizophrenia during a P300 task. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.*, pp. 1–11, 2014, in press.
- [9] Haig AR, Gordon E, De Pascalis V, Meares RA, Bahramali H, Harris A. Gamma activity in schizophrenia: evidence of impaired network binding? *Clin. Neurophysiol.*, vol. 111(8), pp. 1461–1468, 2000.
- [10] Kikuchi M, Hashimoto T, Nagasawa T, Hirokawa T, Minabe Y, Yoshimura M, Strik W, Dierks T, Koenig T. Frontal areas contribute to reduced global coordination of resting-state gamma activities in drug-naïve patients with schizophrenia. *Schizophr. Res.*, vol. 130(1–3), pp. 187–194, 2011.
- [11] Gomez-Pilar J, Poza J, Bachiller A, Gómez C, Molina V, Hornero R. Neural Network Reorganization Analysis During an Auditory Oddball Task in Schizophrenia Using Wavelet Entropy. *Entropy*, vol. 17(8), pp. 5241–5256, 2015.
- [12] Gomez-Pilar J, Bachiller A, Poza J, Gómez C, Molina V, Hornero V. Caracterización de Potenciales Evocados del EEG en Esquizofrenia mediante Teoría de Redes Complejas. *Libro de Actas del XXXII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2014)*, Barcelona, pp. 1-4, Barcelona (España), 2014, pp. 1–4 (ISBN: 978-84-617-2446-8).
- [13] Palaniyappan L, Doege K, Mallikarjun P, Liddle E. Cortical thickness and oscillatory phase resetting: A proposed mechanism of saliency network dysfunction in schizophrenia. *Psychiatriki*, vol. 23(2), pp. 117–129, 2012.
- [14] Mallat S. A Wavelet Tour of Signal Processing. A Wavelet Tour of Signal Processing, 1999, pp. 20–41.
- [15] Nunez PL, Srinivasan R, Westdorp AF, Wijesinghe RS, Tucker DM, Silberstein RB, Cadusch PJ. EEG coherency I: Statistics, reference electrode, volume conduction, Laplacians, cortical imaging, and interpretation at multiple scales. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, vol. 103(5), pp. 499–515, 1997.
- [16] Boccaletti S, Latora V, Moreno Y, Chavez M, Hwang DU. Complex networks: Structure and dynamics. *Phys. Rep.*, vol. 424(4–5), pp. 175–308, 2006.
- [17] Latora V, Marchiori M. Efficient behavior of small-world networks. *Phys. Rev. Lett.*, vol. 87(19), pp. 198701, 2001.
- [18] Stam CJ, De Haan W, Daffertshofer A, Jones BF, Manshanden I, et al. Graph theoretical analysis of magnetoencephalographic functional connectivity in Alzheimer's disease. *Brain*, vol. 132, pp. 213–224, 2009.
- [19] Sporns O, Zwi JD. The small world of the cerebral cortex. *Neuroinformatics*, vol. 2, pp. 145–162, 2004.

Brain activity changes induced by open and closed eyes during low-g maneuvers

D. Dubert¹, X. Ruiz¹, Jna. Gavalda^{1*}, A. Pérez-Poch²

¹Departament de Química Física i Inorgànica, Universidad Rovira i Virgili, Tarragona, Spain
diacri_dia@yahoo.com, josepxavier.ruiz@urv.cat, *[fina.gavalda@urv.cat](mailto: fina.gavalda@urv.cat) (corresponding autor)

²Departament de Llenguatges i Sistemes Informàtics, Universitat Politècnica de Catalunya, Barcelona, Spain,
antoni.perez-poch@upc.edu

Summary

The present work reports and discusses the changes in brain bioelectrical signals induced on normal subjects by open and closed eyes during their first parabolic flight in a small aerobatic plane. A parabolic flight maneuver is characterized by gravity changes from 1g to ~3g (first hypergravity phase, P1) to ~0.05g (hypogravity phase, P2) to ~2g (second hypergravity phase, P3) to 1g (inflight phase, B1). EEG signals have been obtained using a 14 channels EMOTIV EPOC device. Digital preprocessing techniques have been applied in order to properly clean all the experimental signals. Standardized Low Resolution Brain Electromagnetic Tomography (sLORETA) allowed obtaining intracranial activity. Statistical analysis of this intracranial activity was performed by using analysis of variance techniques (ANOVA). If ANOVA results were significant, post-hoc analyses were carried out. The results clearly show a decreasing of the intracranial activity during the hypogravity phase with open and closed eyes. Concerning mean values, significant differences have been detected between the hypogravity, P2, and both hypergravity phases, P1 and P3. Significant differences have also been detected for open eyes, by lobes. To check if intracranial activity presents significant differences along the phases, Even Related Potential, ERP, analyses were carried out. For both open and closed eyes tests, sLORETA images show statistical significant differences in the Brodmann areas 18 (Left Occipital Lobe) and 39 (Right Temporal Lobe) between B1-P2, respectively.

1. Introduction

Lately, great attention has been directed towards the possible effect of hyper/hypogravity on human body due to increase interest in life outside Earth. Parabolic flights are suitable methodologies for providing short periods of high/low gravity [1 – 4]. To perform experiments under these conditions, a small CAP10B single-engine aerobatic plane has been used in the present case. This platform provides 6-8 seconds of reduced gravity of, at least, 0.05g on average. Before and after each low gravity interval, hypergravity periods of 5-7 seconds with at the most 2.5-3g load are required [5, 6]. On the other side, as the flights are local, the CAP10B platform can repeat the parabolic flight a number of times during a single day campaign with less than 20 minutes of delay between the take-off and the corresponding hypogravity window. In summary, the proximity and accessibility of the plane as well as the reasonable price of the experiments induced us to select the above platform to perform the experiments. The CAP10B plane cockpit is transparent in all directions, unpressurized and significantly noisier compare to big

airplanes such as the ZeroG Airbus 300 (ESA), the G-Force One (NASA), the ZeroGilyushin 76 MDK (RSA) or the GulfStream II (JAXA).

The post-processing of the electroencephalographic signals obtained in the context of the CAP10B low-g maneuvers helped to cover the aim of the present research mainly focused on the study of the neurophysiological differences between the visual and the proprioceptive systems. To do so, we conducted two types of experiments, with opened and closed eyes subjects. This study should then be included in a more global framework on aerospace medicine.

2. Methods

2.1. Parabolic flights

Systematically the CAP10B aerobatic plane took off from the Aeroclub Barcelona-Sabadell and directed to an uninhabited area near the airport to begin the parabolic flights. The approximate rising height was of one thousand meters and the flight duration was about forty minutes, describing ten parabolas. In some special cases the pilot interrupted the experiment due to detection of hot rising convective currents which, by its intensity, could have affected the stability and quality of the parabolas, in terms of acceleration levels.

2.2. Subjects

The subjects under study were right-handed adults, men and women, being under no medication both before and during the flight and had no previous experience in parabolic flight. As a mandatory prerequisite before the flight, they successfully underwent a clinical check (Class II EASA Aeronautical Medical Certificate) and provided their written consent to make this activity. During the flight the participants, making low-g parabolas with open and closed eyes, sat strapped at the right side of the pilot and did not report any kind of motion sickness at all. Unfortunately these kind of small platforms do not allow investigating other positions as, for instance, standing or lying in the supine or prone position. In addition, the subject was constantly monitored by video to synchronize their activity with the EEG signal, in order to correct it.

2.3. Data acquisition devices

To mechanically characterize the flight we use a Pololu AltIMU-10 inertial measurement unit having a three-axis linear accelerometer and an altimeter. Acceleration sensor

had a 12 bits data digital output with a 2 mg resolution in a full-scale of $\pm 4g$. The altimeter had a digital resolution of 24 bits getting a resolution in altitude about 2 meters. All the data were recorded at forty samples per second. Simultaneously a GPS receiver engine module, EM406A board, supplied the position of the plane at one sample per second.

To continuously monitor the brain EEG changes all along the flight an EMOTIV EPOC Headset was used. This device is a 14-channel (+2 references) wireless EEG system developed by Emotive Systems. The location of the fourteen cephalic electrodes in the MCN International 10-20 system are AF3, AF4, F7, F8, F3, F4, FC5, FC6, T7, T8, P7, P8, O1 and O2 with CMS/DRL references in the P3/P4 locations. The real time brain signals were sampled at 128 Hz using the free software package OpenViBE [7]. This software was also used to store raw data in a portable PC.

2.4. Data preprocessing

Due to the high level of artifact contamination in EEG records, mainly generated by the unavoidable mechanical vibrations of the plane and the subject movements, the preprocessing of the fourteen extra-cranial raw signals obtained all along the flight involved a sequence of very delicate steps. Firstly a band pass filter – Butterworth type - preserving only the frequency range between 8 – 40 Hz was applied to all signals. The objective of this first manipulation is to maintain only the information contained inside the alpha and beta frequency bands discarding the ambient and much of the muscle artifacts [8, 9]. Remember that the four mentioned bands covers, alpha-1 [8-11 Hz], alpha-2 [11-13 Hz], beta-1 [13-18Hz], and beta-2 [18-40 Hz]. For the detection and removal of the remaining artifacts (eye blinks, vertical and horizontal eye movements, remaining muscle artifacts, impedance fluctuations ...) we used the ADJUST package [10] followed by the Algorithm for Multiple Unknown Source Extraction, AMUSE, available in the ICALAB toolbox for Signal processing. Both packages work in MATLAB environment [11]. ADJUST has proven to be very efficient in the reduction of eye movements while that AMUSE has proven to be very fast and equally efficient in the elimination of the remaining muscle activity. After the artifact removal, each parabola is baseline corrected in order to minimize slow drifts over time. Six parabolas EEG signals have been averaged and the intracranial activity (equivalently, the estimated standardized current density) was finally obtained solving the so-called inverse problem using Standardized Low Resolution Brain Electromagnetic Tomography (sLORETA) [12]. To calculate the lead field matrix, the brain anatomy used in the case of sLORETA solution (BrainStorm package) is the so-called Colin27 with 15002 cortical voxels [13], while in the case of sLORETA the default MNI115 anatomy has only 6239 grey matter voxels at 5 mm resolution.

2.5. Statistical analyses

Analysis of variance, ANOVA, was used for the comparison of the mean values of the intracranial activity.

All different tables show the sample mean value, while the value of the 95% confident interval of the mean appears in parenthesis (thus, there is a 95% chance that the calculated confidence interval contains the true population mean). In order to accomplish the ANOVA conditions, the presence of outliers are checked prior to discarding them. To reinforce normality we also used a log-transform in all cases. When the omnibus hypothesis failed, Tukey's Honestly Significant Difference, Fisher's Least Significant Difference and Bonferroni *post hoc* tests were used. The two-tailed level of significance was typically fixed at $P < 0.05$ in all tests. To avoid the different degree of conservativeness – equivalent, significant levels - associated to each one of the three mentioned tests, we accepted that there were significant differences in the mean values if and only if a minimum of two of them were accomplished. Statistical analyses were performed using Microsoft EXCEL as well as XLSTAT packages.

To check if intracranial activity presents significant differences along the specified phases, Even Related Potential, ERP, analyses were carried out in two stages. The first one enables to detect the instant when a significant difference in the signals between two phases exists. The second involved the detection of the brain region/s (Brodmann areas) which is/are the responsible of the significant difference. The first step test uses the EEG data while the second step test is based on the consideration of intracranial activity around the instant previously detected. Statistical significance is assessed using a nonparametric randomization test [14]. All the above-mentioned manipulations were conducted with the help of the sLORETA & eLORETA Zero Error package.

3. Results

3.1. Mechanical results

Fig 1 plots, two typical vertical accelerations associated with the averaged parabolas (open and closed eyes). Notice that the onset of the hypogravity phase is considered as the common starting time ($t = 0$). Both hypergravity phases, P1 and P3, are not symmetric

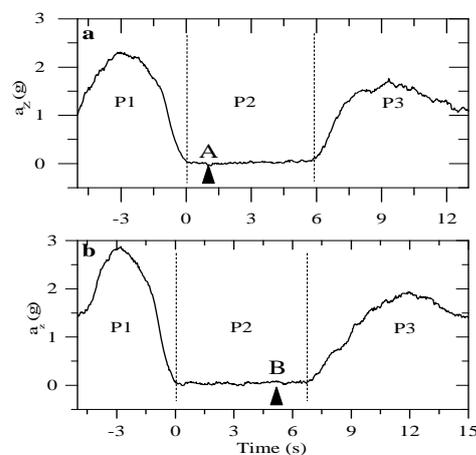


Figure 1. Vertical acceleration of the averaged parabolas: a) flight with open eyes, b) flight with closed eyes

In fact, due to the lack of symmetry, P1 and P3 maximum values of vertical acceleration are not equal. The mean value of the residual acceleration during the hypogravity phase, P2, is typically around 0.03g in both cases.

3.2. EEG results

Figures 2 and 3 present the temporal evolution of the intracranial activity averaged over 100 ms for the four lobes and for both cases, open and closed eyes respectively. Figure 2 shows that, in all lobes the lower values correspond to the hypogravity phase, P2. This tendency is not clearly recognized in the case of closed eyes (Figure 3).

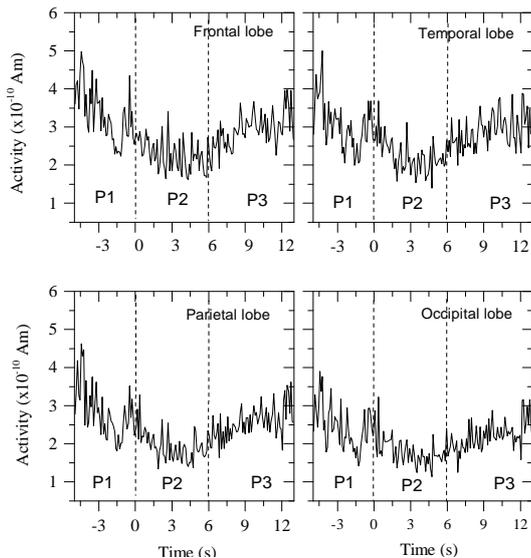


Figure 2. Intracranial activity along the representative parabola of the flight with open eyes

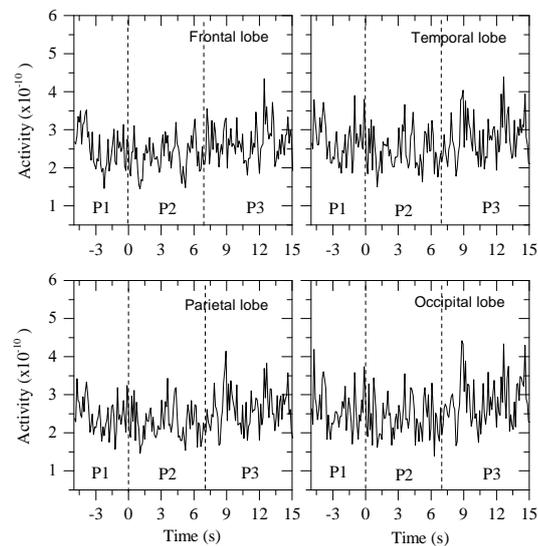


Figure 3. Intracranial activity along the representative parabola of the flight with closed eyes

Tables 1 and 2 summarize the mean intracranial activity associated to the different lobes and phases as well B1 in-flight phase gathered under 1g conditions, in both experiments. The ANOVA two-way results indicate that there are significant differences between phases with closed eyes but not with open eyes. In addition there are

significant differences between lobes with open and closed eyes.

Lobes Phases	F	T	P	O
B1	3.5(2)	2.1(0.7)	2.1(0.6)	1.3(0.7)
P1	3.3(1.0)	3.1(0.9)	2.8(0.9)	2.5(0.9)
P2	2.4(0.6)	2.2(0.6)	1.9(0.6)	1.8(0.6)
P3	2.9(0.7)	2.9(0.7)	2.5(0.6)	2.2(0.6)

Table 1: The mean of the intracranial brain activity associated to flight with open eyes. The 95% confident interval of the mean appears in parenthesis

Lobes Phases	F	T	P	O
B1	2.2(0.8)	2.2(0.8)	2.1(0.8)	1.9(0.8)
P1	2.6(1.1)	2.7(1.2)	2.5(1.1)	2.6(0.9)
P2	2.3(1.0)	2.5(1.1)	2.3(0.9)	2.4(0.7)
P3	2.6(1.1)	2.7(1.1)	2.5(1.2)	2.7(0.7)

Table 2: The mean of the intracranial brain activity associated to flight with closed eyes. The 95% confident interval of the mean appears in parenthesis

Post hoc results showed that, comparing the mean intracranial activity values by lobes with open eyes, the values are significant different in the cases of Frontal-Occipital, Frontal-Parietal and Temporal-Occipital. Though, with closed eyes just Temporal-Parietal lobes showed significant differences. Comparing the mean intracranial activity values by phases, the differences were not significant between P1- P2, P2-P3 and B1-P1,P2,P3 for closed eyes and insignificant for open eyes.

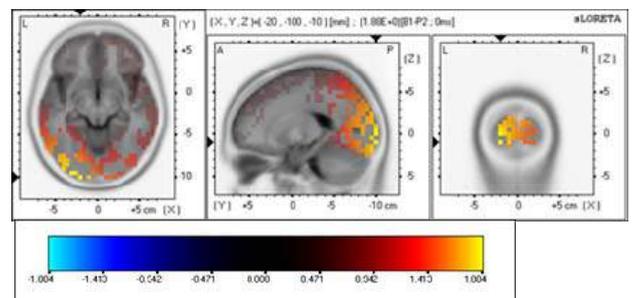


Figure 4. sLORETA images showing statistical differences (Log of ratio of averages) between B1 and P2 phases in the case of open eyes.

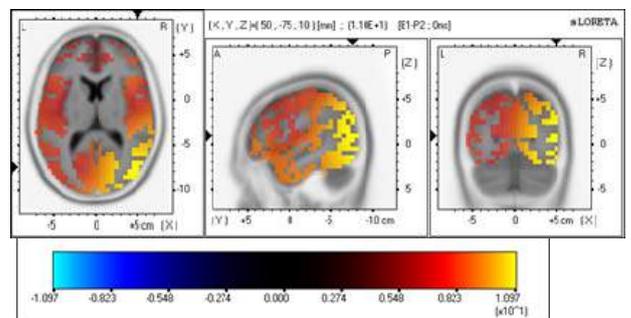


Figure 5. sLORETA images showing statistical differences (Log of ratio of averages) between B1 and P2 phases in the case of closed eyes.

For open and closed eyes, ERP analysis indicated that there were no significant differences between specific phases of the parabolas. On the contrary, there exist significant differences between the hypogravity, P2, and

the inflight base, B1, gathered under 1g conditions during the flights, in both cases.

Figure 4 shows that the significant difference was located in the lingual gyrus (occipital lobe, Brodmann area 18) at a time = 1 second approximately. This time corresponds to point A in Figure 1.a. Figure 5 (B1-P2 for closed eyes) shows that the significant differences are now located in the middle temporal gyrus (temporal lobe, Brodmann area 39). The time associated is 4.8 seconds - see point B in Figure 1.b-.

4. Conclusions

The present work has shown that the use of small aerobatic aircraft to conduct parabolic flights is a practical and inexpensive way to conduct pilot studies for medical research. With these small platforms, the attained hypogravity is reasonable (around 0.05 g) and suitable for research purposes, but its characteristic elapsed time within a parabola is short (around 6 seconds, open and closed eyes) when compared to the longer time obtained in larger aircraft (around 20 seconds, only closed eyes). Moreover extra influences in the results were due to the different experimental conditions (plane transparent cockpit, non thermostated and unpressurized environment). These differences allow us to explain the different responses reported in the literature, as specific activity found in the right frontal lobe [15].

Up to now the literature reports discussion based on mean EEG values [9]. In this work we introduce for the first time, temporal evolutions of intracranial activity all along the hypogravity maneuvers and from different lobes considered. It seems that the incorporation of the neural routes, associated with the vision - corresponding to Brodmann areas 17, 18 and 19 - increase the brain activity in all phases of the parabola.

The present ERP analyses, introduced, as well, for the first time in this kind of experiments, indicate that the conditions of the flight greatly influence the neural behavior of the subjects. The different times obtained show that the human perception of the hypogravity is faster when the visual system is involved. This agrees with the fact that the lobes implicated are different, open eyes is related with occipital and closed eyes is related with temporal.

Acknowledgements

The authors would like to thank to the AeroClub Barcelona-Sabadell the facilities offered in all stages of the flights Also we would like to thank the pilot Mr. Daniel V. González for his help and expertise all along the present campaign. This study was supported by grants 2014SGR365 and 2014LINE02 from the Generalitat de Catalunya and URV/Banco Santander, respectively.

References

- [1] Pletser V. Short duration microgravity experiments in physical and life sciences during parabolic flights: the first 30 ESA campaigns. *Acta Astronautica* 55:829-854, 2004.
- [2] Callens N, Ventura-Traveset J, de Lophem TL, de Echazarreta CL, Pletser V, van Loon JW., ESA parabolic flights, drop towers and centrifuge opportunities for university students. *Microgravity Science and Technology* 23:181-189, 2011.
- [3] Pletser V, Winter J, Duclos F, Bret-Dibat T, Friederich U, Clervoy JF, Gharib T, Gai F, Minster O, Sunblad P., The first joint European partial-g parabolic flight campaign at Moon and Mars gravity levels for science and exploration. *Microgravity Science and Technology* 24:383-395, 2012.
- [4] Messerschmid E, Bertrand R., Space Stations. Systems and Utilization. Springer Verlag, Berlin, 1999.
- [5] Osborne JR, Alonsoperez V, Ferrer D, Goswami N, González D, Moserm M, Grote V, Garcia-Cuadrado V, Perez-Poch A Effect on Mental Arithmetic on Heart Rate Responses During Parabolic Flights: The Barcelona Zero-G Challenge. *Microgravity Science and Technology* 26:11-16, 2014.
- [6] Brigos M, Perez-Poch A, Torner J, Alpiste F, González D., Parabolic Flights with Single-Engine Aerobatic Aircraft: Flight Profile and a Computer Simulator for its Optimization. *Microgravity Science and Technology*. DOI:10.1007/s12217-014-9382-0, 2014.
- [7] Renard Y, Lotte F, Gibert G, Congedo M, Maby E, Delannoy V, Bertrand O, Lécuyer A., OpenViBE: An Open-Source Software Platform to Design, Test and Use Brain-Computer Interfaces in Real and Virtual Environments. *Presence:teleoperators and virtual environments*, 19, 2010.
- [8] Thompson T, Steffert T, Ros T, Leach J, Gruzelier J., EEG applications for sport and performance. *Methods* 45:279-288, 2008.
- [9] Schneider S, Brümmer V, Mierau A, Carnahan H, Dubrowski A, Strüder HK., Increased brain cortical activity during parabolic flights has no influence on a motor tracking task. *Experimental Brain Research* 185:571-579, 2008.
- [10] Mognon A, Jovicich J, Bruzzone L, Buiatti M., ADJUST: An automatic EEG artifact detector based on the joint use of spatial and temporal features. *Psychophysiology* 48:229-240, 2011.
- [11] Crespo-García M, Atienza M, Cantero LJ., Muscle Artifact Removal from Human Sleep EEG by Using Independent Component Analysis. *Annals of Biomedical Engineering* 36:467-475, 2008.
- [12] Pascual-Marqui RD., Lehmann D., Koukkou M., Kochi K., Anderer P, Saletu B., Tanaka H., Hirata K., Roy John E., Prichep L., Biscay-Lirio R., Kinoshita T., Assessing interactions in the brain with exact low-resolution electromagnetic tomography, *Philosophical Transactions of the Royal Society A*, 369, 3768-3784, 2011.
- [13] Tadel F, Baillet S, Mosher JC, Pantazis D, Leahy RM Brainstorm: A user-Friendly Application for MEG/EEG Analysis. *Computational Intelligence and Neuroscience* Vol. 2011, ID: 879716, 2011.
- [14] Nichols TE, Holmes AP., Nonparametric permutation test for functional neuroimaging: a primer with examples. *Human Brain Mapping* 15:1-25, 2011.
- [15] Marusic U, Meeusen R, Pisot R, Kavcic V The brain in micro- and hypergravity: The effects of changing gravity on the brain electrocortical activity. *European Journal of Sport Science*, DOI:10.1080/17461391.2014.908959, 2014.

Comparing EEG background activity of epileptic patients and control subjects using spectral entropy and permutation-based statistical testing

J. A. Urigüen¹, J. Artieda^{2,4}, J. Iriarte^{2,4}, M. Valencia^{3,4,*}, B. García^{1,*}

¹ Deustotech-Life (eVida), Universidad de Deusto, Spain, {jose.uriguen, mbgarciazapi}@deusto.es

² Clínica Universidad de Navarra (CUN), Universidad de Navarra, Spain, {jartieda, jiriarte}@unav.es

³ Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA), Universidad de Navarra, Spain, mvustarroz@unav.es

⁴ IdiSNA, Instituto e Investigación Sanitarias de Navarra, Pamplona, España

*These authors coordinated this work equally

Abstract

In this study we have analyzed the background activity of the electroencephalogram of patients with epilepsy and of control subjects. We have studied the recordings of 10 patients and 10 controls by means of their spectral entropy in various frequency bands to determine whether the groups could be differentiated by this feature alone. Contrary to other similar studies, we have examined the statistical significance of the sample by implementing a (nonparametric) cluster-based permutation statistical test. This has the advantage that it provides a straightforward way to solve the multiple comparisons problem, in that it allows considering all available channels and time/frequency samples simultaneously, but requires no a-priori correction and results in a valid statistical test. In our experience, background activity from patients with epilepsy is enough to detect the condition when compared to a control group, i.e. there exists a significant difference between groups according to their spectral entropy in a specific frequency band. In fact, we have obtained statistical significance (at below 0.05 alpha-level) in 18 out of 19 channels between 5 and 11Hz and in an ever wider range for some channels.

1. Introduction

The electroencephalogram (EEG) measures the electrical activity of the neurons in the brain recorded by placing two or more electrodes on the scalp. EEG provides excellent temporal resolution and may also provide good spatial resolution given a large number of sensors. The analysis and digital processing of EEG is nowadays extensively conducted in neuroscience, cognitive science, cognitive psychology, neurolinguistics and psychophysiological research. More specifically, and in the context of the present study, it is often employed for diagnosing brain conditions such as epilepsy, dementia or Alzheimer's disease, among others [1].

Epilepsy is a neurological disorder characterized by a state of recurrent, spontaneous seizures [2] associated to abnormalities of the electrical activity of the brain and its function. It is found in 0.5 to 1% of the population [3] and may develop at any age. Epilepsy can be idiopathic, such that it occurs with no apparent brain organic dysfunction or genetic cause, or it can be symptomatic as a result of a

structural brain lesion. In either case, epileptic seizures have great variability, ranging from brief lapses of attention to prolonged losses of consciousness [3]. Seizures can be classified into two broad categories: generalized and partial (also called local or focal), the former produced by electrical impulses from throughout the entire brain and the latter generated (at least initially) by electrical impulses in a localized part of the brain.

There exists a vast area of research that deals with EEG signals prior to or during epileptic seizures. Related techniques are normally aimed at automatically recognizing epileptiform transients. In fact, several authors have studied detection and prediction of epileptic EEG signals in multiple linear and non-linear signal processing domains: time, frequency, wavelet, among others. We refer the reader to [4], [5] and references therein for comprehensive reviews on the subject. To detect EEG seizures, changes in metrics such as signal peak-to-peak amplitude difference and distance, energy of seizure and non-seizure intervals, entropy of ictal states compared to baseline, etc., are frequently used, with parametrization of the metrics that are user/signal specific. Efforts have also been made towards seizure prediction, even though this is a much more challenging task, whose optimal solution is still an open issue nowadays.

Nevertheless, it is important to highlight that epileptic transients are not always present in EEG recordings and therefore the development of techniques that help diagnosing epilepsy based on background EEG activity becomes critical in some situations. To the best of our knowledge, only one publication has attempted at differentiating epileptic patients from control subjects based on background EEG activity [6]. The authors used the wavelet entropy, in their case defined as an information cost function applied to wavelet packet coefficients (this being the information associated with the energy distribution of the system), as a way of separating both groups. They report statistical difference according to an ANOVA test, with epileptic patients presenting lower mean entropy values than the control

subjects. Interestingly, in our same line of work, a few other publications exist that deal with identification of patients presenting several other brain conditions, like Alzheimer's Disease, from healthy control subjects by inspecting their background EEG [7], [8]. These studies employ a wide variety of linear and nonlinear parameters such as median frequency, spectral entropy, approximate entropy or the Lempel–Ziv complexity, which are meant to overcome limitations of well-known and widely used metrics such as the correlation dimension or the Lyapunov exponent.

All that being said, the statistical analyses of the aforementioned studies are limited in that they implement parametric tests that must be interpreted carefully when data is measured at multiple sensors. For high-density electrode configurations, it is only possible to determine statistical significance at brain areas that comprise several sensors, rather than individual electrodes. Otherwise, statistical corrections (like Bonferroni) yield results that are too conservative and, in general, not significant. In contrast, we present a permutation-based statistical testing that can handle multi-sensor studies in a straightforward manner.

2. Materials and methods

2.1. EEG recording and preprocessing

EEG background activities of 10 epileptic patients and 10 healthy subjects were obtained at the University Hospital of Pamplona, Spain, as part of routine clinical measurements. The epileptic patients suffered from generalized epilepsy.

The EEG signals were obtained by placing 19 electrodes on the scalp according to the 10-20 system. Several minutes of each subject's EEG were acquired at a sampling rate of 200 Hz per channel. All channels were bandpass filtered in between 0.5 and 70Hz and line noise was removed with a 50Hz notch filter.

Even though many more sophisticated methods exist [1], we implement a very straightforward way of getting rid of the artifacts that may be present in the recordings:

- First, we segment the signal of each channel into epochs of approximately 10s long (2048 samples at 200Hz).
- Then, we mark artifactual epochs following some of the criteria established in [9], specifically data improbability and kurtosis. The former considers that invalid epochs should be identified by statistical values that are outliers relative to background activity. The latter assumes that invalid epochs are characterized by kurtosis values that are too extreme compared to background activity.
- Finally, we perform rejection [1] of the contaminated epochs marked in the previous step.

2.2. Shannon spectral entropy

Entropy (H) is generally defined as a measure of the uncertainty of information associated with a random variable. Departing from the original meaning, several

entropies have been developed over the years in various contexts and applied to analyze the complexity of different types of EEG signals [10].

Powell et al. proposed the Shannon spectral entropy (SSE) in [11] based on the distribution of the power spectrum. SSE can be used as an irregularity metric in terms of the flatness of the spectrum (it is higher the flatter the spectrum). The power spectrum of a signal $x(t)$ is the Fourier transform of the autocorrelation function and is given by $S(f) = X(f) X^*(f)$, where $X(f)$ denotes the Fourier transform of the signal, and $X^*(f)$ its complex conjugate. The SSE can then be obtained by normalizing the power spectrum $S(f)$, i.e. $S_n(f) = S(f) / \sum S(f)$ such that $\sum S_n(f) = 1$ and then calculating:

$$H_{SSE} = -\sum S_n(f) \log S_n(f) \quad (1)$$

where all the sums comprise the discrete bins of the frequency range for which the power spectrum exists (or is calculated). Note that, according to its definition $S(f)$ and hence $S_n(f)$ are always greater than or equal to zero, the latter case contributing to zero to the sum in (1).

Several authors have applied Shannon spectral entropy to the analysis of EEG/MEG signals in epilepsy [12], for Alzheimer's disease [7], [8] and others [10].

2.3. Permutation testing

The statistical analysis of EEG data, having the goal of determining whether there exists a difference between the data observed in various experimental conditions or certain populations, normally fits into what is known as the multiple comparisons problem (MCP) [13], since the effect of interest is often simultaneously evaluated at a large number of (sensor, time/frequency)-pairs. The consequence is that, due to the many statistical comparisons that are needed, it becomes impossible to control the family-wise error rate (FWER), i.e. the probability of falsely concluding that there is a difference between the experimental conditions at one or more pairs when there is none, based on procedures that operate at the level of single pairs. A satisfactory solution of the MCP requires controlling the FWER at some critical alpha-level (typically, 0.05 or 0.01). As we explain next, quite in contrast with the familiar parametric framework, permutation-based nonparametric statistical testing solves the MCP in a straightforward manner and at the same time is able control the FWER.

The simplest scenario consisting of a single sensor and a single time/frequency instance for multiple subjects of two populations is solved by first calculating a test statistic (for instance a t -value) for all pairs of the original experimental groups; second, combining the data of the two groups in a single set and performing a random partition; third, calculating the test statistic on the random partition; fourth, constructing a histogram of the test statistics by repeating the random partitioning multiple times; and finally by computing the proportion of random partitions with a larger test statistic than the observed one in the original grouping. This proportion is called the p -value associated to the permutation-based test and when it

is smaller than the critical alpha-level, then it is possible to conclude that the data in the two experimental conditions are significantly different [13].

Multi-sensor analyses occur when one does not know at which sensor the effect is observed beforehand, hence many (sensor, time/frequency)-pairs have to be evaluated. Applying Bonferroni correction to solve the MCP would normally yield an extremely low equivalent alpha-level, resulting in a too conservative statistical test. On the contrary, one may employ a cluster-based permutation test for multiple sensors based on grouping significant samples that are neighbours in the spatial and temporal/spectral domains and then comparing the cluster-level statistics of random permutations to the original data configuration in a similar fashion to the single sensor scenario (see [13] for further details).

2.4. Spectral entropy distribution

In this study we want to evaluate whether background EEG signal alone is sufficient to differentiate epileptic patients from control subjects. To this end, and due to the fact that we consider that the sensor and frequencies at which the effect might be observed are unknown, we need to define a new parameter based on the SSE for the statistical test to be able to deliver the significant (sensor, frequency)-pairs.

To this end, we define the “spectral entropy distribution” (SED) as the distribution of the spectral entropy over the range of frequencies of interest. Its calculation involves obtaining the SSE in M overlapping windows of size Δf , each of which occupies the spectral range $[f_m, f_m + \Delta f]$, with $m = 0, \dots, M-1$, such that the difference in between consecutive frequencies f_m and f_{m+1} is 1 bin (or the spectral resolution f_s/N_{FFT}). The process is schematically shown in Figure 1.

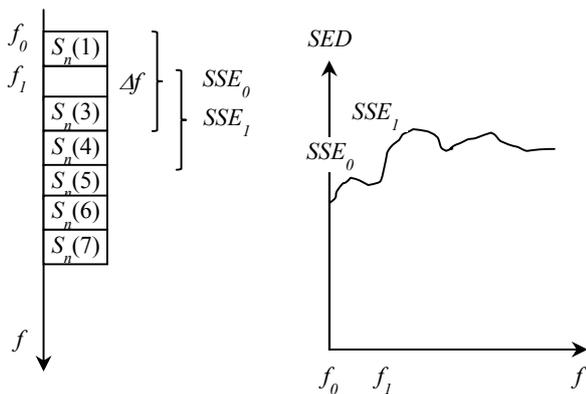


Figure 1. Calculation of the spectral entropy distribution from the spectral entropy of consecutive frequency bins.

Then, by comparing the spectral entropy distributions of epileptic patients vs controls, our goal is to find statistical differences at specific frequency bands for one or more electrodes simultaneously. Specifically, we conduct a multi-variable cluster-based permutation test that evaluates SED at all (sensor, frequency)-pairs of the signals of interest. We use $\Delta f = 5\text{Hz}$, $N_{\text{FFT}} = 512$.

3. Results

Figure 2 shows the clusters found prior to calculating the significance for the original group of epileptic patients vs the group of controls. The x -axis indicates the frequency bin and the y -axis the channel. There is only 1 main cluster, clearly visible in the figure, to which the clusters found when performing the permutations are compared. In this first scenario, only 77 out of 5000 partitions have a cluster-level statistic (summed t -values) greater than or equal to that of the main original cluster.

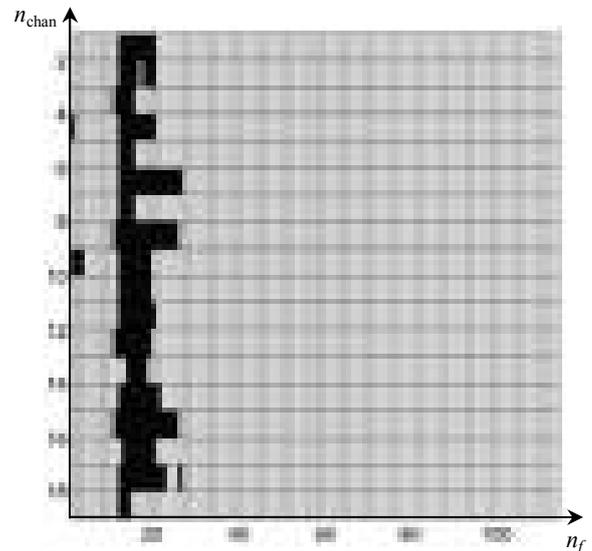


Figure 2. Clusters found by running the grouping phase of the permutation test for the spectral entropy

Figure 3 shows the results of running the cluster-based permutation test on the SED of epileptic patients vs controls for all (channel, frequency)-samples. Note that the SEDs are calculated for the filtered epoched versions of the recorded EEG signals of which epochs marked as artifacts have been removed (see Section 2). More precisely, we plot the mean and confidence interval of the SED for epileptic patients in red, the mean and confidence interval of the SED for control subjects in blue and we indicate the interval of statistical significance (if it exists) in black.

According to our experiments, all but Fz are significant at $\alpha = 0.015$, well below the typically required Monte Carlo alpha-level of 0.025 (for a two-tail test). Moreover, all the aforesaid channels have such significance at least in the range of frequencies $[5-11.6]\text{Hz}$, which roughly coincides with the extended alpha band analyzed in [14]. The frequency interval is dictated by the narrowest range combining the significant electrodes (P4 AND Pz) plus an additional 5Hz (since it is the Δf we use for the SED).

4. Conclusions

As a result of running the multi-sensor and multi-frequency cluster-based statistical permutation test on the spectral entropy distributions of epileptic patients vs controls, we have found there exists statistical difference between groups in 18 out of 19 electrodes at least in the extended alpha band.

Quite in contrast with other studies that evaluate entropies (and other nonlinear metrics in patients vs healthy subjects) [6]-[8], we obtain mean entropy values that are lower in control subjects than in epileptic patients, for this frequency band. This may be representative of the fact that epileptic (EEG) background activity is characterized by higher complexity in the extended alpha band than healthy brain rhythms, such as concluded in [14] for

resting state MEG. Interestingly, the authors found that healthy brains exhibit a sparser connectivity, whereas epileptic brains networks display a richer connectivity than random graphs, based on the definition of brain networks via linear coherence.

Importantly, our preliminary results could indicate that the same effect can be studied from resting state EEG.

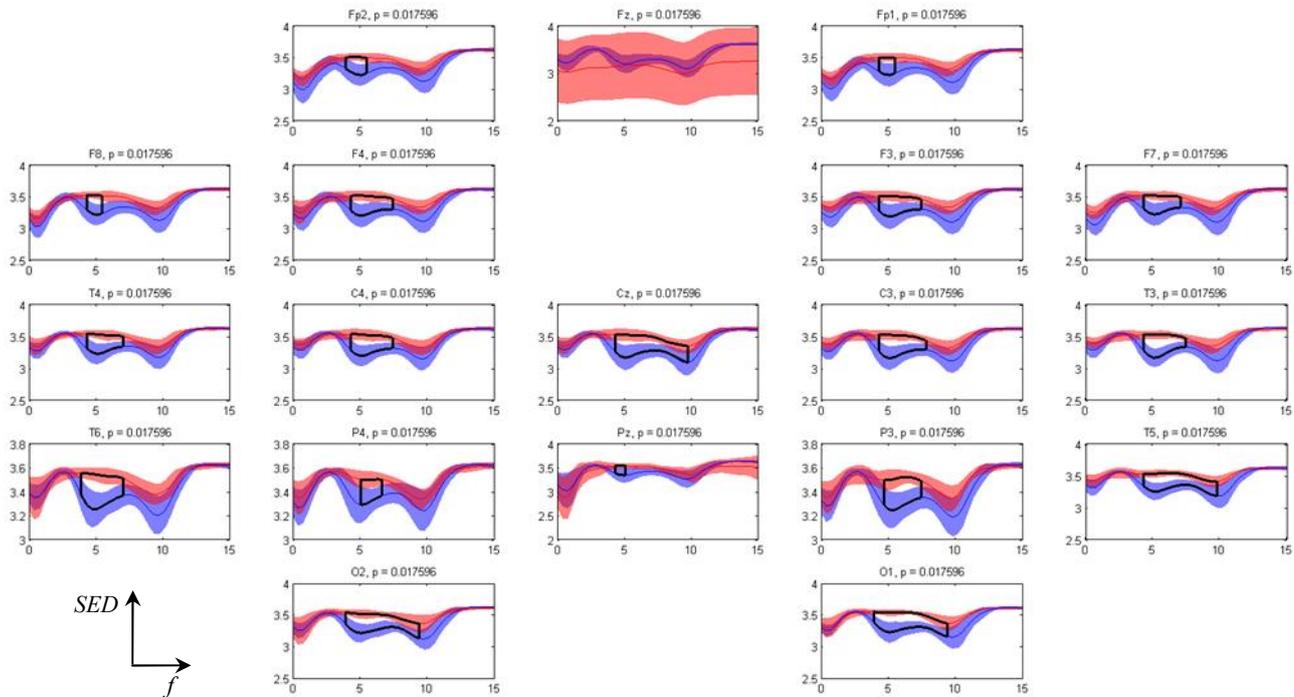


Figure 3. Results obtained from the permutation test for the spectral entropy. Mean and confidence intervals of the SED for epileptic patients and control subjects plotted in red and blue respectively and frequency range of significance (if it exists) indicated in black.

References

- [1] JA Urigüen and B García-Zapirain, “EEG artifact removal – State-of-the-art and guidelines,” *J Neural Eng*, vol. 12, no. 3, pp. 031001, Sep 2014.
- [2] HE Scharfman, “The Neurobiology of Epilepsy,” *Curr Neurol Neurosci Rep*, vol. 7, no. 4, pp. 348–54, Jul 2007.
- [3] J Engel and TA Pedley, *Epilepsy: A Comprehensive Textbook*, Lippincot-Raven Publishers, Philadelphia (PA), 2nd edition, 2007.
- [4] TN Alotaiby, SA. Alshebeili, T Alshawi et al, “EEG seizure detection and prediction algorithms: a survey,” *EURASIP J Adv Signal Process*, vol. 2014, no. 183, 2014.
- [5] G Giannakakis, V Sakkalis, M Padiaditis et al, “Methods for Seizure Detection and Prediction: An Overview,” in *Modern Electroencephalographic Assessment Techniques*, vol. 91 of *Neuromethods*, pp. 131–157, 2015.
- [6] R Hornero, DE Abasolo, and P Espino, “Use Of wavelet entropy to compare the EEG background activity of epileptic patients and control subjects,” in *Proceedings of the 7th ISSPA*, vol. 2, pp. 5–8, 2003.
- [7] D Abásolo, R Hornero, P Espino et al, “Entropy analysis of the EEG background activity in Alzheimer’s disease patients,” *Physiol Meas*, vol. 27, no. 3, pp 241-253, Mar 2006.
- [8] R Hornero, J Escudero, A Fernández et al, “Spectral and nonlinear analyses of MEG background activity in patients with Alzheimer’s disease,” *IEEE Trans Biomed Eng*, vol. 55 no.6, pp. 1658-65, Jun 2008.
- [9] A Delorme, T Sejnowski, and S Makeig, “Enhanced detection of artifacts in EEG data using higher-order statistics and independent component analysis,” *NeuroImage*, vol. 34, pp. 1443–1449, 2006.
- [10] Z Liang, Y Wang, X Sun et al, “EEG entropy measures in anesthesia,” *Front Comput Neurosci*, vol. 9, no. 16, 2015.
- [11] GE Powell, and IC Percival, “A spectral entropy method for distinguishing regular and irregular motion of Hamiltonian systems,” *J Phys A Math Gen*, vol. 12, pp. 2053-2071, 1979.
- [12] N Kannathala, ML Choob, UR Acharyab et al, “Entropies for detection of epilepsy in EEG,” *Comput Methods Programs Biomed*, vol. 80, no. 3, pp. 187–194, Dec 2005.
- [13] E Maris, R Oostenveld, “Nonparametric statistical testing of EEG- and MEG-data,” *J Neurosci Meth*, vol. 164, pp. 177–190, 2007.
- [14] M Chavez, M Valencia, V Navarro et al, “Functional modularity of background activities in normal and epileptic brain networks,” *Phys Rev Lett*, vol. 104 no. 11, pp. 118701, Mar 2010.

Análisis de sonidos adventicios continuos en pacientes asmáticos mediante el espectro de Hilbert

M. Lozano¹, J.A. Fiz^{1,2,3}, R. Jané^{1,3,4}

¹ Instituto de Bioingeniería de Cataluña (IBEC), Barcelona, España

² Servicio de Neumología, Hospital Universitario Germans Trias i Pujol, Badalona, España

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

⁴ Universitat Politècnica de Catalunya-Barcelona Tech (UPC), Barcelona, España

Resumen

Los sonidos adventicios continuos (CAS) son uno de los principales síntomas del asma. Dada su importancia clínica, el análisis de estas señales requiere del uso de técnicas que permitan segmentarlas y caracterizarlas con una precisión alta. Sin embargo, la mayoría de técnicas propuestas anteriormente estaban basadas en el análisis de Fourier o wavelet, técnicas que tienen una resolución limitada a priori y son altamente dependientes de la amplitud de los CAS.

En este estudio se presenta una técnica alternativa para el análisis de CAS basada en el espectro de Hilbert. El método presentado combina la descomposición empírica en modos por conjuntos con el estimador de Kay de la frecuencia instantánea, para obtener una representación tiempo-frecuencia con una alta concentración de energía y una resolución temporal y frecuencial elevada. Con el fin de mostrar las ventajas que ofrece el método presentado, se ha aplicado a cuatro señales de sonidos respiratorios registradas en pacientes asmáticos que contienen distintos tipos de CAS, reforzando la hipótesis confirmada en nuestro estudio previo de que el espectro de Hilbert permite segmentar y caracterizar los CAS con mayor precisión que otras técnicas tradicionales ampliamente utilizadas, como el espectrograma.

1. Introducción

Los sonidos adventicios continuos (*continuous adventitious sounds*, CAS) son un tipo de sonidos respiratorios que se caracterizan por tener una forma de onda de tipo sinusoidal, de duración igual o superior a 100 ms y con una frecuencia fundamental superior a los 100 Hz [1]. Los CAS son un indicador inequívoco de la presencia de obstrucción bronquial, siendo así uno de los principales síntomas del asma [2].

Las técnicas más directas y empleadas en el análisis de CAS son las representaciones tiempo-frecuencia (RTF), ya que permiten analizar de forma simultánea las dos características intrínsecas de los CAS: la duración y la frecuencia fundamental. El espectrograma ha sido la RTF más utilizada en el análisis de CAS [3-6]. No obstante, otras RTF como el escalograma [7] y algunas más avanzadas derivadas a partir de la descomposición wavelet [8] o la transformada corta de Fourier [9], han sido también empleadas para analizar CAS. Sin embargo, todas las técnicas basadas en el análisis de Fourier o wavelet tienen una resolución limitada debido al principio de

incertidumbre, lo cual limita la resolución de las RTF obtenidas y la precisión en la detección de CAS.

La transformada de Hilbert-Huang (*Hilbert-Huang transform*, HHT) [10] se propuso como una nueva técnica adaptativa idónea para el análisis de señales no lineales y no estacionarias, como es el caso de los sonidos respiratorios. La HHT consiste en la combinación de la descomposición empírica en modos (*empirical mode decomposition*, EMD) y el análisis espectral de Hilbert, para obtener una RTF alternativa, llamada el espectro de Hilbert, en función de la frecuencia (FI) y la amplitud (AI) instantáneas de una señal.

El objetivo de este estudio es mostrar las ventajas que ofrece el espectro de Hilbert como técnica alternativa para el análisis de CAS. Para ello utilizaremos un nuevo método de segmentación y caracterización automática de CAS, basado en el espectro de Hilbert, que hemos propuesto recientemente [11,12]. Este método se aplicará a varias señales de sonidos respiratorios que contienen distintos tipos de CAS, registradas en pacientes asmáticos.

2. Métodos

2.1. Adquisición y segmentación de las señales de sonidos respiratorios

Las señales de sonidos respiratorios se registraron en pacientes asmáticos en el laboratorio de pruebas funcionales del hospital universitario Germans Trias i Pujol. Se colocaron 4 micrófonos piezoeléctricos de contacto (TSD108, Biopac, Inc.) sobre la superficie del tórax posterior de los pacientes: dos por debajo de la punta de las escápulas y dos cerca de los lóbulos superiores de ambos pulmones. La señal de flujo respiratorio se registró simultáneamente con los sonidos respiratorios mediante un neumotacógrafo (TSD107B, Biopac, Inc.). Los pacientes realizaron una maniobra respiratoria en la que, partiendo de una respiración normal, iban incrementando el flujo de aire de forma progresiva, hasta llegar a realizar las inspiraciones más fuertes y profundas que fuesen capaces. Todas las señales se registraron a 12500 muestras/s. Tras la adquisición, las señales de sonidos respiratorios se filtraron mediante un filtro pasa-banda entre 70 y 2000 Hz y se diezmaron por un factor 4 para alcanzar una frecuencia de muestreo equivalente de 3125 Hz. Esas señales fueron

finalmente segmentadas según las fases respiratorias detectadas a partir de la señal de flujo respiratorio, empleando un método basado en la detección de pasos por cero.

2.2. La descomposición empírica en modos por conjuntos

La primera etapa en el cálculo del espectro de Hilbert es la EMD. Mediante la EMD se consigue descomponer una señal de sonidos respiratorios en un conjunto de funciones de modo intrínsecas (*intrinsic mode functions*, IMF), de banda estrecha, para las cuáles es posible calcular la frecuencia instantánea utilizando la transformada de Hilbert.

La principal ventaja de la EMD, es que se trata de una técnica adaptativa y directa, que no requiere de ningún conocimiento a priori de las características de la señal que se va a descomponer. No obstante, la EMD sufre un efecto llamado mezcla de modos, por el cual diferentes IMF pueden contener componentes frecuenciales muy similares, resultando en una incorrecta descomposición de la señal original.

Con el fin de evitar la mezcla de modos de la EMD, propusimos [11,12] utilizar la EMD por conjuntos (*ensemble EMD*, EEMD) para el análisis de sonidos respiratorios. La EEMD consiste en la aplicación iterativa de la EMD sobre la señal original, a la que se añade una realización de ruido blanco distinta en cada iteración. Los IMF finales se obtienen promediando los IMF obtenidos en cada iteración. El nivel de ruido residual presente en los IMF finales depende del número de iteraciones y de la amplitud del ruido blanco añadido. Tras un análisis detallado de la EEMD empleando diferentes valores para ambos parámetros [12], se consideró la utilización de 100 iteraciones y una relación señal-ruido de 0 dB para el ruido blanco añadido.

Tras la aplicación de la EEMD, una señal de sonidos respiratorios, $s(t)$, puede expresarse como:

$$s(t) = \sum_{i=1}^n IMF_i(t) + r_n(t)$$

donde n es el número de IMF obtenidos en la descomposición y $r_n(t)$ es el residuo de $s(t)$.

2.3. La frecuencia instantánea

La segunda etapa en la obtención del espectro de Hilbert es el cálculo de la FI y la AI a partir de los IMF obtenidos en la etapa anterior. Existen diferentes métodos para calcular la FI a partir de una señal real. Sin embargo, el método más sencillo, rápido y directo es el de la derivada de la fase de la señal analítica, $z(t)$, asociada a un IMF, cuya expresión es:

$$z(t) = IMF(t) + jH[IMF(t)] = a(t)\exp[j\Phi(t)]$$

donde $H[\cdot]$ es la transformada de Hilbert, $a(t)$ es la AI y $\Phi(t)$ es la fase de $z(t)$. Una vez obtenidas las fases de las señales analíticas de los IMF, se puede calcular las correspondientes FI mediante la siguiente expresión:

$$FI(t) = \frac{f_m}{2\pi} \frac{d\Phi(t)}{dt}$$

donde f_m es la frecuencia de muestreo.

Llegados a este punto, el último paso es el cálculo de la derivada de $\Phi(t)$ en tiempo discreto. El método más sencillo de realizar esta operación es mediante filtros de respuesta impulsional finita. Sin embargo, como vimos en nuestro estudio anterior [12], estos estimadores de la FI tienen una varianza muy elevada, lo que provoca que la energía de la señal se disperse más en el plano tiempo-frecuencia, resultando en una RTF poco precisa, con una baja concentración de la energía alrededor de la FI.

Con el fin de obtener una estimación de la FI con una varianza baja, propusimos utilizar el estimador de Kay basado en las diferencias de fase ponderadas (*weighted phase difference*), cuya expresión es:

$$f_i \left(n + \left\lfloor \frac{N}{2} \right\rfloor \right) = \frac{f_m}{2\pi} \sum_{k=0}^{N-2} w(k) [\Phi_i(n+k+2) - \Phi_i(n+k+1)]$$

$$w(k) = \frac{\frac{3}{2}N}{N^2 - 1} \left(1 - \left(\frac{k - \left(\frac{N}{2} - 1 \right)}{N/2} \right)^2 \right)$$

donde $w(k)$ es la ventana de promediado de longitud N . Cuanto mayor es N menor es la varianza del estimador. Tras probar diferentes valores de N propusimos utilizar una ventana de 32 muestras.

2.4. El espectro de Hilbert

Tras calcular la FI y la AI de cada IMF, el último paso para obtener el espectro de Hilbert es construir una matriz mediante la acumulación de los valores de la AI en las posiciones determinadas por la FI en cada instante de tiempo. La RTF obtenida es el llamado espectro de Hilbert. La principal ventaja de esta RTF es que la resolución temporal puede ser tan elevada como la determinada por la frecuencia de muestreo. Además, las FI pueden tener cualquier valor real por debajo de la frecuencia de Nyquist. Por lo tanto, el espectro de Hilbert proporciona una elevada resolución temporal y frecuencial al mismo tiempo. Ambas resoluciones dependen del tamaño de celda elegido al construir la matriz. Para obtener una máxima resolución en ambos dominios, decidimos elegir un tamaño de celda de $1/f_m$ segundos en el dominio temporal y de 0,5 Hz en el frecuencial. Además, por motivos de visualización, se aplicó un filtro gaussiano de suavizado de 20×20 muestras con una desviación estándar de 5 muestras.

2.5. Segmentación de CAS

Una vez calculado el espectro de Hilbert, aplicamos el algoritmo de segmentación automática de CAS que propusimos en un estudio previo [12]. Este algoritmo procesa la matriz del espectro de Hilbert utilizando el método de crecimiento de regiones para segmentar las distintas componentes de CAS que pueda haber dentro de una señal de sonidos respiratorios. Este algoritmo se ha

aplicado también al espectrograma de las mismas señales para las cuáles se ha obtenido el espectro de Hilbert, con el fin de comparar las prestaciones de ambas RTF en el análisis de CAS.

3. Resultados

En este apartado se muestran 4 ejemplos de señales de sonidos respiratorios que contienen distintos tipos de CAS. Para cada señal se ha calculado el espectro de Hilbert y el espectrograma, los cuáles se muestran junto con la segmentación automática de CAS obtenida con cada una de estas RTF.

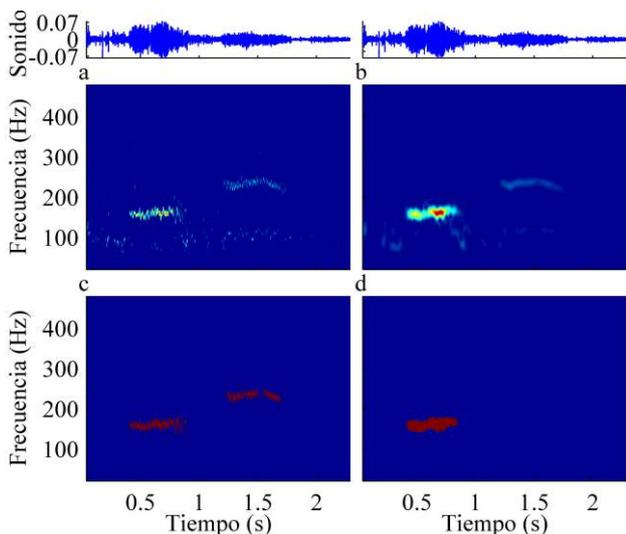


Figura 1. Señal de sonidos respiratorios que contiene 2 CAS monofónicos de frecuencia poco variable. (a) Espectro de Hilbert; (b) Espectrograma; (c) Segmentación de CAS a partir del espectro de Hilbert; (d) Segmentación de CAS a partir del espectrograma.

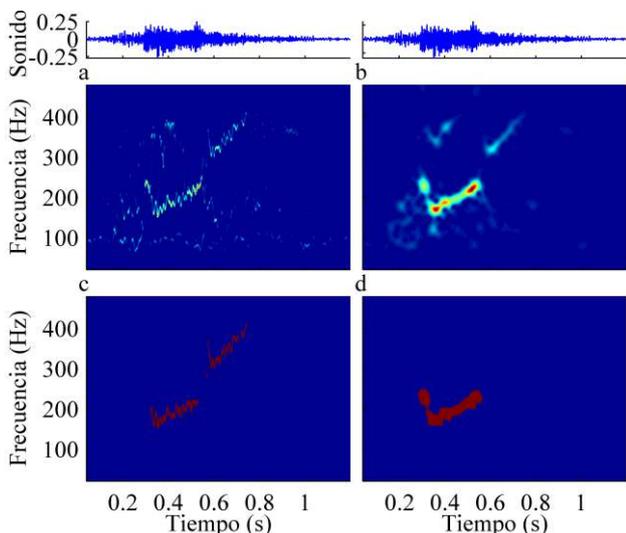


Figura 2. Señal de sonidos respiratorios que contiene 2 CAS monofónicos con barrido frecuencial. (a) Espectro de Hilbert; (b) Espectrograma; (c) Segmentación de CAS a partir del espectro de Hilbert; (d) Segmentación de CAS a partir del espectrograma.

Las señales que se muestran en las Figuras 1 y 2 contienen cada una de ellas dos CAS monofónicos (de una sola componente frecuencial) diferentes. Los CAS de la Figura

1 tienen una frecuencia fundamental prácticamente constante, mientras que los CAS de la Figura 2 tienen un barrido frecuencial.

Como se puede observar, en ambos casos la segmentación automática hecha a partir del espectro de Hilbert consigue extraer los dos CAS de cada señal. En cambio, la segmentación hecha a partir del espectrograma tan solo logra extraer uno de los CAS en cada caso. El espectrograma tiene ciertas limitaciones para detectar CAS débiles, de amplitud baja, sobre todo cuando aparecen junto con otros CAS de mayor amplitud.

Las Figuras 3 y 4 muestran dos señales de sonidos respiratorios que contienen CAS polifónicos (con varias componentes frecuenciales que se solapan en el tiempo).

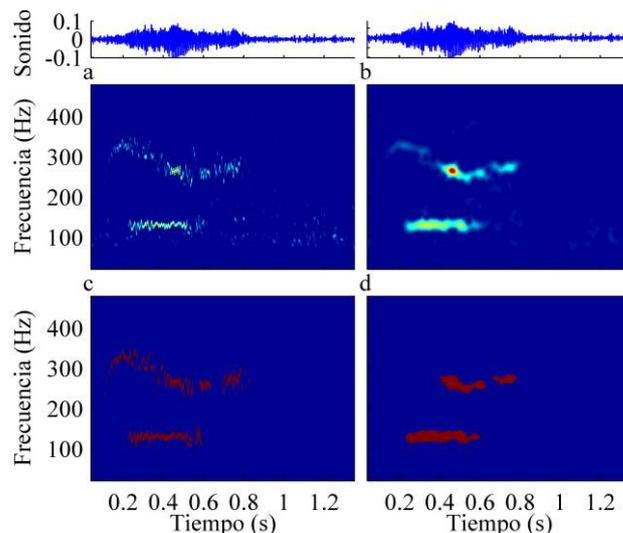


Figura 3. Señal de sonidos respiratorios que contiene CAS polifónicos. (a) Espectro de Hilbert; (b) Espectrograma; (c) Segmentación de CAS a partir del espectro de Hilbert; (d) Segmentación de CAS a partir del espectrograma.

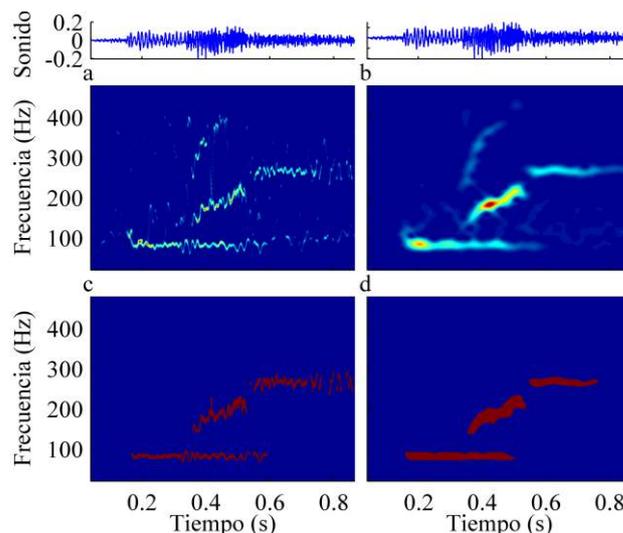


Figura 4. Señal de sonidos respiratorios que contiene CAS polifónicos de frecuencia constante y variable. (a) Espectro de Hilbert; (b) Espectrograma; (c) Segmentación de CAS a partir del espectro de Hilbert; (d) Segmentación de CAS a partir del espectrograma.

De nuevo se puede observar como la segmentación hecha a partir del espectrograma no logra extraer por completo todas las componentes de los CAS, de modo que las componentes de menor amplitud quedan recortadas. En cambio la segmentación hecha a partir del espectro de Hilbert logra extraer todas las componentes de los CAS.

4. Discusión y conclusiones

En este estudio se presenta el espectro de Hilbert como una RTF alternativa para el análisis de sonidos respiratorios, en especial de los sonidos adventicios continuos.

Con el fin de mejorar las prestaciones del espectro de Hilbert calculado a partir de la EMD original, se propone utilizar en su lugar la EEMD y combinarla con el estimador de Kay de la FI para obtener un espectro de Hilbert con una concentración de energía elevada, así como una alta resolución temporal y frecuencial.

Gracias a estas características del espectro de Hilbert, esta RTF ofrece ciertas ventajas para la segmentación y caracterización de CAS respecto al espectrograma, que ha sido la RTF más comúnmente utilizada para este fin. Como ya vimos en un estudio previo [12], el espectrograma tiene una resolución baja y una mayor dispersión de la energía en comparación con el espectro de Hilbert, lo cual hace que sea más difícil detectar algunos CAS, especialmente aquellos con una amplitud muy baja en comparación con el resto de componentes que los rodean. Por el contrario, la segmentación de CAS a partir del espectro de Hilbert depende menos de la amplitud de los CAS y proporciona un cálculo más preciso de su duración y frecuencia media.

Con el objetivo de enfatizar las ventajas del espectro de Hilbert se han mostrado cuatro ejemplos de señales que contienen distintos tipos de CAS y las respectivas segmentaciones a partir del espectro de Hilbert y el espectrograma. Estos ejemplos demuestran la utilidad del espectro de Hilbert en diferentes escenarios de interés clínico y refuerzan los resultados hallados previamente [12].

Debido a la extensión limitada de este trabajo, solamente se han mostrado algunos ejemplos de señales registradas en pacientes asmáticos. En un trabajo futuro, se aplicará la técnica propuesta a una base de datos completa con varias señales registradas en distintos pacientes. Esta técnica podría formar parte de un sistema de análisis de sonidos respiratorios, que pueda ayudar a cuantificar y mejorar la evaluación de la función pulmonar en pacientes asmáticos.

Agradecimientos

Este trabajo se ha podido llevar a cabo gracias al convenio de colaboración para la creación de una Unidad Mixta entre el IBEC y la Fundació Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol, y la participación del servicio de neumología del hospital Germans Trias i Pujol. Se ha contado con el soporte de la Secretaria de Universidades e Investigación del Departamento de Economía y Conocimiento de la Generalitat de Catalunya (Grupo de investigación consolidado GRC 2014 SGR 1569).

Referencias

- [1] Bohadana A, Izbicki G, Kraman SS. Fundamentals of lung auscultation. *New England Journal of Medicine*, vol 370, 2014, pp 744-751.
- [2] From the Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Global Initiative for Asthma (GINA) 2015. Available: http://www.ginasthma.org/local/uploads/files/GINA_Report_2015.pdf.
- [3] Homs-Corbera A, Fiz JA, Morera J, Jané R. Time-frequency detection and analysis of wheezes during forced exhalation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 51, 2004, pp 182-186.
- [4] Lin BS, Lin BS, Wu HD, Chong FC, Chen SJ. Wheeze recognition based on 2D bilateral filtering of spectrogram. *Biomedical Engineering: Applications, Basis and Communications*, vol 18, 2006, pp 128-137.
- [5] Taplidou SA, Hadjileontiadis LJ. Wheeze detection based on time-frequency analysis of breath sounds. *Computers in Biology and Medicine*, vol 37, 2007, pp 1073-1083.
- [6] Oliveira A, Pinho C, Dinis J, Oliveira D, Marques A. Automatic wheeze detection and lung function evaluation: a preliminary study. *Proceedings of the International Conference on Health Informatics*, Barcelona, 2013, pp 323-326.
- [7] Taplidou SA, Hadjileontiadis LJ, Kitsas IK, Panoulas KI, Penzel T, Gross V, et al. On applying continuous wavelet transform in wheeze analysis. *Conference Proceedings of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, San Francisco, 2004, pp 3832-3835.
- [8] Taplidou SA, Hadjileontiadis LJ. Analysis of wheezes using wavelet higher order spectral features. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 57, 2010, pp 1596-1610.
- [9] Jin F, Krishnan SS, Sattar F. Adventitious sounds identification and extraction using temporal-spectral dominance-based features. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 58, 2011, pp 3078-3087.
- [10] Huang NE, Shen Z, Long SR, Wu MC, Shih HH, Zheng Q, Yen NC, Tung CC, Liu HH. The empirical mode decomposition and the Hilbert spectrum for nonlinear and non-stationary time series analysis. *Proceedings of the Royal Society A*, vol 454, 1998, pp 903-995.
- [11] Lozano M, Fiz JA, Jané R. Automatic differentiation of normal and continuous adventitious respiratory sounds using ensemble empirical mode decomposition and instantaneous frequency. *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics*, 2015 (DOI: 10.1109/JBHI.2015.2396636).
- [12] Lozano M, Fiz JA, Jané R. Performance evaluation of the Hilbert-Huang transform for respiratory sound analysis and its application to continuous adventitious sound characterization. *Signal Processing*, 2015 (DOI: 10.1016/j.sigpro.2015.09.005).

Evaluation of sternocleidomastoid muscle activity by electromyography recorded with concentric ring electrodes

L. Estrada^{1,2,3}, A. Torres^{1,2,3}, J. Garcia-Casado⁴, L. Sarlabous^{1,3}, G. Prats-Boluda⁴, R. Jané^{1,2,3}

¹ Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Barcelona, Spain,

{lestrada, atorres, lsarlabous, rjane}@ibecbarcelona.eu

² Universitat Politècnica de Catalunya (UPC) – Barcelona Tech, Barcelona, Spain

³ Biomedical Research Networking Center in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Spain

⁴ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería, (CI2B-UPV), Valencia, Spain,

{jgarcia, geprabo}@eln.upv.es

Abstract

The use of non-invasive methods for the study of respiratory muscle signals can provide clinical information for the evaluation of the respiratory muscle function. The aim of this study was to evaluate the electrical activity of the sternocleidomastoid muscle recorded superficially by means of a concentric ring electrode (CRE) in bipolar configuration. This sensor enhances the spatial resolution of the signal recorded, attenuates interferences, as the cardiac activity, and also simplifies the orientation problem associated to the electrode location on the muscle under study. Five healthy subjects underwent a respiratory load test in which an inspiratory load was imposed during the inspiratory phase.

During the test, the electromyographic signal of the sternocleidomastoid muscle (EMGsc) and the inspiratory mouth pressure (Pmouth) were acquired. The EMGsc signal was processed using the fixed sample entropy (fSampEn), a technique for the amplitude estimation of signals that is robust in presence of impulsive noise as cardiac activity. The agreement between the Pmouth and the fSampEn over the EMGsc signal showed a moderate Pearson's correlation value at the lowest inspiratory load (0.46 ± 0.11) and a very strong value at the highest inspiratory load (0.84 ± 0.08). In conclusion, the surface recordings of the EMGsc signal using a CRE and the estimation of its amplitude using the fSampEn technique can be used for the study of muscle respiratory activity.

1. Introduction

The breathing process involves the activation of the diaphragm; the most prominent muscle of inspiration that essentially never stops working. When there is an increased work of breathing, accessory muscles of respiration are recruited. The sternocleidomastoid (SMC) is an accessory muscle, located at the neck region which originates at the medial sternal head and the lateral clavicular head and is inserted on the mastoid process. It also flexes the neck and contributes to its rotation. Its study reveals important impairments in the respiratory function. The electromyographic signal of the SMC muscle (EMGsc) has become evident in patients suffering from chronic pulmonary obstructive disease (COPD) [1] who present acute respiratory failure and undergo a weaning trial [2].

In a respiratory muscle training study, COPD patients have shown an increased participation of the sternocleidomastoid muscle in comparison to the diaphragm to overcome an inspiratory threshold load, whilst the activity of both muscles increased in elderly [3]. Despite being a muscle of easy access to study, some issues are necessary to take into consideration when the EMGsc activity is evaluated. EMGsc activity can be distorted by movement artifacts during the breathing due to neck movement. Also, it can be contaminated by the underlying musculature, especially that of the scalene muscle during resting breathing [4]. Furthermore, the electrocardiographic signal (ECG) contaminates the recordings of the EMGsc signal. In addition, the spectrum of the ECG signal overlaps the spectrum of the EMGsc signal, which makes the interpretation of the breathing activity difficult. The EMGsc signal is usually acquired using conventional disc electrodes in monopolar or bipolar configuration; however, they have a poor spatial resolution.

In this work we propose the use of concentric ring electrodes (CRE) to acquire the EMGsc signal. CRE estimates the Laplacian potential of the body surface [5]. It has proven to enhance the spatial resolution of biosignal recordings compared to the conventional use of disc electrodes in bipolar configuration, reducing interferences as the cardiac activity [6] and the orientation problems in the electrode location [7]. CRE electrodes have been used for picking-up surface electromyographic signals from biceps [7], diaphragm [8], and masseter muscles [9]. In clinical practice, the amplitude of electromyographic muscle signals is routinely evaluated with the average rectified value or the root mean square [10], [11]. In this study we propose the use of the fixed sample entropy (fSampEn) [12] to evaluate the amplitude of the EMGsc signal. Recently, fSampEn has demonstrated to be less sensitive to the influence of impulsive noise, such as the ECG signal in diaphragm electromyographic signals compared to the average rectified value and root mean square [12]. In this context, the aims of the present work were (1) to investigate the use of a CRE for the non-invasive recording of EMGsc signals in healthy subjects

performing an inspiratory load test, and (2) to estimate the EMGsc amplitude using the fSampEn technique.

2. Materials and Methods

2.1. Respiratory load test

The study was performed in five healthy nonsmoking subjects (mean \pm standard deviation: age 35.20 ± 4.55 years, height 1.76 ± 0.08 m, weight 79.40 ± 8.59 kg) with no relevant medical conditions. Subjects underwent a respiratory test which consisted of 4 sets of loaded inspirations each with 1 min of duration, with 2 min of rest in between. Initially, they inhaled with no inspiratory load and at quiet breathing.

Subsequently, they inhaled by imposing an inspiratory load adjusted to a level of 19, 29, and 41 cm H₂O using a hand-held inspiratory muscle training device (Threshold IMT, Philips Respirionics, Amsterdam, The Netherlands). Subjects were seated in a chair and wore a noseclip to prevent leakage through the nostrils. Furthermore, subjects were encouraged to follow a feedback that was displayed on a computer screen to maintain the breathing pattern. The respiratory rate was set to 15 breaths per minute and the ratio of the duration of inspiration to the total respiratory cycle time to 0.42.

2.2. Recording of signals

The EMGsc signal was recorded from the left side of the neck using a disposable bipolar CRE (Code®, Spes Medica, Genova, Italy). As illustrated in Figure 1, this electrode is made up of an inner central disc and an external ring. A common ground electrode was placed on

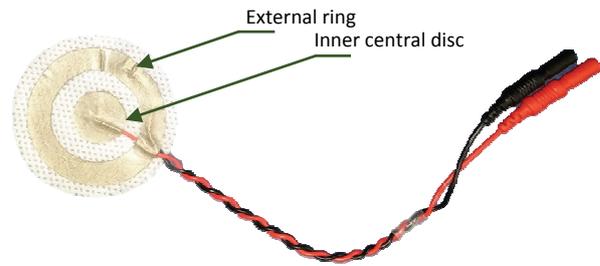


Figure 1. Concentric ring electrode (CoDe®) used for the recording of the electromyographic signal of the sternocleidomastoid muscle

the right ankle (pre-gelled, disposable, 10-mm diameter contact area, foam electrode 50/PK – EL501, Biopac Systems Inc., Santa Barbara, CA, USA). The subjects' skin was slightly abraded with gel (Nuprep, Weaver and Company, Aurora, CO, USA) and cleaned using alcohol. CRE was placed over the lower half of the EMGsc based on the palpation of the muscle [10].

CRE was connected to a modular amplifier (EMG 100C, Biopac Systems Inc.), with an analog band-pass filter with cut-off frequencies of 1 and 500 Hz and a gain of 5000. Inspiratory mouth pressure (Pmouth) was measured with a differential pressure transducer (TSD160, Biopac Systems Inc.), connected to a modular differential amplifier (DAC100C, Biopac Systems Inc.) with an analog low-pass filter with a cut-off frequency of 300 Hz and a gain of 50. Signals were sampled at 2000Hz, using a 16-bits analogue-to-digital converter data acquisition system (MP150, Biopac Systems Inc.), fed into a computer,

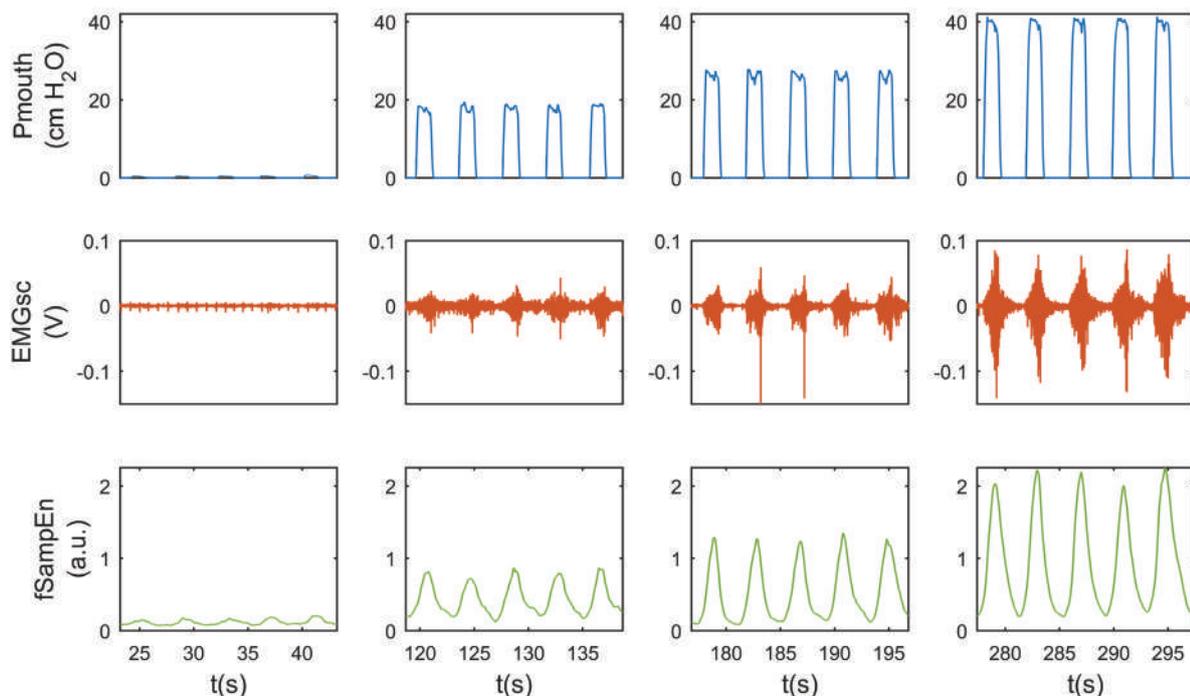


Figure 2. Respiratory cycles of Pmouth and EMGsc signal from one representative subject in a respiratory load test and the evaluation of fSampEn over the EMGsc signal. From left to right: Increments in the inspiratory load corresponding to quiet breathing, 19, 29 and 41 cm H₂O

Subjects	Quiet breathing	19 (cmH ₂ O)	29 (cmH ₂ O)	41 (cmH ₂ O)
1	0.52	0.88	0.92	0.94
2	0.52	0.60	0.72	0.79
3	0.55	0.87	0.91	0.91
4	0.28	0.67	0.71	0.82
5	0.41	0.66	0.70	0.74
Mean	0.46	0.74	0.79	0.84
SD	0.11	0.13	0.11	0.08

Table 1. Pearson's correlation coefficient between the Pmouth signal and the fSampEn during the respiratory load test. SD: standard deviation

monitored and stored (AcqKnowledge software v.3.2, Biopac Systems Inc.). Acquired signals were decimated at a sampling rate of 1000Hz and the subsequent analysis was performed using MATLAB (v. R2011b, Natick, MA, USA).

2.3. EMGsc signal processing

The EMGsc signal was digitally band-pass filtered using a zero-phase second-order Butterworth filter with a cut frequency of 5 and 400 Hz. The amplitude of the EMGsc signal was estimated by the fSampEn [12]. For calculating the fSampEn, two parameters are defined: the embedding dimension m (length of compared runs) and the tolerance value r (similarity criterion). For this study, $m = 1$ and $r = 0.3$ times of the standard deviation of the whole signal under study as proposed in [12] and [13]. Furthermore, a 1-sec moving window of analysis with steps of 0.1-sec was applied to the EMGsc signals [12].

2.4. Data analysis

In order to quantify the agreement between the Pmouth signal and the use of the fSampEn over the EMGsc signal the Pearson's correlation coefficient was calculated at different levels of the inspiratory load.

The peak values detected in each respiration of the fSampEn at different levels of inspiratory load were averaged; and subsequently normalized to the mean value corresponding to the quiet breathing. This represents an indirect measure of the neural respiratory drive. Similarly, to evaluate the inspiratory muscle effort, the peak values found in each respiration of the Pmouth were averaged at different levels of inspiratory load.

3. Results

Figure 2 shows an example of the Pmouth signal recorded simultaneously with the EMGsc signal picked up by a CRE, and the fSampEn calculated over the EMGsc signal from a representative subject who performed a respiratory load test. It is noted that as the inspiratory load increased from quiet breathing to 41cmH₂O, the amplitude of the EMGsc also increases as well as that of the fSampEn. Pearson's correlation coefficient between the Pmouth signal and the fSampEn over the EMGsc signal at different levels of inspiratory load are reported in Table I.

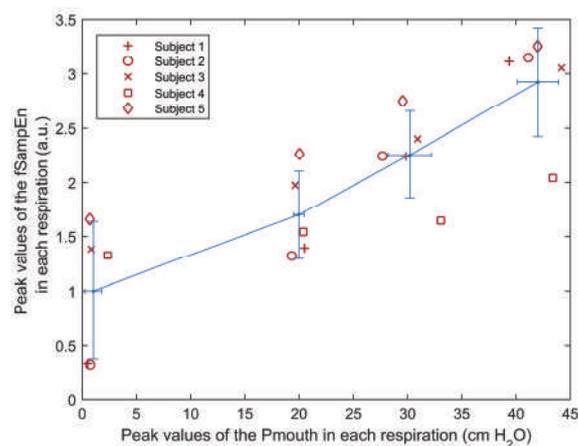


Figure 3. Neural respiratory drive evaluated in EMGsc signals during an inspiratory load test. The mean peaks of the fSampEn were normalized to the average value of the lowest load. Symbols represent data from different subjects evaluated. Horizontal and vertical error bars indicate the standard deviation of the mean peak values from the Pmouth and the fSampEn, respectively

Overall, the Pearson's correlation increases as the inspiratory load increases resulting in a moderate correlation at quiet breathing (0.46 ± 0.11); whilst a very strong correlation was found at the highest inspiratory load (0.84 ± 0.08).

Figure 3 shows the evaluation of neural respiratory drive estimated by fSampEn and calculated over the EMGsc signal. It revealed a positive tendency of the normalized fSampEn peaks to increase in each subject as the inspiratory load increases, with a Pearson's correlation of 0.83. On the other hand, error bars reflected a reduction in the scatter of the peak fSampEn and an increase in the scatter of the peak Pmouth as the inspiratory load increases.

4. Discussion and conclusions

The use of non-invasive technologies for measuring the respiratory function along with novel signal processing techniques is advantageous to obtain information of clinical utility of the respiratory muscles. In this respect, we considered the use of a CRE for recordings the electrical activity of the EMGsc.

The use of CREs has been proposed to increase the spatial selectivity of bioelectrical signals, attenuating the main interferences that affect them as the ECG signal [6], [8]. Also, it simplifies the problem associated to the orientation of the electrode which is an essential issue to consider when a bipolar electrode configuration is used [7]. On the other hand, it is important to mention that the CRE we have employed can cover a larger area over the skin of the EMGsc than necessary. This can increase the inherent crosstalk effect from nearby muscles. Nonetheless, if any accessory muscle is recruited during the respiratory load test, its contribution should reflect the progressive increase of the inspiratory effort.

Concerning the use of fSampEn, it has shown to be valuable for the amplitude estimation of the EMGsc activity, especially when impulsive noise was present.

The strength of correlation between the Pmouth and the fSampEn calculated over the EMGsc signal improved as the inspiratory load increased. Factors that may have contributed to a poor correlation at the lowest inspiratory load (quiet breathing) were a high prevalence of ECG activity along with a low EMGsc activity recorded.

The highest correlation was found at 41 cmH₂O in which the cardiac activity was less predominant since the collected EMGsc activity was stronger. Similarly, fSampEn has been applied for the study of diaphragm electromyographic signals recorded superficially at the right side under the same respiratory test but using a pair of disc electrodes in bipolar configuration [12]. Despite having used a different location and a different electrode configuration, our results are consistent with those obtained in [12]. In that study, the correlation increased (0.38 to 0.83) as the inspiratory load increased (from quiet breathing to 33 cmH₂O). On the other hand, the use of fSampEn has shown to be an indirect estimator of the neural respiratory drive from EMGsc signals. As it can be observed, an increase in the peak Pmouth resulted in an increase in the peak fSampEn showing that EMGsc amplitude provides information related to the neural respiratory drive.

Finally, in this work we highlight that using CRE for the non-invasive recording of electromyographic activity from accessory respiratory muscles could be beneficial in the medical practice as an alternative technique to using conventional electrode configurations. Furthermore, valuable information can be extracted from respiratory muscle activity using fSampEn.

To overcome the limitations of this study and give more strength to work and results, future work is aimed to increase the number of subjects evaluated, to analyze the influence of ring dimension, to compare the results with conventional electrodes, and to carry out tests in clinical sets with pathological subjects.

Acknowledgment

The first author was supported by the Instituto para la Formación y Aprovechamiento de Recursos Humanos and the Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (IFARHU-SENACYT Program) from the Panama Government under grant 270-2012-273. This work was supported in part by the Secretaria d'Universitats i Recerca del Departament d'Economia i Coneixement de la Generalitat de Catalunya (Consolidated research group GRC: 2014 SGR 1569).

References

- [1] Mañanas MA, Jané R, Fiz JA, Morera J, Caminal P, Study of myographic signals from sternomastoid muscle in patients with chronic obstructive pulmonary disease, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 47, no 5, 2000, pp 674–81 (ISSN: 0018-9294).
- [2] Parthasarathy S, Jubran A, Laghi F, Tobin MJ, Sternomastoid, rib cage, and expiratory muscle activity during weaning failure. *Journal of Applied Physiology*, vol 103, no 1, 2007, pp 140–7 (ISSN: 8750-7587).
- [3] de Andrade AD, T. Silva TNS, Vasconcelos H, Marcelino M, Rodrigues-Machado MG, Galindo Filho VC, Moraes NH, Marinho PEM, Amorim CF, Inspiratory muscular activation during threshold therapy in elderly healthy and patients with COPD, *Journal of Electromyography and Kinesiology*, vol 15, no 6, 2005, pp 631–9 (ISSN: 1050-6411).
- [4] De Troyer A, Peche R, Yernault J-C, Estenne M, Neck muscle activity in patients with severe chronic obstructive pulmonary disease, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, vol 150, no 1, 1994, pp 41–7 (ISSN: 1073-449X).
- [5] He B Cohen RJ, Body surface Laplacian mapping of cardiac electrical activity, *The American Journal of Cardiology*, vol 70, no 20, 1992, pp 1617–20 (ISSN: 0002-9149).
- [6] Prats-Boluda G, Garcia-Casado J, Martinez-de-Juan JL, Ye-Lin Y, Active concentric ring electrode for non-invasive detection of intestinal myoelectric signals, *Medical Engineering & Physics*, vol 33, no 4, 2011, pp 446–55 (ISSN: 1350-4533).
- [7] Farina D, Cescon C, Concentric-ring electrode systems for noninvasive detection of single motor unit activity, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 48, no 11, 2001, pp 1326–34 (ISBN: 0018-9294).
- [8] Estrada L, Torres A, Garcia-Casado J, Prats-Boluda G, Ye-Lin Y, Jané R, Evaluation of Laplacian diaphragm electromyographic recording in a dynamic inspiratory maneuver, *Proceedings of the 36th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC'14)*, Chicago, Illinois, USA, 2014, pp 2201-4 (ISSN: 1557-170X).
- [9] Castroflorio T, Mesin L, Tartaglia GM, Sforza C, Farina D, Use of electromyographic and electrocardiographic signals to detect sleep bruxism episodes in a natural environment, *Journal of Biomedical and Health Informatics*, vol 17, no 6, 2013, pp 994–1001 (ISSN: 2168-2194).
- [10] Falla D, Dall'Alba P, Rainoldi A, Merletti R, Jull G, Location of innervation zones of sternocleidomastoid and scalene muscles - a basis for clinical and research electromyography applications, *Clinical Neurophysiology*, vol 113, no 1, 2002, pp 57–63 (ISSN: 1388-2457).
- [11] Steier J, Jolley CJ, Seymour J, Roughton M, Polkey MI, Moxham J, Neural respiratory drive in obesity, *Thorax*, vol 64, no 8, 2009, pp 719–25 (ISSN: 0040-6376).
- [12] Estrada L, Torres A, Sarlabous L, Jané R, Improvement in neural respiratory drive estimation from diaphragm electromyographic signals using fixed sample entropy, *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics*, 2015, Epub ahead of print (ISSN: 2168-2194).
- [13] Sarlabous L, Torres A, Fiz JA, Jané R, Evidence towards improved estimation of respiratory muscle effort from diaphragm mechanomyographic signals with cardiac vibration interference using sample entropy with fixed tolerance values, *PLoS ONE*, vol 9, no 2, 2014, p e88902 (ISSN: 1932-6203).

El Comienzo de la Fibrilación Auricular Paroxística es Predecible Estudiando la Variabilidad Temporal de la Onda P

R. Alcaraz Martínez¹, A. Martínez Rodrigo¹, J.J. Rieta Ibáñez²

¹Grupo de Investigación en Ingeniería Electrónica, Biomédica y de Telecomunicaciones, Universidad de Castilla-La Mancha, Cuenca, España, {raul.alcaraz, arturo.martinez}@uclm.es

²Biomedical Synergy, Dpto. Ingeniería Electrónica, Universidad Politécnica de Valencia, Gandia, España, jjrieta@upv.es

Resumen

La predicción del comienzo de la fibrilación auricular paroxística (FAP) es un reto clínicamente interesante, ya que podría evitar la cronificación de esta arritmia cardiaca altamente prevalente. A este respecto, se ha obtenido recientemente información útil desde la estimación, lineal y no lineal, de la variación temporal de la duración de la onda P. Sin embargo, todavía no se ha prestado atención a la posible dependencia de esta variación con la escala temporal analizada. Así pues, en este trabajo se estudia la variación de la duración de la onda P antes del comienzo de la FAP desde diferentes escalas temporales mediante la medida de su tendencia central (MTC). De hecho, una vez detectadas todas las ondas P desde el electrocardiograma (ECG) y estimada la duración de cada una de ellas, se obtuvo su variabilidad a lo largo del tiempo mediante la MTC escalada para intervalos de $m = 1, 2, \dots, 10$ latidos. De esta forma se estudiaron las dos horas precedentes al comienzo de 46 episodios de FAP, aunque este segmento se dividió en dos intervalos de una hora de duración cada uno. Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de la MTC obtenidos con todas las escalas para los dos grupos de intervalos considerados. No obstante, la capacidad de la MTC para discriminar entre los dos grupos de intervalos incrementó aproximadamente un 3.5 % para $m = 2$ latidos con respecto a $m = 1$. Consecuentemente, este resultado sugiere la existencia de dinámicas dependientes de diferentes escalas temporales en el complejo y no estacionario proceso de transición de ritmo sinusal a FAP, requiriendo por tanto ser objeto de un estudio más profundo.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia cardiaca sostenida más común en la práctica clínica diaria [1], afectando aproximadamente al 2 % de la población mundial [2]. No obstante, se prevé que esta enfermedad afecte a 25 millones de europeos y norteamericanos a mitad del presente siglo [3]. Desde un punto de vista clínico, la FA se puede presentar de diferentes formas [4], aunque suele comenzar con episodios de corta duración, menores de 7 días, denominados paroxísticos. No obstante, entre el 15 y el 31 % de los pacientes con FA paroxística (FAP) evolucionan a una arritmia persistente durante un periodo de tiempo de

entre 4 y 8 años aproximadamente [5, 6]. En este caso, los episodios presentan una duración mayor de 7 días y, normalmente, requieren una intervención externa, tal como cardioversión eléctrica o ablación por catéter, para su terminación. Cuando la arritmia no responde a este tipo de intervenciones se considera que está en su último estadio y se denomina FA permanente [4]. El principal objetivo del tratamiento aplicado en este caso deja de ser la recuperación del ritmo sinusal para pasar a controlar únicamente el ritmo cardiaco del paciente.

Aunque esta arritmia no es mortal por necesidad, provoca alteraciones hemodinámicas en el paciente que le pueden llevar a complicaciones graves como la insuficiencia cardíaca, el fallo cardiaco crónico, o el infarto cerebral, entre otras [7, 8]. De hecho, el riesgo de muerte de un paciente de FA es aproximadamente 5 veces el de una persona completamente sana [9]. Además, muchos estudios clínicos han asociado la aparición de episodios recurrentes de FAP con un incremento de la morbilidad y de la mortalidad cardiovascular [10]. Así pues, una vez que termina un episodio paroxístico, predecir cuándo comenzará el siguiente es un reto clínico muy interesante.

Dentro de este contexto, recientemente se han publicado mucho trabajos intentando predecir el comienzo de la FAP desde el electrocardiograma (ECG) de superficie [11]. De hecho, la onda P ha sido ampliamente analizada, ya que es el resultado de la despolarización auricular y, por tanto, la presencia de alteraciones auriculares podría modificar su morfología [12]. A este respecto, cabe indicar que la presencia en el ECG de ondas P más largas de lo habitual para una persona sana es clínicamente aceptado como un marcador de la existencia de un alto riesgo de desarrollar FAP [12]. Asimismo, varios autores también han asociado una prolongación excesiva de la onda P con un elevado riesgo de sufrir FA después de cirugía cardíaca [13] y con la progresión de la FAP a su estadio permanente [14].

Más recientemente, la estimación lineal y no lineal de la variabilidad de la duración de la onda P también ha mostrado una alta capacidad para predecir el comienzo de la FAP con al menos 2 horas de antelación [15, 16]. Esta información es muy interesante desde un punto de vista clínico, ya que se dispondría de tiempo suficiente para aplicar

el tratamiento que se considerase oportuno y, así, evitar la aparición de la arritmia. Sin embargo, hasta el momento no se ha considerado la posibilidad de que esta alteración de la onda P fuese dependiente de la escala temporal analizada. Así pues, el objetivo principal de este trabajo es estudiar si la estimación de la variabilidad de la duración de la onda P desde diferentes escalas temporales podría revelar información capaz de mejorar la predicción del comienzo de la FAP conseguida hasta el momento. Para tal propósito, se emplea la medida de la tendencia central (MTC) escalada para diverso número de latidos, ya que este índice permite estimar de una manera sencilla la variabilidad de una serie temporal [17].

2. Métodos

2.1. Base de datos

El estudio incluyó 46 pacientes con FAP idiopática (18 hombres, edad media de 63.2 ± 10.2 años), tal que ninguno de ellos sufría de otra enfermedad cardíaca, hipotiroidismo o enfermedad pulmonar; y tampoco estaba tomando fármacos antiarrítmicos en el momento del estudio. Desde el registro Holter de 24 horas adquirido para cada uno de ellos, dos cardiólogos anotaron los episodios de FAP, considerando la ausencia o presencia de onda P y la irregularidad de la actividad ventricular [18]. En promedio, se detectaron 2.9 ± 1.8 episodios por paciente con una duración media de 4.1 ± 2.2 horas. Cabe resaltar que el episodio más corto tuvo una duración de 59 minutos.

Finalmente, para cada paciente solo se analizaron las dos horas precediendo el comienzo de un episodio de FAP desde el intervalo de ritmo sinusal más largo encontrado en el registro. No obstante, este segmento fue dividido en dos intervalos de una hora de duración, uno conteniendo la hora inmediatamente antes del comienzo del episodio y el otro una hora alejado del mismo, para poder estudiar la capacidad de la MTC para seguir las alteraciones de la onda P en diferentes escalas temporales.

2.2. Detección y delineación de la onda P

Los registros Holter de los pacientes se obtuvieron con una frecuencia de muestro de 1 kHz y una resolución de 16 bits sobre un rango dinámico de ± 10 mV, teniendo así en cuenta las recomendaciones publicadas por otros autores para un estudio preciso de la onda P [19]. Además, aunque todos los registros disponían de tres derivaciones (II, aVF y V1), solo se analizó la derivación V1, ya que es la que habitualmente presenta las ondas P con mayor amplitud.

Por otro lado, dado que no existe una definición estándar sobre dónde determinar el comienzo y el final exacto de la onda P, para este propósito se empleó un algoritmo de delineación automático [20]. Éste está basado en el uso de la transformada fasorial y ha mostrado una precisión y una predictividad positiva mayor del 98.5 % en bases de datos anotadas por expertos y ampliamente utilizadas en otros trabajos previos [20]. Además, incluso en presencia de ruido, el algoritmo es capaz de proveer el comienzo, final y pico máximo de la onda P con un error de localización li-

mitado (menor de 8 ms en promedio). Obviamente, la duración de toda onda P fue obtenida como la distancia entre los puntos de comienzo y finalización identificados por el algoritmo.

2.3. Medida de la tendencia central escalada

La MTC escalada es una medida cuantitativa de la variabilidad de una serie temporal obtenida desde su gráfico de dispersión de orden m [17, 21]. Dada una serie temporal $x[n]$ y una escala m , dicho gráfico se corresponde con la representación gráfica de $x[n+m+1] - x[n+m]$ contra $x[n+1] - x[n]$. Este gráfico está centrado en el origen y permite obtener la MTC como el porcentaje de puntos que caen dentro de una región circular de radio ρ respecto del total. Así pues, un valor bajo de este índice indica una alta dispersión, mientras que un valor alto del mismo refleja una gran concentración de puntos en torno al origen [21]. En el estudio, este índice se empleó para estimar la variabilidad de la duración de la onda P con escalas temporales de $m = 1, 2, \dots, 10$ latidos.

Desde un punto de vista estrictamente matemático, dados N puntos de una serie temporal $x[n]$, el gráfico de dispersión de orden m contendría $N - m - 1$ puntos, de forma que la MTC podría ser estimada como:

$$MTC(m) = \frac{\sum_{i=1}^{N-m-1} \delta_m[i]}{N - m - 1}, \quad (1)$$

donde

$$\delta_m[i] = \begin{cases} 1, & \text{si } \sqrt{d_m[i]} < \rho, \\ 0, & \text{en otro caso.} \end{cases} \quad (2)$$

siendo $\sqrt{d_m[i]}$ la distancia del punto i -ésimo respecto del origen y $d_m[i]$ definido como:

$$d_m[i] = (x[i+m+1] - x[i+m])^2 + (x[i+1] - x[i])^2. \quad (3)$$

De acuerdo con esta definición, la MTC depende críticamente del radio ρ . Sin embargo, hoy en día todavía no existen guías para facilitar su selección, ya que éste normalmente depende del carácter de los datos analizados. En el presente trabajo, dicho valor se eligió a partir de un pequeño estudio similar al realizado por otros autores [21, 22], consistente en calcular la MTC escalada para todo valor de m con radios $\rho = 10, 11, 12, \dots, 200$ ms. Entonces, para cada uno de ellos se obtuvieron las diferencias estadísticas entre los dos grupos de intervalos de ECG a través de un test de Mann-Whitney, seleccionando finalmente aquél que mostró la menor significación estadística (p) entre grupos.

2.4. Evaluación del funcionamiento

La capacidad de la MTC para discernir entre los intervalos de ECG inmediatamente antes del comienzo de la FAP y aquellos alejados una hora de tal evento se analizó mediante el uso de curvas ROC. Esta gráfica es el resultado de contrastar la fracción de verdaderos positivos con el porcentaje de falsos positivos para diferentes umbrales de clasificación. En este estudio, se consideraron como verdaderos positivos aquellos intervalos de ECG precediendo

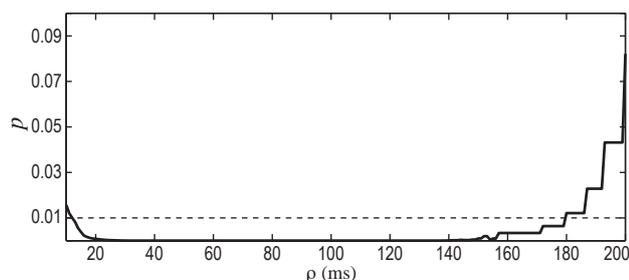


Figura 1. Diferencias estadísticas (p) entre los dos grupos de intervalos de ECG considerados obtenidas por la MTC como una función del radio ρ empleado.

m	Intervalos de ECG lejos de FAP	Intervalos de ECG justo antes de FAP	p
1	$0,984 \pm 0,015$	$0,948 \pm 0,112$	$< 0,01$
2	$0,991 \pm 0,014$	$0,935 \pm 0,105$	$< 0,01$
3	$0,987 \pm 0,015$	$0,937 \pm 0,107$	$< 0,01$
4	$0,987 \pm 0,013$	$0,937 \pm 0,106$	$< 0,01$
5	$0,986 \pm 0,012$	$0,936 \pm 0,108$	$< 0,01$
6	$0,986 \pm 0,014$	$0,937 \pm 0,110$	$< 0,01$
7	$0,987 \pm 0,015$	$0,937 \pm 0,110$	$< 0,01$
8	$0,988 \pm 0,016$	$0,936 \pm 0,109$	$< 0,01$
9	$0,987 \pm 0,016$	$0,936 \pm 0,108$	$< 0,01$
10	$0,988 \pm 0,017$	$0,936 \pm 0,106$	$< 0,01$

Tabla 1. Valores medios y desviación estándar de la MTC para las escalas temporales m estudiadas.

inmediatamente la FAP correctamente clasificados, siendo su porcentaje la sensibilidad del clasificador. Similarmente, se consideraron como verdaderos negativos aquellos intervalos de ECG alejados del comienzo de la FAP correctamente identificados, siendo su porcentaje la especificidad. Finalmente, se eligió como umbral óptimo de clasificación aquél que maximizaba la precisión diagnóstica del parámetro, es decir, aquél que clasificaba correctamente el mayor número total de intervalos de ECG.

3. Resultados

Para todas las escalas temporales, un amplio rango de radios mostró unas diferencias estadísticas similares entre los dos grupos de intervalos de ECG analizados. En este sentido, la Figura 1 muestra la significación estadística obtenida como una función del radio ρ para la escala de $m = 2$ latidos, pudiéndose observar dicho compartimiento para los radios entre 25 y 140 ms, aproximadamente. No obstante, para todos las escalas temporales se detectó el radio óptimo entre 70 y 75 ms. Una vez seleccionado este valor, tal como se puede observar en la Tabla 1, los intervalos de ECG alejados de la FAP presentaron mayores valores de la MTC que aquellos justo antes del comienzo de la arritmia para todas las escalas temporales analizadas, observándose además diferencias estadísticamente significativas en todos los casos a través de un test no paramétrico de Mann-Whitney. No obstante, mientras que la menor diferencia entre los valores medios de la MTC de ambos grupos se encontró para la escala $m = 1$ latido, la diferencia más grande entre ellos se obtuvo para $m = 2$ latidos. Final-

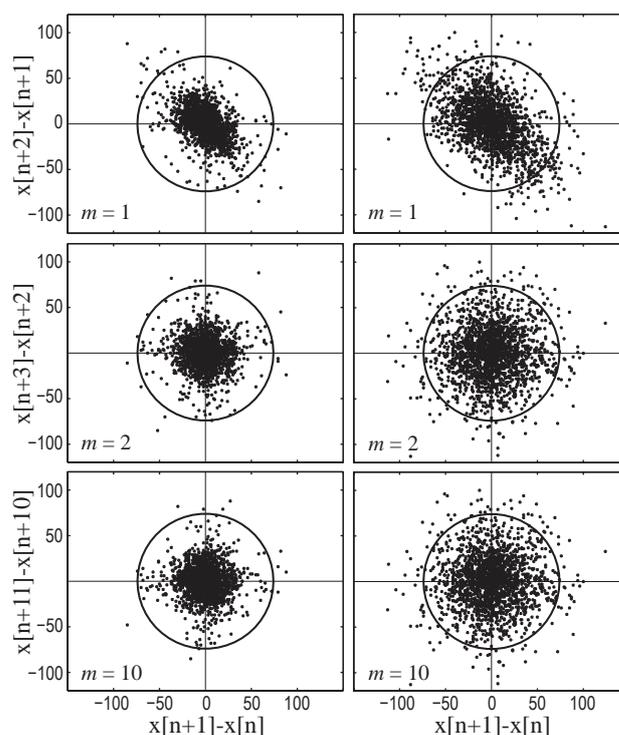


Figura 2. Gráficos de dispersión de órdenes 1, 2 y 10 desde dos intervalos de ECG típicos, uno alejado del comienzo de la PAF (columna de la izquierda) y otro justo antes del mismo (columna de la derecha).

mente, para valores de $m > 2$ se observó una diferencia a medio camino entre los dos casos descritos.

En línea con estas observaciones, la Figura 2 muestra cómo los gráficos de dispersión de órdenes 1, 2 y 10 para dos intervalos de ECG típicos, uno alejado del comienzo de la FAP (columna de la izquierda) y otro juntamente antes del mismo (columna de la derecha), no son excesivamente diferentes. No obstante, merece la pena notar que en ambos casos los gráficos pasan de una distribución con forma elíptica para $m = 1$ a una distribución más circular para $m \geq 2$.

También cabe resaltar que tampoco se encontraron grandes diferencias entre los resultados de clasificación para los diferentes valores de m , tal como se puede observar en la Tabla 2. Así, solo se observaron variaciones inferiores al 8% entre los valores de sensibilidad y especificidad de todas las escalas temporales. No obstante, la precisión diagnóstica aumentó más de un 3% cuando se empleó una escala de $m = 2$ latidos con respecto con respecto a $m = 1$. Para los restantes valores de m , solo se observó un incremento del 1%, aproximadamente.

4. Discusión y conclusiones

De acuerdo con los trabajos previos que han analizado la evolución temporal de la duración de la onda P [16], se observó una progresión significativa durante las dos horas previas al comienzo de la arritmia para todas las escalas temporales analizadas. Tal y como se esperaba, se obtuvieron valores de la MTC más cercanos a la unidad desde los segmentos alejados del comienzo de la FAP que desde

<i>m</i>	Sensibilidad	Especificidad	Precisión
1	82,61 %	78,26 %	80,43 %
2	82,61 %	84,78 %	83,70 %
3	78,26 %	84,78 %	81,52 %
4	86,95 %	76,09 %	81,52 %
5	78,26 %	84,78 %	81,52 %
6	84,78 %	78,26 %	81,52 %
7	86,95 %	76,09 %	81,52 %
8	82,61 %	80,43 %	81,52 %
9	84,78 %	78,26 %	81,52 %
10	84,78 %	78,26 %	81,52 %

Tabla 2. Valores de sensibilidad, especificidad y precisión obtenidos para las escalas temporales *m* estudiadas.

aqueellos justo antes de dicho evento (ver Tabla 1). Además, aunque solo se apreciaron suaves diferencias entre las escalas temporales, el análisis de $m = 2$ latidos en vez de $m = 1$ consiguió una mejora significativa en la identificación de los dos grupos de intervalos de ECG analizados (ver Tabla 2). Similarmente, también se observaron suaves diferencias en la forma de los gráficos de dispersión de segundo o mayor orden comparados con los de primer orden (ver Figura 2). Así pues, todas estas observaciones sugieren la existencia de dinámicas dependientes de diferentes escalas temporales durante el proceso de transición del ritmo sinusal normal a la FAP, lo cual parece coherente con la altamente fragmentada y heterogénea conducción auricular que precede al comienzo de la arritmia [12].

Dados los resultados obtenidos así como el interés clínico de prevenir la recurrencia de la FAP, este estudio preliminar incita a abrir una nueva línea de investigación centrada en relacionar las diferentes dinámicas temporales que se podrían presentar en la transición hacia la FAP con las alteraciones pato-fisiológicas provocadas por la misma. No obstante, para ello es fundamental que en futuros trabajos se empleen bases de datos más amplias, así como índices con mayor sensibilidad a diferentes factores de escala.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por los proyectos TEC2014-52250-R del Ministerio de Economía y Competitividad y PPII-2014-026-P de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.

Referencias

- [1] Prystowsky EN. The history of atrial fibrillation: the last 100 years. *J Cardiovasc Electrophysiol* Jun 2008; 19(6):575-82.
- [2] Zoni-Berisso M, Lercari F, Carazza T, Domenicucci S. Epidemiology of atrial fibrillation: European perspective. *Clin Epidemiol* 2014;6:213-20.
- [3] Potter BJ, Le Lorier J. Taking the pulse of atrial fibrillation. *Lancet* Jul 2015;386(9989):113-5.
- [4] Gallagher MM, Camm J. Classification of atrial fibrillation. *Am J Cardiol* Oct 1998;82(8A):18N-28N.
- [5] de Vos CB, Pisters R, Nieuwlaat R, Prins MH, Tieleman RG, Coelen RJS, van den Heijkant AC, Allessie MA, Crijns HJGM. Progression from paroxysmal to persistent atrial fibrillation clinical correlates and prognosis. *J Am Coll Cardiol* Feb 2010;55(8):725-31.
- [6] Pillarisetti J, Patel A, Boc K, Bommana S, Sawers Y, Vanga S, Sayana H, Chen W, Nath J, Vacek J, Lakkireddy D. Evolution of paroxysmal atrial fibrillation to persistent or permanent atrial fibrillation: Predictors of progression. *Journal of Atrial Fibrillation* 2009;1(7):388-394.
- [7] Thrall G, Lane D, Carroll D, Lip GYH. Quality of life in patients with atrial fibrillation: a systematic review. *Am J Med* May 2006;119(5):448.e1-19.
- [8] Singh SN, Tang XC, Singh BN, Dorian P, Reda DJ, Harris CL, Fletcher RD, Sharma SC, Atwood JE, Jacobson AK, Lewis Jr HD, Lopez B, Raisch DW, Ezekowitz MD, SAFE-T Investigators. Quality of life and exercise performance in patients in sinus rhythm versus persistent atrial fibrillation: a Veterans Affairs Cooperative Studies Program Substudy. *J Am Coll Cardiol* Aug 2006;48(4):721-30.
- [9] Fuster V, Rydén LE, Cannom DS, Crijns HJ, Curtis AB, Ellenbogen KA, et al. 2011 ACCF/AHA/HRS focused updates incorporated into the ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines. *Circulation* Mar 2011;123(10):e269-367.
- [10] Stewart S, Hart CL, Hole DJ, McMurray JJV. A population-based study of the long-term risks associated with atrial fibrillation: 20-year follow-up of the Renfrew/Paisley study. *Am J Med* Oct 2002;113(5):359-64.
- [11] Platonov PG. Atrial conduction and atrial fibrillation: what can we learn from surface ECG? *Cardiol J* 2008;15:402-7.
- [12] Platonov PG. P-wave morphology: underlying mechanisms and clinical implications. *Ann Noninvasive Electrocardiol* Jul 2012;17(3):161-9.
- [13] Sovilj S, Van Oosterom A, Rajsman G, Magjarevic R. ECG-based prediction of atrial fibrillation development following coronary artery bypass grafting. *Physiol Meas* May 2010; 31(5):663-77.
- [14] Abe Y, Fukunami M, Yamada T, Ohmori M, Shimonagata T, Kumagai K, Kim J, Sanada S, Hori M, Hoki N. Prediction of transition to chronic atrial fibrillation in patients with paroxysmal atrial fibrillation by signal-averaged electrocardiography: a prospective study. *Circulation* Oct 1997; 96(8):2612-6.
- [15] Alcaraz R, Martínez A, Rieta JJ. The P wave time-frequency variability reflects atrial conduction defects before paroxysmal atrial fibrillation. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2015;in press.
- [16] Martínez A, Abásolo D, Alcaraz R, Rieta JJ. Alteration of the P-wave non-linear dynamics near the onset of paroxysmal atrial fibrillation. *Med Eng Phys* Jul 2015;37(7):692-7.
- [17] Cohen M, Hudson D, Deedwania P. Applying continuous chaotic modeling to cardiac signals. *IEEE Eng Med Biol Mag* 1996;15:97-102.
- [18] Bollmann A, Sonne K, Esperer HD, Toepffer I, Langberg JJ, Klein HU. Non-invasive assessment of fibrillatory activity in patients with paroxysmal and persistent atrial fibrillation using the Holter ECG. *Cardiovasc Res* 1999;44(1):60-6.
- [19] Censi F, Calcagnini G, Corazza I, Mattei E, Triventi M, Bartolini P, Boriani G. On the resolution of ECG acquisition systems for the reliable analysis of the P-wave. *Physiol Meas* Feb 2012;33(2):N11-7.
- [20] 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.
- [21] Abásolo D, Hornero R, Gómez C, García M, López M. Analysis of EEG background activity in Alzheimer's disease patients with Lempel-Ziv complexity and central tendency measure. *Med Eng Phys* May 2006;28(4):315-22.
- [22] Alcaraz R, Rieta JJ. Central tendency measure and wavelet transform combined in the non-invasive analysis of atrial fibrillation recordings. *Biomed Eng Online* 2012;11:46.

Ingeniería de Rehabilitación

Jueves 5 de Noviembre

Mirall, un ejemplo del uso de cuaterniones en el desarrollo de videojuegos serios de tele-rehabilitación

M. Moya Mendoza¹, P. Ferriol Monserrat¹, F. Tous Llull¹, M. Melià Aguiló¹, J. Sastre Terrasa¹, J. Martínez Carvajal¹

¹ Departamento de salud *Fundació BIT*, 07121-Palma de Mallorca, España
mmoya:pferriol:xtous:mmelia:jsastre:jmartinez@fundaciobit.org

Resumen

En este artículo se presenta a través de la plataforma de tele-rehabilitación *Play4Health* el videojuego *Mirall*. La dinámica del videojuego se centra en la aparición de posturas, las cuales el paciente deberá imitar, con el objetivo de mejorar la resistencia y aumentar la integración de la lateralidad en este. Cabe destacar la importancia del uso de cuaterniones en el flujo del juego para la validación de las posturas realizadas por el paciente.

1. Introducción

El aumento de la esperanza de vida en la población humana supone un aumento del número de personas que presentan deterioro cognitivo debido al propio envejecimiento, este problema suele ir acompañado de problemas de equilibrio debidos al deterioro del nervio auditivo así como de problemas causados por una baja resistencia física.

El videojuego de tele-rehabilitación *Mirall* pretende ayudar a mejorar los problemas de equilibrio y resistencia, otorgando una solución lúdica y amena a los pacientes. Como objetivo secundario el videojuego pretende mejorar la integración de la lateralidad en personas con problemas de deterioro cognitivo, para ello el videojuego cuenta con diversas posturas asimétricas que implican el uso de ambas extremidades del tren superior.

Mirall forma parte de la plataforma de tele-rehabilitación *Play4Health* (P4H)[1], la cual mediante el uso de videojuegos serios y diferentes métodos de interacción permite llevar a cabo tareas de rehabilitación de déficits tanto físicos como cognitivos. P4H es una aplicación web basada en HTML5 y Javascript con una arquitectura cliente-servidor accesible tanto por pacientes como terapeutas. Los terapeutas se encargan de la configuración de las terapias en función de las necesidades del paciente, así como del seguimiento de la evolución de este y el ajuste de las terapias. Los pacientes por su parte pueden realizar las sesiones de rehabilitación desde su casa o acudir a su centro de salud para llevar a cabo la actividad bajo supervisión de su terapeuta. Los pacientes interactúan con los videojuegos de la plataforma utilizando periféricos de consolas de bajo coste y amplia difusión en el mercado como las alfombras DDR o la cámara tridimensional *Microsoft Kinect* [2]. A lo largo de este artículo se presentarán las funcionalidades del videojuego *Mirall*, así como las diferentes herramientas y métodos utilizados durante su desarrollo.

2. Funcionamiento del videojuego

Durante la realización de la actividad, en la pantalla principal del videojuego se mostrarán de forma aleatoria las posturas que el paciente debe imitar, el comportamiento del videojuego depende en todo momento de las acciones realizadas por el paciente.

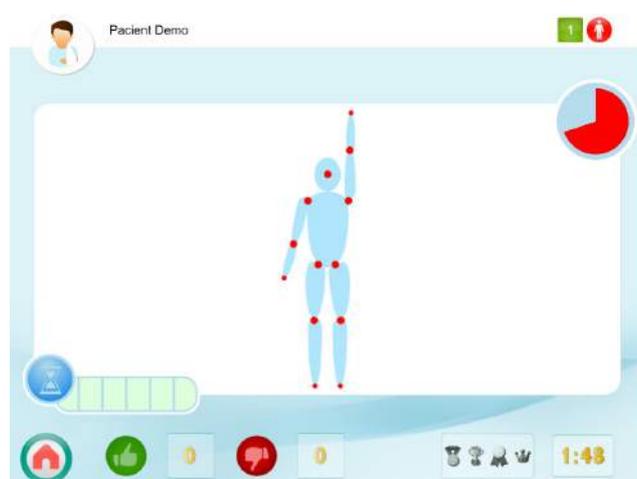


Figura 1. Pantalla principal del videojuego *Mirall*

La pantalla principal del juego (Figura 1) se compone de un recuadro blanco posicionado en el centro de la pantalla, sobre el que aparecerán las posturas a imitar y sobre ellas el esqueleto del paciente. La pantalla además dispone de varios indicadores que proporcionan información al paciente sobre la evolución de su actividad. Como todos los videojuegos de la plataforma P4H, la actividad puede realizarse o bien por tiempo o bien por un número determinado de partidas en función de lo configurado por el terapeuta del paciente.

Además del control de modo de fin de la actividad, el terapeuta tiene la capacidad de configurar el tiempo que el paciente ha de mantener la postura para su validación, así como el tiempo disponible para alcanzar la postura. En el siguiente apartado se mostrará de forma más detallada cada uno de los componentes del videojuego, así como las funciones que desempeñan a lo largo de la actividad.

3. Elementos del juego

3.1. Esqueleto

El esqueleto del paciente está formado por la unión entre las articulaciones proporcionadas por el dispositivo

Microsoft Kinect. Ha sido configurado de tal manera que sus dimensiones coincidan con las de la imagen de la postura a imitar.

Para proporcionar información al paciente sobre su progreso, se ha configurado el esqueleto de tal forma que siempre que el paciente alcance la postura objetivo a imitar este modifique sus características, mostrando así un esqueleto con huesos de mayor grosor y de color verde (Figura 2).

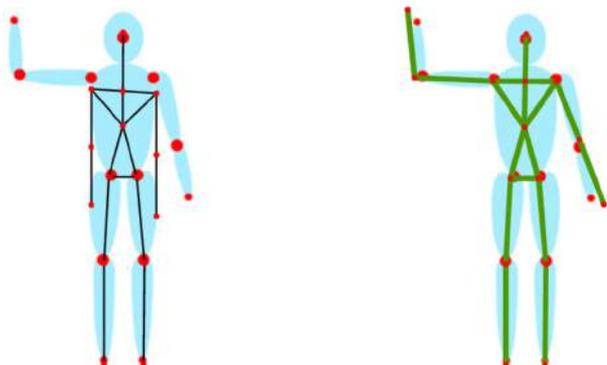


Figura 2. Esqueleto erróneo(Dcha) y correcto (Izq)

Como última precaución si por algún motivo el dispositivo *Microsoft Kinect* deja de recibir información del paciente el esqueleto desaparecerá de la pantalla principal del juego indicando así un comportamiento anómalo del periférico de entrada. Una vez el dispositivo vuelva a proporcionar datos válidos del paciente el esqueleto volverá a ser visible.

3.2. Posturas

El videojuego *Mirall* dispone de una librería de 54 posturas, 12 de las cuales son simétricas. Las posturas a imitar por los pacientes han sido confeccionadas a partir de combinaciones de diferentes posiciones de las extremidades del tren superior (Figura 3).

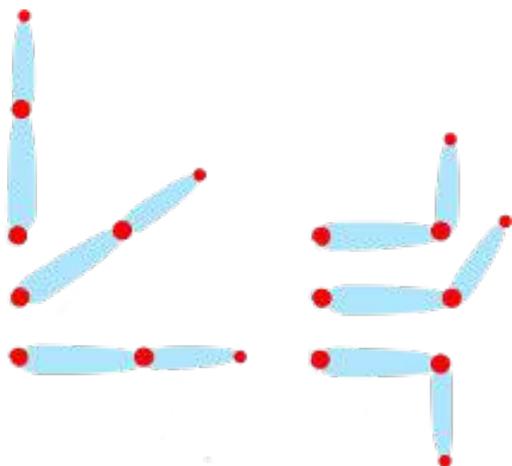


Figura 3. Posturas predefinidas para el tren superior

Los valores de la rotación de las articulaciones de las posturas a imitar fueron obtenidas mediante el uso de una cámara *Microsoft Kinect*.

3.3. Reloj

Aparece en la esquina superior derecha, su función principal es la de gestionar el tiempo por postura del que

dispone el paciente. Este reloj está compuesto por 40 segmentos iguales, los cuales van desapareciendo en función del tiempo que ha programado el terapeuta. A partir del momento en el que el paciente dispone del doble de tiempo para validar la postura, el reloj comienza a parpadear indicando que el usuario se queda sin tiempo para validar la postura en proceso.

3.4. Barra de progreso

En la esquina inferior izquierda nos encontramos con la barra de progreso, su función es la de indicar el tiempo que el paciente ha de mantener la postura objetivo. Esta está compuesta por 6 segmentos que se rellenan a una velocidad u otra dependiendo de la configuración del terapeuta a medida que el paciente mantiene la postura.

El juego además dispone de un sistema de control temporal, el cual gestiona si el paciente aún dispone de tiempo para acabar una postura en curso o ya es imposible y la desecha para pasar a la siguiente postura.

3.5. Indicadores

Además de los elementos antes descritos, el videojuego cuenta con una serie de indicadores para proporcionar más información al paciente. Por un lado tenemos el contador de posturas correctas e incorrectas que se va actualizando en tiempo real en función de la evolución del paciente durante la terapia. Así mismo, el programa informa al paciente de su comportamiento con las posturas mostrando una animación de transición correcta o incorrecta. El juego también cuenta con un reloj encargado de gestionar el tiempo por partida.

4. Logros

Para mejorar la experiencia del paciente, el videojuego dispone de diferentes logros los cuales además de proporcionar información suponen una motivación adicional para los usuarios.

4.1. Medalla a la habilidad

Logro dividido en 3 categorías (oro, plata y bronce). Se entregan al paciente en función del número de posturas correctas consecutivas que consiga.

4.2. Trofeo al tiempo de reacción

Logro disponible en 3 categorías. Se consiguen en función del tiempo de reacción del paciente. Se entiende como tiempo de reacción el intervalo temporal entre que la figura aparece en pantalla y el instante en el que el paciente comienza a mantener dicha postura.

4.3. Escarpela a la velocidad

Como los logros anteriores, la escarpela a la velocidad está disponible en 3 categorías. Estos logros se entregan al paciente en función del tiempo que ha necesitado para validar las posturas durante la partida.

4.4. Corona de oro a la perfección

Este es el único logro que está disponible solo en una categoría. Como su nombre indica la corona se entrega al

paciente si este ha realizado de forma correcta todas las posturas durante la actividad.

4.5. Resumen final

Antes de finalizar la partida, el videojuego muestra una ventana con información de la actuación del paciente a lo largo de la partida, como por ejemplo los logros que ha conseguido o lo bien o mal que ha realizado la terapia mediante una barra de estrellas.

5. Niveles

El videojuego dispone de 3 niveles de dificultad.

En un principio y a raíz de la experiencia personal realizando las posturas, estas se separaron en función de la dificultad durante el proceso de validación:

- En el primer nivel de juego encontramos posturas simétricas y posturas asimétricas en las cuales se utiliza una de las extremidades superiores.
- En el segundo nivel además de las posturas del nivel anterior, encontramos posturas que implican la utilización de ambas extremidades superiores.
- En el tercer nivel además de las posturas de los niveles anteriores nos encontramos con posturas que utilizan ambas extremidades superiores y tienen un grado de dificultad superior a las del nivel anterior, así como posturas que utilizan tanto el tren superior como el tren inferior.

6. Herramientas usadas

Para la validación de las posturas se ha hecho uso del método de diferencia de cuaterniones. Los cuaterniones fueron creados por el matemático William Rowan Hamilton en 1843 como una extensión de los números complejos. Una de sus principales ventajas reside en que su álgebra es más sencilla que la de la notación matricial por lo que suponen una buena herramienta para el cálculo de rotaciones en el espacio. El campo de uso de cuaterniones es extenso, desde herramientas de posición en la navegación hasta incluso su utilización en videojuegos puesto que simplifican los cálculos de orientación de objetos en espacios tridimensionales.

Dada su sencillez, el uso de cuaterniones para la validación de las posturas en el videojuego *Mirall* resulta efectivo. Como se ha mencionado al inicio del apartado, el videojuego valida las posturas calculando la diferencia entre los cuaterniones de la figura objetivo y los cuaterniones de las articulaciones del paciente. La diferencia de cuaterniones se calcula a partir de la multiplicación del primer cuaternión con el conjugado del segundo (1) y es equivalente al ángulo existente entre ambos cuaterniones a partir:

$$\text{diff} = q_1 * \bar{q}_2 \quad (1)$$

Cada articulación dispone de un valor umbral. Si la diferencia de cuaterniones es menor al valor del umbral la orientación de la articulación se considera como válida. Así pues, se considerará como válida la postura del paciente si las orientaciones de todas sus articulaciones son válidas.

Para llevar a cabo la validación de las posturas primero fue necesario obtener un conjunto de cuaterniones como patrón para cada figura, además de encontrar un valor idóneo para los umbrales de las articulaciones.

Como se ha mencionado en apartados anteriores la obtención de los datos del paciente se realiza mediante un dispositivo *Microsoft Kinect*, este cuenta con varios sensores incorporados. Gracias a una fuente emisora de luz infrarroja y una cámara infrarroja el dispositivo confecciona el esqueleto de un usuario a partir de una imagen de profundidad y técnicas de visión por computador, el dispositivo además proporciona información sobre las articulaciones del esqueleto rastreado. Aunque el dispositivo de *Microsoft* es capaz de rastrear hasta 20 articulaciones por usuario la plataforma P4H utiliza solo 15 de estos dado el software utilizado (*openNi*). Además P4H implementa un sistema propio para la obtención de los valores de orientación de las articulaciones del paciente a partir de los datos proporcionados por el dispositivo *Microsoft Kinect*. Este paso se lleva a cabo ya que cuando el ángulo de rotación de las articulaciones del paciente tiene un valor cercano a 180 grados el software de *OpenNi* registra valores de rotación erróneos. Así pues a partir de la posición espacial de las articulaciones del paciente la plataforma P4H calcula el valor de las rotaciones (en forma de cuaterniones) de las articulaciones del paciente mediante el uso de los vectores.

En la Figura 4 se observa un ejemplo del método utilizado por la plataforma P4H para la obtención de las orientaciones a partir de vectores. En ángulo de la articulación del hombro (Θ en la Figura 4) es el resultante entre el vector del antebrazo del esqueleto y el vector del torso.

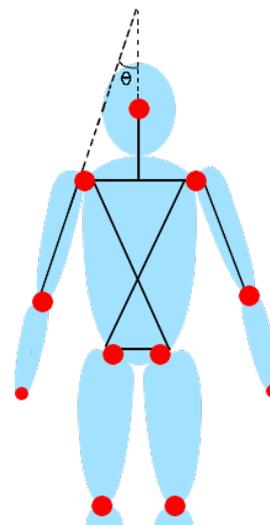


Figura 4. cálculo de ángulos mediante vectores

Para el desarrollo del videojuego fue necesario la obtención de un patrón de referencia para cada figura objetivo. Para obtener el patrón de referencia de cada figura se utilizó un modelo encargado de imitar las posturas del videojuego y una vez se alcanzaba la postura deseada se almacenaban las rotaciones de las articulaciones del modelo. Este proceso se repitió varias veces obteniendo así más de un patrón por cada postura, realizando una diferencia de cuaterniones

entre todas las posibles combinaciones de dichos patrones se obtuvo un grupo de valores de ángulos de diferencia entre cuaterniones. Con de la media de los valores antes mencionados se obtuvo un primer valor de referencia para el umbral de cada articulación.

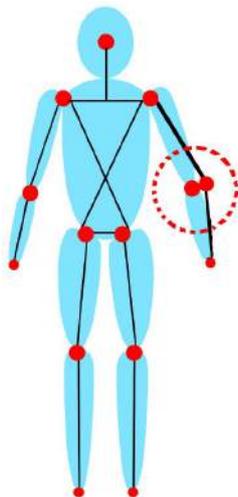


Figura 5. Variación en una articulación

Mediante la validación posterior de los umbrales calculados se observó que los valores obtenidos resultaban demasiado restrictivos, pequeñas variaciones del esqueleto del paciente imposibilitaban la validación de las posturas (Figura 5). Así pues para asegurar que los pacientes puedan alcanzar las posturas del videojuego se modificaron los valores de umbral de las articulaciones hasta obtener un valor satisfactorio.

Para su uso en terapias de rehabilitación es necesario que el dispositivo *Microsoft Kinect* proporcione datos fiables. El equipo de ARTIK [3] llevó a cabo una validación biomecánica de la cámara de *Microsoft*, mediante el uso de técnicas MoCap (*motion capture*), antes de empezar su proyecto de tele-rehabilitación *Rehaptimals*. Tal y como indica el artículo de ARTIK [4] el dispositivo *Microsoft Kinect* al realizar lecturas de rotación de articulaciones presenta un error aproximado de menos de 10 grados, resultado que coincide con las conclusiones obtenidas por un estudio de la escuela superior de diseño industrial de la universidad de Rio de Janeiro [5]. El error de lectura del dispositivo permite utilizar de forma fiable los datos del esqueleto del paciente para su uso en terapias de rehabilitación.

7. Conclusiones y trabajo futuro

Pese al margen de error que presenta el dispositivo *Microsoft Kinect* en la lectura el dispositivo presenta ventajas como su reducido coste, y su comodidad para los pacientes (no es un sistema intrusivo) frente a sistemas con mayor precisión. Este hecho unido a la incorporación, a través de videojuegos, del aspecto lúdico en la terapia facilita la aceptación, adherencia e implicación del paciente [6].

El uso de cuaterniones, frente a ángulos de *Euler*, en videojuegos serios de tele-rehabilitación suponen una ventaja al realizar comparaciones de rotaciones. El álgebra de cuaterniones es más sencilla que el álgebra matricial, el hecho de que la diferencia de cuaterniones proporcione como resultado un valor numérico, equivalente al ángulo existente entre los cuaterniones comparados, facilita la implementación de valores de umbral para la validación de las articulaciones del paciente al imitar la postura objetivo.

Como trabajo futuro queda pendiente hacer más atractiva la experiencia con *Mirall*, actualmente se ha finalizado la primera versión del videojuego. Una de las posibles mejoras de futuro es la de dotar al videojuego de un escenario más entretenido, como un camino de obstáculos en el que desarrollar la parte cognitiva, para desviar de esta forma la atención del paciente consiguiendo así una sesión de rehabilitación más divertida a la par que técnica.

Otra de las mejoras de futuro, ya en desarrollo para el proyecto, reside en la inclusión del dispositivo *Microsoft Kinect V2*. Este presenta unas características mejoradas respecto a su predecesor lo que nos garantizaría mejores resultado en el periodo de validación de posturas así como la posibilidad de emplear el tren inferior de una forma más precisa.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Direcció General d'Innovació i Desenvolupament Tecnològic del Govern de les Illes Balears.

Referencias

- [1] Ferriol Monserrat P, Tous Llull F, Alcalde Velado M.A, Melià Aguilo M, Sastre Terrassa J, Farreny Balcella M.A, Ponce Martínez E, Llano de la Peña B. Play for Health 2.0: Evolving P4H to a web enviroment using HTML5 and Javascript. Publicación de *eTELEMED 2014 : The Sixth International Conference on eHealth, Telemedicine, and Social Medicine*
- [2] <https://dev.windows.com/en-us/kinect>
- [3] <https://sites.google.com/site/artiktheproject/proyecto/serious-game>
- [4] Fernandez-Baena A, Susín A, Lligadas X. Biomechanical validation of Upper-Body and Lower-body joint movements of Kinect motion capture data for rehabilitation treatments. Publicación en *Fourth International Conference on Intelligent Networking and Collaborative Systems*
- [5] Streit P, Monat A.S, Zamberlan M.C.P.L, Guimaraes C.P, Ribeiro F.C, Oliveira J.L. Comparison and evaluation of biomechanical parameters of motion capture system. *Escuela superior de diseño industrial, Universidad de Rio de Janeiro*
- [6] Farreny M.A, Buen M.C, Aguirrezabal A, Ferriol P, Tous F, Alcalde M.A. *Play for Health (P4H): una nueva herramienta en telerehabilitación*

Contenidos Virtuales para Neurorehabilitación Funcional de la Extremidad Superior

F. Molina Nájera^{1,2}, M. Almenar Masbernat^{3,4,5}, J. Ontiveros Ravell^{1,2}, C. Gómez^{3,4,5}, M.A. Villán-Villán^{1,2},
R. Pérez Rodríguez^{1,2}, C. Martín^{3,4,5}, E. Opisso^{3,4,5}, J. Medina Casanovas^{3,4,5},
J.M. Tormos Muñoz^{3,4,5}, E.J. Gómez Aguilera^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSIT, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España

² Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería,
Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España
{ f Molina, j ontiveros, m villan, r perez, e gomez@gbt.tfo.upm.es }

³ Institut Guttmann, Institut Universitari de Neurorehabilitació adscrit a la UAB, Badalona, Barcelona, Spain

⁴ Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra (Cerdanyola del Vallès), Spain

⁵ Fundació Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol, Badalona, Barcelona, Spain
{ m almenara, c gomez, c martin, e opisoo, j medina, j mtormos@gbt.tfo.upm.es }

Resumen

La utilización de entornos virtuales de rehabilitación que hacen uso de dispositivos comerciales para el entretenimiento ha adquirido un gran interés en el área de neurorehabilitación. El objetivo del presente trabajo es diseñar y desarrollar contenidos virtuales (CVs) para rehabilitación funcional en pacientes con Traumatismo Craneoencefálico (TCE). Para ello se han diseñado dos actividades de rehabilitación que hacen uso del sensor de profundidad de bajo coste Microsoft Kinect junto con dispositivos de control, especialmente diseñados para los CVs de rehabilitación, que sirvan como herramienta de monitorización e interacción. Los CVs desarrollados se han basado en actividades de terapia ocupacional utilizadas en el Institut Guttmann.

1. Motivación

El Traumatismo Craneoencefálico (TCE) representa una de las principales causas de discapacidad y muerte en niños y en adultos jóvenes [1]. La incidencia en España se estima en 200 nuevos casos anuales por cada 100.000 habitantes [2]. Según la estimación de la Organización Mundial de la Salud (OMS), es una de las cinco causas con mayor repercusión global sobre la sociedad. Los TCE ocasionan alteraciones motoras, sensitivas, cognitivas y emocionales que implican un cambio significativo en la vida de los pacientes y sus familias [3]. La neurorehabilitación es un proceso clínico complejo dirigido a restituir, minimizar y/o compensar las alteraciones, físicas y cognitivas, aparecidas en la persona afectada por una discapacidad como consecuencia de una lesión del sistema nervioso. Actualmente es el único medio para reducir el impacto de los déficits derivados de los TCE [4].

La rehabilitación funcional de la extremidad superior (ES) tiene por objetivo que los pacientes recobren la capacidad de realizar actividades relacionadas con la manipulación de objetos y de este modo puedan desarrollar una vida lo más autónoma posible. Las nuevas tecnologías de realidad virtual (RV) y monitorización pueden facilitar la personalización y generación de conocimiento [5,6].

El auge de las tecnologías de monitorización que utilizan sensores de movimiento de bajo coste, inicialmente concebidos para el entretenimiento (Microsoft Kinect®, Nintendo Wii®, EyeToy...), está promoviendo su uso en la creación de nuevas actividades de rehabilitación funcional basadas en sistemas de RV [5]. Este tipo de actividades ofrecen un componente lúdico más motivador para los pacientes, que se traduce en una mejora del rendimiento durante la ejecución de los ejercicios [7]. Mediante la monitorización en tiempo real de los movimientos que realiza el paciente se pueden obtener indicadores de proceso que permiten analizar con precisión el nivel de ejecución de cada ejercicio y adaptar la actividad a las necesidades del paciente.

Existen algunas experiencias del uso de la RV como complemento a la terapia tradicional en la creación de nuevos programas de rehabilitación para la recuperación funcional de la ES de los pacientes con TCE [8,9]. Una de las ventajas principales de estas terapias es la retroalimentación en tiempo real durante la realización de los movimientos, lo que ayuda a la recuperación de patrones motores en pacientes con alteraciones moderadas y a la disminución en las compensaciones en pacientes con alteraciones severas [9].

Este trabajo de investigación tiene por objetivo analizar la viabilidad del uso de nuevas tecnologías de monitorización e interacción de bajo coste para la creación de entornos virtuales de rehabilitación funcional de la extremidad superior que puedan ser utilizados en el tratamiento de pacientes con TCE. Para ello se diseñaron e implementaron dos actividades virtuales de rehabilitación que hacen uso de un dispositivo Ms Kinect como mecanismo de interacción. Una vez desarrolladas dichas actividades, se realizó una prueba de usabilidad en la que se comprobó la necesidad de utilizar dispositivos físicos de interacción que ofrezcan una experiencia de uso más adecuada. Tras ello se rediseñaron las actividades para que incluyeran este tipo de dispositivos y se realizó el diseño de dichos dispositivos.

2. Materiales y Métodos

El proceso de diseño y creación de los entornos virtuales de rehabilitación comenzó con un análisis de las actividades de rehabilitación utilizadas en el hospital Institut Guttmann. En primer lugar se identificaron las actividades que podrían ser adaptadas a un contenido multimedia y que el paciente podría realizar mediante dispositivos tecnológicos interactivos. Tras realizar este proceso, se identificaron 12 actividades que podían ser adaptadas. El siguiente paso fue seleccionar dos de estas actividades para su diseño e implementación. Las dos actividades escogidas fueron una actividad de coordinación bimanual y una actividad de disociación de dedos. A continuación se describen las dos actividades y el proceso seguido hasta disponer de sus respectivas versiones finales.

2.1. Actividad de coordinación bimanual

La actividad original de coordinación consiste en una actividad para la mejora de la coordinación bimanual en la que el paciente debe coger un disco con las dos manos y hacerlo encajar en un palo de madera. El palo central por el que se desplaza el disco tiene varios obstáculos (con formas similares a una obertura presente en el disco), por lo que el paciente debe girar el disco y conseguir colocarlo en la base. La adaptación de esta actividad consistió en la conversión del disco de madera en un volante usado para controlar un objeto móvil en el entorno virtual que emula un juego de conducción (Figura 1). La orientación y los movimientos que el paciente realiza con el volante determinan la dirección y la velocidad de movimiento del vehículo. Durante la ejecución de la actividad se presentan diferentes estímulos en el entorno virtual ante los que el paciente debe reaccionar.



Figura 1. Primer prototipo actividad coordinación bimanual.

Además del volante en sí, se diseñó y fabricó una base que sirviera de soporte al volante para aquellos pacientes a los que les resulte imposible sostener en el aire un dispositivo de estas características durante un periodo de tiempo prolongado (Figura 2).

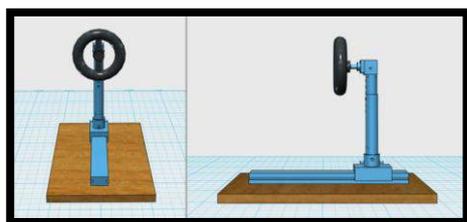


Figura 2. Diseño soporte del volante Actividad 8.

La tecnología de monitorización para realizar esta actividad en la primera versión consiste en sensores de

profundidad que permiten medir movimientos en diferentes planos (3 ejes de rotación y 3 ejes de translación), así una cámara RGB con la que detectar unos marcadores situados en el volante. El sistema de monitorización se encarga de controlar los siguientes aspectos:

- Monitorización de la orientación del volante y su posición en el espacio.
- Monitorización contacto manos-volante. El sistema debe detectar los agarres realizados por el paciente con cada una de sus manos.

2.2. Actividad de disociación de dedos

La actividad de disociación de dedos es una actividad que pretende estimular la movilidad de ambas manos mediante movimientos disociados de los dedos de cada mano. Para ello el paciente se encuentra sentado delante de una mesa en la que hay situado un teclado o piano. El paciente debe presionar las teclas adecuadas para reproducir un determinado patrón.

En la actividad original el paciente debe reproducir un patrón musical en un piano. En la actividad multimedia adaptada, el objeto de interacción es sustituido por un instrumento musical virtual. En la pantalla aparecerá el instrumento virtual y una representación de las manos del paciente que se adaptará a los movimientos que este realice. De este modo, el paciente podrá interactuar con el instrumento virtual de forma similar a como lo haría con un instrumento real. La actividad tiene como objetivos el mejorar la coordinación óculo-manual, los movimientos incoordinados/coreoatetósicos y el déficit cognitivo-conductual importante.

Para poder realizar esta actividad se deben cumplir las siguientes funcionalidades:

- Monitorización del movimiento de las manos y los dedos del paciente al ejecutar la actividad. Se debe poder monitorizar de forma precisa todos los movimientos que realice el paciente con sus manos.
- Se debe poder monitorizar la presión que el paciente ejerza sobre la superficie de referencia al ejecutar la actividad.

En la primera versión de esta actividad, la adquisición de datos se ha realizado con un dispositivo tipo Kinect. Para poder realizar la monitorización fina de las manos del paciente también se ha hecho uso del software de monitorización e interacción 3GearSystem [10]. Este software de control nos ofrece, mediante un proceso previo de calibración (cuyo resultado puede ser almacenado y empleado atendiendo a patrones antropométricos), la posibilidad de monitorizar 19 puntos anatómicos de cada mano.

El contenido virtual del primer prototipo de la actividad de disociación de dedos consta de 3 modalidades diferentes:

- Modo coordinación óculo-manual. En este modo se utilizan instrumentos de percusión que el paciente puede tocar con cualquier parte de la mano.

- El segundo modo se utiliza un xilófono con un tamaño de tecla relativamente grande y con una separación entre una tecla y otra considerable. El paciente tendrá que desplazar la mano para tocar la tecla indicada por el entorno multimedia.
- El tercer modo se diseña de manera que las manos permanezcan estáticas y únicamente se monitorice el movimiento de los dedos. El modelo utilizado corresponde al de las teclas de un piano (Figura 3).



Figura 3. Modo C de funcionamiento de la Actividad de disociación de dedos.

2.3. Pruebas con pacientes

Una vez implementada la primera versión de las actividades virtuales de rehabilitación se diseñó una prueba de concepto con pacientes. Los objetivos de esta prueba fueron: 1) conocer la opinión de los usuarios acerca de la facilidad de uso de las actividades, la facilidad de aprendizaje y la comprensión de indicaciones a seguir; 2) detectar las limitaciones existentes tanto en los dispositivos de interacción como en los contenidos virtuales; y 3) determinar los cambios que debían realizarse para mejorar las actividades implementadas. La prueba fue realizada por 4 pacientes con TCE. Además de la prueba con pacientes, también se realizó una prueba con 5 terapeutas externos al desarrollo, para que aportasen sus opiniones y sugerencias de mejora.

En cuanto a la ejecución de los pacientes, dos de ellos no presentaron grandes dificultades a la hora de interactuar con los entornos virtuales y pudieron ejecutar las actividades. Sin embargo, los otros dos, con graves problemas de orientación, tuvieron serias dificultades al ejecutar las actividades. A estos pacientes les resultó extremadamente complejo relacionarse con el entorno virtual de la actividad de disociación de dedos sin la ayuda de una referencia visual directa en la superficie de trabajo. También les costó relacionar sus movimientos con los realizados por los modelos en la RV.

En cuanto al entorno de coordinación bimanual, los pacientes se relacionaron mejor con el sistema de control gracias a disponer de un dispositivo físico de control, lo que les facilita una referencia háptica. Sin embargo, se observó dificultad a la hora de ejecutar las actividades cuando la velocidad de desplazamiento del vehículo era demasiado elevada o aparecían demasiados obstáculos en la pantalla. Además, los terapeutas que participaron en la prueba indicaron que podrían realizarse modificaciones en el diseño del dispositivo de control de modo que los pacientes ejercitarán en mayor medida los agarres y la coordinación de las manos. También se observó que utilizar la metáfora de un vehículo en esta actividad podría presentar una dificultad adicional en algunos

pacientes con TCE, cuya lesión se hubiera producido en un accidente de circulación.

3. Resultados

Tras la realización de las pruebas se comprobó que ambas actividades debían ser modificadas para poder satisfacer los objetivos establecidos inicialmente. A continuación se describen las actividades finales con las modificaciones realizadas.

3.1. Actividad coordinación bimanual

Tras las pruebas realizadas se decidió cambiar el diseño del dispositivo volante. Se decidió crear un nuevo dispositivo que permitiese realizar más variedad de agarres y con el que se pudieran realizar tareas de coordinación bimanual de mayor complejidad. Este nuevo modelo del mando adopta la forma de un timón con 6 agarres (Figura 4).



Figura 4. Diseño del dispositivo de control en forma de timón.

El nuevo dispositivo además contiene la electrónica necesaria para detectar los movimientos realizados por el paciente sin necesidad de marcadores. Para ello han usado los siguientes componentes:

- Acelerómetro: Módulo capaz de medir la aceleración en los ejes X, Y, Z.
- TinyDuino: Placa de desarrollo basada en el ATMEGA328P mismo procesador de las placas de desarrollo Arduino, pero con unas dimensiones más reducidas.
- Módulo bluetooth: Dispositivo de conexión inalámbrica que permite la transmisión bidireccional de información entre el dispositivo y la PC.

Además del cambio de dispositivo de control, también se decidió realizar un nuevo diseño del entorno virtual de la actividad. En esta nueva versión, se sustituyó la metáfora del coche por un juego de navegación en el que el paciente debe controlar una embarcación. Además, se diseñaron nuevos tipos de obstáculos que permitían una mayor variedad de escenarios posibles para la configuración de la actividad. El nuevo contenido virtual puede verse en la Figura 5.



Figura 5. Segunda versión entorno virtual coordinación bimanual

3.2. Actividad disociación de dedos

Una vez realizadas las pruebas se observó la necesidad de ofrecer a los pacientes de feedback háptico. Para ello se decidió diseñar un dispositivo que además pudiera servir para detectar la presión ejercida por los pacientes con los dedos. Se diseñaron varios prototipos de dispositivos de control que pudieran ajustarse a los modos de funcionamiento descritos anteriormente. Las figuras 6 y 7 muestran los dispositivos diseñados para los escenarios del xilófono y del piano respectivamente.



Figura 6. Prototipo B dispositivo control actividad de disociación de dedos

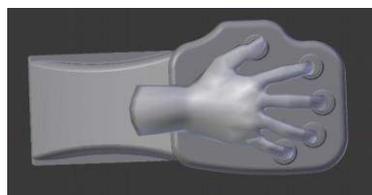


Figura 7. Prototipo C dispositivo control actividad de disociación de dedos.

Estos modelos contienen la electrónica necesaria para realizar la captura de la presión y la comunicación con la estación de rehabilitación. Además, disponen de leds luminosos que sirven de estímulo al paciente. Para el diseño del dispositivo de control se han utilizado los siguientes componentes:

- Sensor resistivo de fuerza: Componente capaz de medir la fuerza aplicada a través del cambio de su resistencia interna.
- Neo Pixels: Led RGB programable que incorpora un microcontrolador.
- TinyDuino: Placa de desarrollo basada en el ATMEGA328P.
- Módulo bluetooth.

En esta actividad los contenidos virtuales mantuvieron el mismo diseño que en la primera versión implementada, realizándose únicamente pequeñas modificaciones para permitir una mayor variedad de configuraciones en los ejercicios a realizar.

4. Conclusiones y discusión

Este trabajo ha mostrado la utilización de nuevas tecnologías para la creación de actividades de rehabilitación funcional basadas en entornos virtuales interactivos capaces de monitorizar y personalizar las terapias de neurorrehabilitación. De este modo se ha pretendido estudiar el potencial de dichas tecnologías a la hora de crear nuevas tareas de neurorrehabilitación funcional de la extremidad superior. Tras las pruebas iniciales y las mejoras desarrolladas, se ha podido

incrementar el nivel de interacción con orientación terapéutica durante la ejecución de las tareas virtuales de rehabilitación, lo que ayudará a una mejor recuperación de los pacientes que han sufrido un TCE.

Agradecimientos

Agradecemos al equipo investigador y al departamento de rehabilitación funcional del Hospital de Neurorrehabilitación Institut Guttmann por su inestimable colaboración en el desarrollo de la presente investigación. Esta investigación ha sido parcialmente financiada por la Universidad Politécnica de Madrid y por el proyecto Sensingtoys (ITP-2012-1063-300000) financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad. Esta investigación también ha sido posible gracias a la colaboración del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT).

Referencias

- [1] The Lancet Neurology. Traumatic brain injury: time to end the silence. *Lancet Neurol* 2010; 9:331.
- [2] Alvaro LC, Lopez-Arbolea P, Cozar R. Hospitalizations for acute cerebrovascular accidents and transient ischemic attacks in Spain: temporal stability and spatial heterogeneity, 1998-2003. *Rev Calid Asist* 2009; 24:16-23.
- [3] Laxe S, Tschiesner U, Zasler N, López-Blazquez R, Tormos JM, Bernabeu M. What domains of the International Classification of Functioning, Disability and Health are covered by the most commonly used measurement instruments in traumatic brain injury research? *Clin Neurol Neurosurg* 2012; 114:645-50.
- [4] Laxe S, Zasler N, Tschiesner U, López-Blazquez R, Tormos JM, Bernabeu M. ICF use to identify common problems on a TBI neurorehabilitation unit in Spain. *NeuroRehabilitation* 2011; 29:99-110.
- [5] Pietrzak E, Pullman S, McGuire A. Using Virtual Reality and Videogames for Traumatic Brain Injury Rehabilitation: A Structured Literature Review. *Games Health J* 2014; 3: 202-14.
- [6] Pérez R, Costa Ú, Torrent M, Solana J, Opisso E, Cáceres C, et al. Upper Limb Portable Motion Analysis System Based on Inertial Technology for Neurorehabilitation Purposes. *Sensors* 2010; 10:10733-51.
- [7] Chang YJ, Chen SF, Huang JD. A Kinect-based system for physical rehabilitation: A pilot study for young adults with motor disabilities. *Res Dev Disabil* 2011; 32:2566-70.
- [8] Dahl-Popolizio S, Loman J, Cordes C. Comparing outcomes of Kinect Videogame-Based occupational / physical therapy versus usual care. *Games Health J* 2014; p. 157-61.
- [9] Subramanian SK, Lourenco CB, Chilingaryan G, Sveistrup H, Levin MF. Arm motor recovery using a virtual reality intervention in chronic stroke: randomized controlled trial. *Neurorehabil Neural Repair* 2013; 27:13-23.
- [10] Página web 3GearSystem. <http://www.threegear.com/latest/doc/handModel.html>. (Consultada: Septiembre 2014)

Diseño y desarrollo de un sistema de evaluación de déficits atencionales en pacientes con DCA mediante técnicas de eye-tracking

J. Solana Sánchez^{1,2}, A. García Molina³, C. Aparicio López³,
T. Roig Rovira³, J.M. Tormos Muñoz³, E.J. Gómez Aguilera^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación (UPM), Madrid, España
{jsolana, egomez}@gbt.tfo.upm.es

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

³ Instituto Universitario de Neurorehabilitación Guttmann-UAB, Barcelona, España,
{agarciam, caparicio, troig, jmtormos}@guttmann.com

Resumen

El objetivo principal de este trabajo es el diseño e implementación de una herramienta que permita la evaluación de déficits atencionales en pacientes con Daño Cerebral Adquirido (DCA), integrando un dispositivo de eye-tracking en una tarea de rehabilitación por ordenador.

La tarea utilizada para la evaluación de déficits atencionales ha sido definida por expertos neuropsicólogos del Institut Guttmann, y consiste en una secuencia de pantallas donde se muestran parejas de imágenes, que pueden ser idénticas o bien presentar alguna mínima diferencia. El usuario deberá responder en cada pantalla si las imágenes son iguales o no hasta completar el total de 30 pantallas. Además, el dispositivo de eye-tracking integrado nos aportará información sobre la atención visual, sabiendo en todo momento dónde mira el usuario y cuál es su estrategia para buscar y encontrar las diferencias. En este trabajo se presentan los resultados preliminares tras analizar la ejecución de 18 sujetos control utilizados para validar el entorno de monitorización. Aparte de analizar dónde fijan los usuarios su atención visual, se ha analizado el tiempo de respuesta y, por último, si se produce algún tipo de aprendizaje a lo largo de la tarea.

1. Introducción

El término Daño Cerebral Adquirido (DCA) hace referencia a una lesión súbita producida en las estructuras cerebrales que hasta el momento habían tenido un desarrollo y funcionamiento normal [1]. Como consecuencia, son numerosas las alteraciones que se experimentan, tanto físicas (motoras y sensitivas) como neuropsicológicas (cognitivas, conductuales y emocionales) [2]. Algunos de estos déficits no resultarán evidentes, como problemas de concentración, pérdida de memoria, dificultad de aprendizaje, fatiga, ansiedad, irritabilidad, trastornos del sueño, impulsividad o problemas de organización [3]. De entre todos ellos, la atención sería un pilar clave en el establecimiento de nuevos aprendizajes y un buen indicador de retorno a la vida cotidiana, siendo de esperar que déficits en este mecanismo impliquen una dificultad a la hora de elaborar espacios de enseñanza y programas de entrenamiento.

Por otro lado, la neurorehabilitación es un complejo proceso médico cuyo fin es conseguir una recuperación del sistema nervioso tras una lesión del mismo, y al mismo tiempo minimizar y compensar cualquier

alteración funcional de éste [4]. Para que el proceso rehabilitador tenga éxito, es imprescindible poder evaluar las capacidades cognitivas que tiene afectadas el paciente, de manera que sepamos cuáles son las funciones que se han de rehabilitar. La exploración neuropsicológica [5] tiene como principal finalidad evaluar los déficits cognitivos para así fijar los objetivos de la rehabilitación y diseñar el programa terapéutico. Si bien estos objetivos van más allá de la mera evaluación y elaboración de un diagnóstico, los instrumentos utilizados en rehabilitación continúan siendo, en la mayoría de casos, los tests utilizados tradicionalmente para la detección de posibles déficits cognitivos [6]. Las medidas objetivas permiten explorar las dimensiones cognitivas que subyacen al comportamiento, resultando imprescindibles para conocer la naturaleza de estos déficits. De ahí la importancia que cobra la tecnología a la hora de aportar información objetiva útil para ayudar en la manera de lo posible al neuropsicólogo en el proceso de diagnóstico.

Por otra parte, eye-tracking es un término que hace referencia a un conjunto de tecnologías que permiten monitorizar y registrar la forma en la que una persona mira una determinada escena o imagen, concretando las áreas en las que fija su atención [7]. Esta técnica permite almacenar datos por medio de un eye-tracker, un dispositivo que sirve para medir las posiciones y el movimiento del ojo. Por ello, estas técnicas tienen un gran potencial de aplicación en una amplia variedad de disciplinas y áreas de estudio, desde el marketing, la publicidad y los estudios de usabilidad, hasta los sistemas de interacción persona-ordenador y la investigación médica y psicolingüística. En todas estas clases de estudios, el objetivo fundamental es determinar la forma en la que el usuario explora visualmente la interfaz a través de la que interactúa con el sistema [8]. Cuando el rol de la aplicación es el diagnóstico, el eye-tracker proporciona evidencias objetivas y cuantitativas de los procesos visuales y atencionales.

Llevando a cabo una revisión de la literatura científica, podemos comprobar cómo el uso de tecnologías de eye-tracking en campos afines a la neurorehabilitación es común. Así, tenemos diferentes estudios específicos que tratan de comprender los procesos cognitivos [9,10], estudios de patologías y enfermedades muy relacionados

con la atención como el autismo [11], o, en el caso del DCA, como medio de interacción alternativo con pacientes con alto grado de discapacidad física [12].

Este trabajo se fundamenta en la posibilidad de estudiar las estrategias atencionales en cada persona, en condiciones de normalidad y cuando se altera, a partir del estudio de sus movimientos oculares. Distintos estudios [15] demuestran cómo los movimientos oculares y las respuestas pupilares se consideran indicios de la carga de trabajo mental durante tareas de búsqueda visual. También se han descrito métodos [16] para identificar el estado cognitivo del sujeto, utilizando únicamente información de los movimientos oculares. En un estudio [13] realizado por la Universidad de Miami, se muestra como estas técnicas pueden utilizarse para monitorizar la atención con personas que sufren ansiedad interpersonal. También se ha utilizado para demostrar una alteración en la dirección de la atención en casos de autismo [14]. De este modo, dependiendo del tipo de déficit o daño que afecte a cada paciente, podemos pensar que la forma con que éste percibe diferentes tipos de estímulos será distinta. Una correcta comprensión de esta relación entre inspección visual y déficit cognitivo puede suponer un paso muy importante a la hora de objetivar el diagnóstico, permitiendo una mayor personalización de los procesos rehabilitadores, de forma que cada paciente sea estimulado de manera óptima para potenciar así la eficacia de su tratamiento. Además, la posibilidad de identificar estrategias de búsqueda inadecuadas, antes de producirse una respuesta incorrecta, permitiría presentar estímulos correctores, acelerando los procesos de rehabilitación, aplicando las teorías del aprendizaje libre de errores.

2. Objetivos

El objetivo final de este trabajo de investigación es la mejora del proceso de diagnóstico de déficits atencionales en pacientes con DCA, mediante la integración de una tarea por ordenador (la tarea denominada Diferencias) con un sistema de eye-tracking que permite la monitorización de la atención visual. Concretamente, en este trabajo se presentan los resultados obtenidos tras un análisis preliminar de los resultados obtenidos por 18 sujetos control sanos. Tras esta primera fase, se llevará a cabo un estudio con pacientes de DCA que nos permitirá validar clínicamente el sistema y obtener conclusiones sobre la viabilidad del entorno de monitorización como método de evaluación de déficits atencionales.

3. Materiales y Metodología

3.1. Eye-tracker Tobii 1750

Para el desarrollo del entorno de monitorización utilizado se ha integrado el eye-tracker Tobii 1750 (Figura 1) con una tarea por ordenador específicamente diseñada. El dispositivo de eye-tracking utilizado se conecta directamente al ordenador como una pantalla externa de 17". Cuenta con diodos infrarrojos a ambos lados de la parte inferior para generar patrones de reflexión en la córnea del usuario, de modo que pueda realizar una mejor

segmentación de las pupilas. Esta segmentación, junto con otra información visual sobre el usuario, es recogida por una cámara situada en la zona central inferior de la pantalla. El dispositivo calcula la posición del foco de la mirada del usuario en la pantalla mediante algoritmos de procesamiento de imagen, así como el diámetro de la pupila y la distancia del usuario al monitor. El sistema funciona a una frecuencia de muestreo de 50Hz.

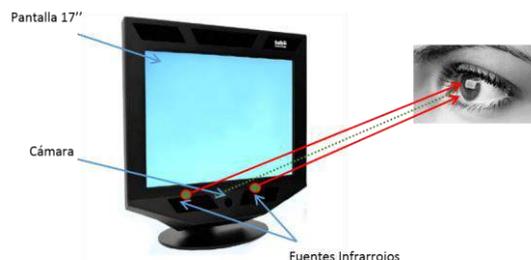


Figura 1. Eye-tracker Tobii 1750

3.2. Guttman, Neuro Personal Trainer®

Guttman Neuro Personal Trainer® (GNPT) es un sistema de neurorrehabilitación que consta de dos componentes principales [17]: por un lado, una aplicación web para la gestión de usuarios y sus terapias, donde el terapeuta planifica las sesiones de rehabilitación mediante la asignación de tareas; y por otro, una aplicación de escritorio Java que usan los pacientes para la ejecución de tareas y que envía los resultados al servidor. Siguiendo su arquitectura y modelo de diseño se ha implementado la tarea utilizada en este estudio, denominada *Diferencias*, y que ha sido específicamente diseñada por expertos neuropsicólogos del Institut Guttmann.

3.3. Tarea Diferencias

La tarea consiste en una serie de pantallas en la que se muestran dos imágenes, una en la parte superior y otra en la parte inferior. Estas imágenes pueden ser idénticas (denominados neutros) o contener una mínima diferencia (denominados modificados), preguntándole al usuario en cada pantalla si son iguales o no, hasta completar el total. El número total de pantallas (de parejas de imágenes) es 30. Las imágenes se muestran centradas en la pantalla, una encima de la otra, pudiendo ser una cara o un reloj. Las imágenes permanecen un máximo de 30 segundos en pantalla; si el usuario no responde dentro de este tiempo, se contabilizará como omisión.

En la Figura 2 se muestran dos ejemplos de capturas de pantalla de la tarea, ambas con imágenes modificadas:

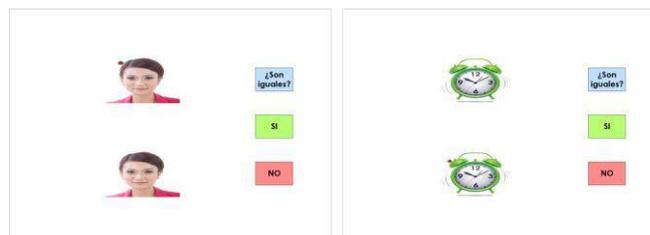


Figura 2. Tarea Diferencias; a) estímulo cara; b) estímulo reloj

Asimismo, se han definido tres listas de presentación de imágenes diferentes (L1, L2 y L3), que van combinando

imágenes idénticas (neutras) o con algún cambio en la imagen superior o en la inferior (nunca en las dos al mismo tiempo). Todas las listas tienen 24 pantallas con estímulos modificados y 6 con estímulos neutros, variando únicamente el orden de presentación entre ellas y la posición donde aparece la imagen modificada (arriba o abajo).

Cada prueba se inicia con un proceso de calibración de 9 puntos, de manera que el eye-tracker se ajuste a las características específicas de cada sujeto (para evitar errores y anomalías debidas a una mala precisión de las medidas).

4. Resultados y discusión

El entorno de monitorización ha sido validado técnicamente con 18 sujetos control sin déficits atencionales, con un rango de edades comprendido entre los 21 y los 36 años (media de 27 años). De ellos, participaron 5 mujeres (27,78%) y 13 hombres (72,22%).

A continuación se describen cada uno de los parámetros de análisis en los que se ha centrado este estudio preliminar.

4.1. Tiempo de respuesta

Se ha medido el tiempo de reacción del sujeto desde que aparecen las imágenes hasta que hace clic en la respuesta, en función de: la lista presentada (L1, L2 o L3) (Tabla 1), o el tipo de estímulo, comparando entre cara y reloj por un lado, y, por otro, si los estímulos eran neutros o modificados (Figura 3).

Tiempo medio (seg.)	L1	L2	L3
Respuesta por pantalla	1,13	1,99	1,14
Realización total de la tarea	33,96	59,60	36,03

Tabla 1. Tiempos de respuesta según la lista mostrada

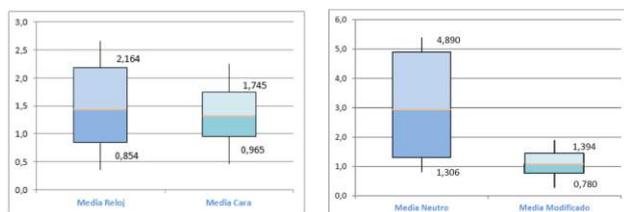


Figura 3. Diagramas box-plot: a) Reloj Vs Cara; b) Neutro Vs Modificado

Como se puede apreciar, mientras que los tiempos de la L1 y L3 son muy parecidos, los de la L2 son considerablemente más altos. Esto se debe a factores que influyen en un retraso de la respuesta, como la inexperiencia en el uso de la tarea y el hecho de tener que enfrentarse a estímulos neutros; la diferencia en estímulos modificados es muy evidente (una cereza colocada sobre la imagen). La L2 presenta al usuario mayor número de estímulos neutros al principio, lo que hace que el usuario se esfuerce en buscar una diferencia que no existe.

Observando la Figura 3, vemos cómo la distribución de tiempos de reacción cuando se presentan relojes tiene una mayor variabilidad, ya que la imagen de un reloj tiene

más detalles que pueden ser modificados, por ejemplo un cambio de hora, de agujas, de números... y los sujetos emplean más tiempo buscando diferencias que no existen.

Sin embargo, la diferencia es considerablemente mayor en la gráfica 3b, no sólo en la variabilidad de la distribución sino también en el valor medio del tiempo de respuesta (3 órdenes superior), en la que vemos cómo los sujetos responden mucho antes cuando hay una imagen modificada. La explicación se basa en que tras el segundo estímulo modificado, el sujeto empieza a comprender que el elemento diferenciador entre ambas imágenes es una cereza, y por tanto en cuanto la distinga en cualquiera de las dos imágenes, comprobará que la otra no la tiene y responderá que no son iguales. Por el contrario, cuando ambas imágenes son idénticas, los sujetos pueden pensar que no han buscado lo suficiente y por ello tardarán más en asegurarse de que las dos imágenes sean iguales antes de responder. Es decir, como le pedimos que busque diferencias, quiere cerciorarse de que son exactamente iguales.

4.2. Aprendizaje

Este análisis se centra en comprobar si a lo largo del desarrollo de la tarea disminuye el tiempo de reacción, ya que esto implicaría que la persona se va adaptando a la tarea y aprendiendo. Es decir, que la persona es capaz de almacenar la información necesaria (en forma de memoria visual) consiguiendo reducir los tiempos de procesamiento y fijación. Para facilitar la representación, se ha dividido cada ejecución de la tarea en 6 tramos temporales (cada uno de cinco pantallas). La Figura 4 muestra la evolución temporal del tiempo de respuesta para cada una de las 3 listas (azul) y la media del total de ejecuciones (naranja):

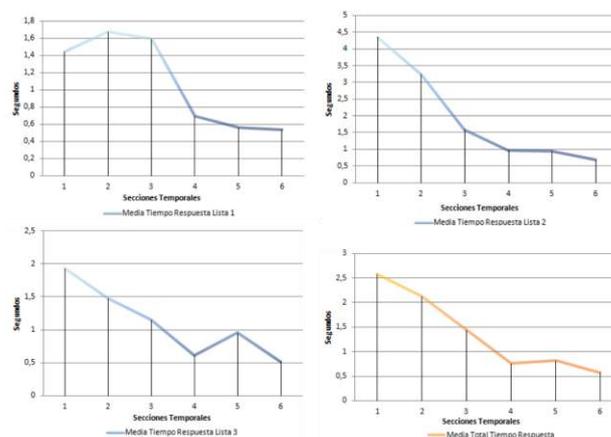


Figura 4. Curvas de aprendizaje: a) L1; b) L2; c) L3; d) Media

Se puede observar gráficamente un aprendizaje a lo largo del transcurso de la tarea, significativamente más marcado para la L2, ya que al principio es cuando se muestran más pantallas neutras. Se demuestra que los sujetos sanos experimentan una adquisición de conocimiento del funcionamiento de la tarea a través de la experiencia, reduciendo así los tiempos de reacción de sus respuestas.

4.3. Análisis de las fijaciones

Se han estudiado las posibles diferencias entre patrones de búsqueda ante estímulos neutros y modificados, analizando también si existe una evolución a lo largo de

la tarea. Para ello, se obtienen gráficas como la que se muestra en el ejemplo de la Figura 4:

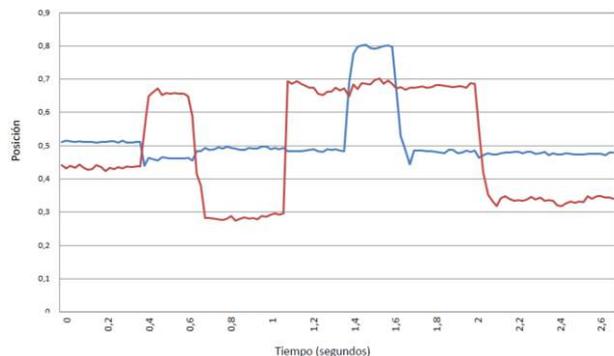


Figura 5. Coordenada X (azul) e Y (rojo) de la mirada de la pantalla capturadas por el eye-tracker

Combinando esta información con el cálculo de la posición de las fijaciones en la pantalla (posiciones donde el usuario centra su atención), vemos cómo los usuarios centran su atención donde están las imágenes (valores en torno a 0,5 de las X) y en el área donde aparecerán tanto la pregunta como las posibles respuestas (valores de 0,8 de las X); en contraposición, se aprecia mayor variabilidad en el eje Y, dirigiendo su mirada arriba y abajo buscando la diferencia entre las imágenes.

También podemos analizar cuantitativamente el número de fijaciones para cada imagen estímulo, y vemos cómo cuando la pantalla es modificada, la imagen de la cereza llama más su atención; asimismo, también se observa cómo en el caso de estímulos neutros el número de fijaciones en ambas imágenes es mucho mayor en comparación con el número de fijaciones realizadas en los estímulos modificados.

5. Conclusiones y trabajos futuros

Este trabajo presenta el diseño e implementación de un entorno de monitorización de atención visual, específicamente diseñado para evaluar déficits atencionales en pacientes con Daño Cerebral Adquirido. Tras un estudio preliminar con 18 sujetos control, se ha validado técnicamente el entorno, demostrando que somos capaces de detectar patrones de inspección visual, así como registrar tiempos de reacción y analizar aprendizajes, dependiendo del tipo de estímulo presentado en cada pantalla de la tarea (modificados o neutros). De cara a un estudio futuro con pacientes de DCA, se ampliará también la muestra de sujetos control, así como su variabilidad en cuanto a edad y género. Comparando los resultados obtenidos por ambos grupos de usuario, el objetivo principal será la validación clínica del entorno, determinando su utilidad para la evaluación de déficits atencionales.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad en el marco del Proyecto de investigación COGNITIO (TIN2012-38450), así como el proyecto NeuroChild (RTC-2014-2228-1) del programa Retos-

Colaboración. También agradecemos a los alumnos Ana Bermejo y Álvaro Navarro por el trabajo desempeñado.

Referencias

- [1] FEDACE (2015), Federación de asociaciones de Daño Cerebral Adquirido. <http://fedace.org/> (septiembre 2015).
- [2] García-Molina, A., Roig-Rovira, T., Enseñat-Cantalops, A., & Sánchez-Carrión, R. (2014). Neuropsicoterapia en la rehabilitación del daño cerebral. *Revista de neurología*.
- [3] García-Molina, A., Roig-Rovira, T. (2013). Ideas erróneas sobre rehabilitación neuropsicológica y traumatismo craneoencefálico. *Cuadernos de Neuropsicología Panamerican Journal of Neuropsychology*, 7(2).
- [4] Solana, J., et al. (2015). Improving Brain Injury Cognitive Rehabilitation by Personalized Telerehabilitation Services: Guttman Neuro Personal Trainer. *Biomedical and Health Informatics, IEEE Journal of*, 19(1), 124-131.
- [5] Molina, A. G. (2011). Validez ecológica de la telerehabilitación cognitiva para el tratamiento de la disfunción ejecutiva en el traumatismo craneoencefálico moderado y grave (Doctoral dissertation).
- [6] Chaytor, N., Schmitter, M. (2003). The ecological validity of neuropsych. tests: A review of the literature on everyday cognitive skills. *Neuropsychology review*, 13(4), 181-197.
- [7] Duchowski, A. (2007). *Eye tracking methodology: Theory and practice* (Vol. 373). Springer Science & Business Media.
- [8] Y. Hassn, V Herrero. Eye-Tracking en Interacción Persona-Ordenador, No solo usabilidad: revista sobre personas, diseño y tecnología, 2007. (septiembre 2015): <http://www.nosolousabilidad.com/articulos/eye-tracking.htm>
- [9] Marshall, S. P. (2007). Identifying cognitive state from eye metrics. *Aviation, space, and environmental medicine*, 78(Supplement 1), B165-B175.
- [10] Kaller, C. P., Rahm, B., Bolkenius, K., & Unterrainer, J. M. (2009). Eye movements and visuospatial problem solving: Identifying separable phases of complex cognition. *Psychophysiology*, 46(4), 818-830.
- [11] Riby, D. M., & Hancock, P. J. (2009). Do faces capture the attention of individuals with Williams syndrome or autism? Evidence from tracking eye movements. *Journal of autism and developmental disorders*, 39(3), 421-431.
- [12] Trojano, L., Moretta, P., & Estraneo, A. (2009). Communicating using the eyes without remembering it: cognitive rehabilitation in a severely brain-injured patient with amnesia, tetraplegia and anarthria. *Journal of rehabilitation medicine*, 41(5), 393-396.
- [13] C. Marker (2010). Eye tracking clarifies attentional bias of people with social anxiety. Department of Psychology, University of Miami. (Sept 2015): <http://www.tobii.com>.
- [14] Freeth, M., et al. (2011). The influence of visual saliency on fixation patterns in individuals with Autism Spectrum Disorders. *Neuropsychologia*, 49(1), 156-160.
- [15] Baks, R. W., Walrath, L. C. (1992). Eye movement and pupillary response indices of mental workload during visual search of symbolic displays. *Applied ergonomics*, 23(4), 243-254.
- [16] Marshall, S. P. (2007). Identifying cognitive state from eye metrics. *Aviation, space, and environmental medicine*, 78(Supplement 1), B165-B175.
- [17] Solana, J., et al. (2015). Improving Brain Injury Cognitive Rehabilitation by Personalized Telerehabilitation Services: Guttman Neuropersonal Trainer. *Biomedical and Health Informatics, IEEE Journal of*, 19(1), 124-131.

PsychoLAB: A Psychophysics experimental setup to measure electrode discrimination in Nucleus (c) cochlear implant recipients

MT Pérez Zaballos^{1,2}, A Ramos de Miguel^{2,3}, A Ramos Macías^{1,2}, M Killian⁴

¹ Departamento de CC Médicas y Quirúrgicas, Universidad de Las Palmas de GC, Las Palmas de GC, España, mtperezaballos@gmail.com

² Servicio de Otorrinolaringología, Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil, Las Palmas de GC, España.

³ Departamento de Discretización y aplicaciones, Universidad de Las Palmas de GC, Las Palmas de GC, España.

⁴ Cochlear Technology Center, Mechelen, Belgium.

Abstract

Cochlear implants provide hearing percepts to their users by electrical stimulation of the auditory nerve. For this, current implants contain multi-channel electrode arrays with electrodes placed inside the Scala Tympany of the cochlea. Each electrode is dedicated to a different frequency band, starting from high frequencies in the base of the cochlea to low frequencies in the apex. This approach provides users with appropriate spectral information following the physiological tonotopy on the perceptual independence of the stimuli delivered to the electrodes. To study the electrode independence we have developed a psychophysical setup making use of Nucleus Implant Communicator (NIC) tools provided by Cochlear company under a research agreement. In this paper we describe this psychophysical application, which allows customization of electrical pulse parameters, measurement of threshold and comfort levels, loudness balancing and alternative forced choice experiments to determine electrode discrimination in Nucleus (c) users. The application is called PsychoLAB and takes care of automatic stimulus presentation and collection of responses by the subject thus eliminating the need for programming knowledge.

1. Introduction

Psychophysical research in cochlear implants requires computer applications to control provision of stimuli and collection of responses by the test subject. To setup an experimental application the researcher needs to be a skilled programmer. Many scientists in the field have turned to MATLAB (The Mathworks Inc., Natick, MA) as a programming tool because it has intuitive command programming and an environment that allows for visualization of the processing process in a script-based language so that users can analyze arbitrary signals with relative ease. However, this approach to experiment design requires time before someone can program with enough fluency to design a full experiment.

There are various research platforms available that have been designed specifically to reduce the amount of programming needed to build acoustical psychophysical

experiments. These are very complete and versatile tools that allow the researcher to design virtually any experiment on acoustical auditory psychophysics but do not allow for electrical stimulation experiments.

Examples of psychoacoustic software packages include DMDX, Paradigm, Alvin and AUX. DMDX is a Windows-based program designed primarily for language-processing experiments. It uses the features of Pentium class CPUs and the library routines provided in DirectX to provide accurate timing and synchronization of visual and audio output [1]. Paradigm allows the user to present those stimuli under different psychophysical paradigms (simple identification, identification with a rating scale, oddity task, etc). For discrimination tests, both high uncertainty (roving designs) and minimal psychophysical uncertainty (fixed designs) procedures are available. All the relevant time intervals can be precisely specified, and feedback is also available. Response times can be measured as well [2]. Alvin can be used for performing such routine tasks as controlling listening experiments (e.g., simple labelling, discrimination, sentence intelligibility, and magnitude estimation), recording responses and response latencies, analysing and plotting the results of those experiments, displaying instructions, and making scripted audio-recordings. The software runs under Windows and is controlled by creating text files that allow the experimenter to specify key features of the experiment such as the stimuli that are to be presented, the randomization scheme, inter-stimulus and inter-trial intervals, the format of the output file, and the layout of response alternatives on the screen [3]. Finally, AUX is a syntax module and can be adopted by other software tools that offer desirable graphical user interfaces (GUIs), or to be incorporated in other auditory research tools [4].

APEX a software application build and distributed under contract by the Experimental Audiology Department in Leuven that supports psychoacoustic experiment design for acoustical and electrical hearing through a cochlear implant or the combination of both[5]. In APEX, the

actual experiments are designed in XML format by the investigator [6].

This paper describes the setup of an electrode discrimination psychophysical experiment and informs audiologists about the possibilities to conduct psychophysics tests through the creation of their own applications to work towards better understanding of the psychophysics of electrical hearing.

To achieve this objective, a platform that could be controlled exclusively through a graphical interface was developed, where pulse parameters are entered in purpose-designed cells and loudness balance and alternative-forced-choice experiments are already built in.

2. Platform design

The present Psychoacoustic Research Platform was designed using the Nucleus Implant Communicator (NIC) library for Python (Python Software Foundation, v2.3). NIC is a research tool developed by Cochlear LTD and allows researchers to build applications to control the electrical stimuli delivered by the intracochlear electrodes of Nucleus Cochlear implants.

Visual Studio (Microsoft Corp. Visual Studio Community 2013) was used to design the researcher and patient interfaces and collect information about the connection state of the implant. Python scripts control the implant receiver/transmitter by sending instructions to a dedicated cochlear implant research sound processor. The supplied processor connected to a computer via a USB port. Thus, a file-based communication system was established.

The application supports the three steps required to perform a psychoacoustic experiment: 1) stimulus definition, 2) experimental procedure and 3) analysis of the results.

The data base has been arranged in such a way that a patient can be assigned to a range of psychoacoustic tests that are controlled by the investigator and test setup and outcomes allocated to an individual patient. For each patient, the user can define multiple tests. Testing generally starts with obtaining Threshold and Comfort levels and loudness balance testing and ends with alternative forced choice (AFC) experiments.

3. Procedure

When the application is started by the clinician/investigator an initial page (figure 1) opens with the choice to insert a new patient or view an existing one. On this page there is an indicator of the communication with the processor (connected/not connected) for safety reasons. It will inform the user of the correct communication between the device and the application.

Selecting the option *Insert Patient* opens the window in Figure 2, where various demographic and clinical data can be inserted: date of birth, date of implantation, date of



Figure 1. Start page. From here, a new patient can be introduced or an existing one selected. On the bottom left corner a connection indicator shows the connection state of the implant.

deafness, sex, etiology, type of implant and type of processor and tinnitus. The Comfort (C) and Threshold (T) level values from their standard map can also be inserted. Finally, the location of the electrodes with respect to the modiolus can also be noted down as perimodiolar, mid-modiolar and lateral wall-type electrodes. The reason why individual positions should be taken is because even for perimodiolar electrode arrays, there are regions, such as that close to the insertion region, where the electrode is likely to be further away from the modiolus than its name would suggest. This is done by measuring individual electrode distance from the modiolus using a CT scan.

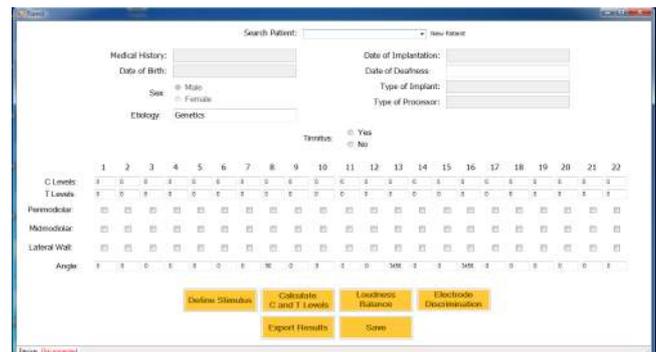


Figure 2. Existing Patient. Demographic, implant and hearing data are displayed. Tests can be accessed by selecting the appropriate buttons.

Once the patient has been saved, the *Existent Patient* window replaces the *New Patient*. This is a window where the same information is displayed, but now the user can select the different tests to perform the study: define stimulus, calculate C and T levels, Loudness Balance and Electrode discrimination. The user needs to define a stimulus before the experiment can proceed by clicking on *Define Stimulus*. The stimulus used for the test (Figure 3) is set in the software using the following parameters: stimulation mode, stimulus duration, inter-stimulus interval, pulse phase and gap durations and pulse frequency. The stimulus consists of a train of electrical biphasic pulses repeated at a frequency specified by the pulse rate option. Stimulation mode refers to the type of ground electrode used, which can be the reference electrode that Cochlear implants have located in the mastoid region, the internal processor case or a combination of the two. Since this is a biphasic pulse,

pulse phase defines the duration of each phase and the gap indicates the time lapse between them (where the pulse remains at zero intensity). The inter-stimulus interval refers to the resting time between two stimulus. These settings will be kept constant during the three steps of the study.

3.3. Threshold (T) and Comfort (C) levels

The T and C levels of each electrode are determined for each specific stimulus as seen in Figure 4. The first is calculated using the *up-down* method, in which a stimulus is presented with progressively higher intensity until the patient can hear it and then it is brought back down again using smaller intensity steps until it is no longer heard. To find the upper end of comfortable loudness, the stimuli are presented in small rising steps until the patient reports discomfort (not pain).

In this part of the test, a new map can be created or a previous session can be loaded selecting one from the *Load Session* scroll. Should two stimuli be used in an experiment, two independent maps must be created, selecting one stimulus each time.

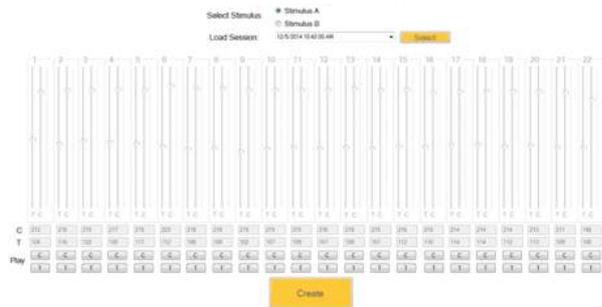


Figure 3. C and T levels view. The C and T levels are defined for stimulus A or B using the up-down method.

3.4. Loudness Balance of All Electrodes

Once the C and T levels have been defined, the *Loudness Balance* button is activated. In the view shown in Figure 5, the different elements that can be configured for balancing electrodes can be seen. In principle, the software allows comparisons of an electrode with a maximum of 21 others. In addition, one can select the stimulus to be used (A or B) and the percentages of DR intensity that they will be sent with. On the other hand, it also allows setting the number of times that one electrode will be compared to another (repetitions).

The chosen method to loudness balance all electrodes was the confluence method. The patient is presented two stimuli, the first corresponding to a reference electrode, and the second to a test electrode whose intensity will be varied. The latter begins randomly above or below 10% of the DR. In the window in figure 6, the patient indicates which one sounds louder and the intensity of the test electrode will be lowered or risen appropriately. When both electrodes yield equal loudness sensations, the patient has to state that they sound equal and the *equal* button is pressed. In this case the stimulus is repeated with the same settings to confirm that the patient perceives them as equal. Then the system will

automatically start again but with the test electrode being 10% different in the opposite sense. Once completed, the value of the test electrode is calculated as from the average of the two approaches: starting above or below the reference electrode intensity.



Figure 4. Loudness Balance view. After selecting which stimulus and at which percentage of the DR to work with, this test serves to level the intensity of all electrode through a confluence method.

Figure 5. Patient view in the loudness balance test. The patient needs to specify which of the two consecutive sounds sounds louder or if they are equal.

Now the value will be stored and the tested electrode can be selected as reference electrode for the next adjacent one and the same procedure takes place. The platform is versatile, so any electrode can be initially set as reference and, should it not have been tested, the system will automatically assign to it the DR selected.

3.5. Electrode Discrimination Test

Electrode discrimination is measured using a three-interval, forced-choice procedure (3FC). Two of the stimuli come from the reference electrode and a third one from the signal electrode. They are presented in random order. The patient has a user interface with three buttons corresponding to stimulus 1 to 3 and has to select the one that sounds different. Each test electrode is presented the number of times stated in the *Number of Repetitions* scroll. The researcher will select a reference electrode and a number of electrodes to compare it with. This range can be symmetrical in both sides of the reference electrode, except in the extremes of the array, where they will have to be distributed unevenly towards the inner side. Results are given as percentage correct scores.

Figure 6. *Electrode discrimination view. First stimulus, rooving and DR percentage need to be specified. Then the electrode to act as reference and the electrodes to test are selected before the test starts. Using the 3FC method, discrimination ability as a function of electrode distance from the reference is obtained.*

4. Conclusion

PsychoLAB is an experimental software for conducting psychoacoustic experiments on electrode discrimination. The basic variables and psychophysical procedures can be adjusted and the three basic steps necessary to conduct electrical stimulation experiments are implemented. It can send pulse sequences to cochlear implants from the manufacturer Cochlear LTD and control streaming.

The side benefits of PsychoLAB are to relieve psychoacoustic researchers of the burden of programming in C, Python or MATLAB, which would otherwise be necessary to generate and analyze stimulus signals. However, the application is experimental and can only be used by professionals who are trained on the application and have signed a NIC agreement.

Acknowledgments

The authors would like to thank Jan Poppelier, from Cochlear Technological Centre for its help with the use of the NIC library.

References

- Forster KI, Forster JC. DMDX: A Windows display program with millisecond accuracy. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*. 2003;35(1):116-124.
- Lopez-Bascuas LE, Marín CC. A software tool for auditory and speech perception experimentation. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*. 1999;31(2):334-340.
- Hillenbrand JM, Gayvert RT. Open source software for experiment design and control. *Journal of Speech Language and Hearing Research*. 2005;48(1):45-60.
- Kwon BJ. AUX: A scripting language for auditory signal processing and software packages for psychoacoustic experiments and education. *Behavior research methods*. 2012;44(2):361-373.
- Geurts L, Wouters J. A concept for a research tool for experiments with cochlear implant users. *Journal of the Acoustical Society of America*. 2000;108(6):2949-2956.
- Laneau J, Boets B, Moonen M, van Wieringen A, Wouters J. A flexible auditory research platform using acoustic or electric stimuli for adults and young children. *Journal of Neuroscience Methods*. 2005;142:131-136.

Valoración del control motor de la extremidad superior de sujetos con DCA basada en la automatización del test Fugl-Meyer en Neurorehabilitación funcional

M.A. Villán-Villán^{1,2}, C. Gómez³, R. Pérez-Rodríguez^{1,2}, E. Opisso³, J.M. Tormos³, J. Medina³, E.J. Gómez^{1,2}

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

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

³ Instituto Universitario de Neurorehabilitación Guttmann-UAB, Barcelona, España, {cgomez, eopisso, jmtormos, jmedina}@guttmann.com

Resumen

Esta investigación propone la valoración objetiva del control motor de la extremidad superior (ES) de pacientes con Daño Cerebral Adquirido (DCA) en neurorehabilitación funcional, basada en la automatización de las pruebas de la evaluación Fugl-Meyer (FM). El objetivo principal de este trabajo es calcular una medida objetiva, puntuando de forma automática cada prueba FM con el fin de indicar el nivel de la función motora y reflejar el grado de similitud entre el movimiento de la ES de sujetos sanos y sujetos con DCA. Para tal fin se usa un modelo biomecánico de la ES de 9 grados de libertad, se crean modelos cinemáticos sanos de referencia, se calculan y puntúan los parámetros de movimiento y por último se realiza el cálculo de la puntuación por prueba FM entre 0 y 2. Se registran 7 sujetos con DCA y 42 sujetos sanos obteniendo una medida objetiva del control motor de la ES en 8 pruebas de la evaluación FM. Los resultados obtenidos indican que la automatización de FM puede ser una herramienta útil para la valoración del movimiento de la ES de sujetos con DCA.

1. Introducción

El Daño Cerebral Adquirido (DCA) es uno de los problemas de salud de mayor relevancia en los países desarrollados, debido a las secuelas motoras, cognitivas, socioeconómicas, entre otras, que transforman la vida de los pacientes en los ámbitos laboral y familiar. Las causas del DCA pueden ser traumáticas (accidentes de coche, caídas, etc.) y no traumáticas (tumores cerebrales, infecciones, etc.), siendo las más comunes el Traumatismo Craneoencefálico (TCE) y el Accidente Cerebrovascular (ACV) o Ictus[1].

Los pacientes con alteraciones en el sistema motor, necesitan un tratamiento de rehabilitación para reducir las limitaciones funcionales y mejorar su calidad de vida. En el área funcional o física, la neurorehabilitación busca que los pacientes puedan alcanzar la máxima recuperación integral posible que les permita su desempeño físico, mental y social, de manera que los pacientes puedan recobrar su independencia y la capacidad para realizar actividades en las que pueda estar implicada la extremidad superior (ES).

La evaluación del control motor de la ES de pacientes con DCA se centra en test clínicos altamente dependientes de los criterios y la experiencia del examinador. El test de evaluación FM [3] es uno de los test estandarizados más

usados tanto en la práctica clínica como en estudios de investigación [4] y tiene por objetivo principal evaluar el control motor de la ES de sujetos con DCA. La evaluación FM consta de diferentes pruebas donde los sujetos deben realizar un movimiento particular en cada una. A cada prueba se le da una puntuación (*score*, en inglés) entre 0 y 2, donde: 0 = no puede realizar el movimiento, 1= habilidad parcial para realizar el movimiento o 2= habilidad cerca de la normalidad. A pesar de que la evaluación FM es una de las más reconocidas, los resultados proveen poca información del estado del paciente para la planificación de los tratamientos de rehabilitación [4].

La cuantificación del movimiento de la ES de sujetos con DCA ha sido abordada por diferentes métodos: a) Análisis cinemático, que provee datos objetivos y permite discriminar las condiciones sanas y/o patológicas de sujetos, así como identificar las alteraciones en el movimiento y detectar cambios clínicamente importantes en el estado funcional [5], y b) Modelado de las actividades de la vida diaria [6],[7], que permite describir en detalle las estrategias motoras empleadas por sujetos sanos a partir de los cuales se establecen patrones cinemáticos, utilizados en la comparación con sujetos con DCA [8].

El creciente número de pacientes con ACV, los avances en los tratamientos de rehabilitación, los nuevos métodos de automatización de la evaluación FM propuestos en la literatura científica [9][11] y la falta de herramientas de valoración estandarizadas que provean *score* objetivos [12], hacen necesaria la creación de nuevos métodos que permitan evaluar de manera exacta, precisa y fiable el movimiento de la ES con el fin de proporcionar información objetiva para la interpretación de la función motora de los sujetos con DCA.

El objetivo principal de esta investigación es estimar automáticamente un *score* objetivo (SO) de las pruebas FM diseñadas para valorar la ES. Como continuación de la automatización completa del test de evaluación FM [12], se han analizado las primeras ocho pruebas: sinergia flexora (SF), sinergia extensora (SE), sinergias de movimientos combinados A (SMC_A), B (SMC_B), C (SMC_C) y movimientos combinados fuera de las sinergias A (MCF_A), B (MCF_B), C (MCF_C).

2. Metodología de Automatización

La automatización de las pruebas FM consta de las siguientes etapas (Figura 1): (1) Generación de modelos cinemáticos sanos de referencia, aplicando un modelo biomecánico de 9 grados de libertad (DoF, del inglés *degree of freedom*) [12], (2) Selección de los principales DoF de acuerdo con las indicaciones de FM [3], (3) Cálculo de los parámetros de movimiento (PM) asociados a cada DoF, y (4) Cálculo del *score* objetivo (SO).

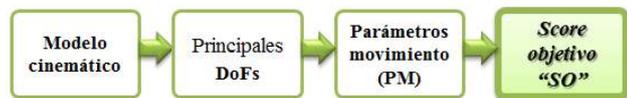


Figura 1. Etapas de la automatización de las pruebas FM

2.1 Generación de modelos cinemáticos

Los modelos cinemáticos han sido creados a partir de los registros correspondientes a las ejecuciones de las pruebas FM por parte de sujetos sanos. Estos modelos se utilizarán como referencia de comparación con los sujetos con DCA. La creación de los modelos cinemáticos se ha basado en la metodología descrita en [8].

Debido a que cada sujeto realiza el movimiento de cada prueba FM a una velocidad diferente, se ha realizado un procedimiento de normalización respecto al tiempo. Posteriormente se ha realizado una aproximación matemática, para cada uno de los DoF por prueba. Para cada DoF se han obtenido tres expresiones: la media de la evolución del parámetro angular asociado al DoF en cuestión, y otras dos que representan los límites superior e inferior. De esta manera, queda definido un intervalo en cada DoF de cada prueba FM, en el que el movimiento se considera correcto (dentro de la normalidad). A dicho intervalo se le ha llamado banda de normalidad (BN).

2.2 Selección de los grados de libertad principales

En la tabla 1 se describen los movimientos a realizar y los DoF principales en cada una de las pruebas FM [3].

2.3 Cálculo y puntuación de los parámetros de movimiento

Los PM asociados a la evolución biomecánica de cada DoF durante un movimiento se obtienen mediante el procesamiento de las métricas: rango de movimiento (ROM), coeficiente de correlación (C), error cuadrático medio (RMSE) y métrica adaptada a la prueba (IAM, del inglés *item adapted metric*) [12]. Esta última se calcula mediante el análisis de la configuración biomecánica de las ESs del paciente en los DoF principales.

Los PM permiten identificar la similitud que existe entre el modelo cinemático sano de referencia y los sujetos con DCA en cada DoF. Además, permite obtener un vector de características de la prueba que caracteriza las alteraciones físicas de cada sujeto con DCA. A continuación se explica cómo son puntuados los PM, según la métrica de la cual han sido obtenidos, para a partir de ellos calcular el SO de las pruebas. Todos los PM se puntúan con valores entre 0 y 2.

Prueba	Descripción	DoF Principales
SF	Llevar la mano a la parte superior de la oreja del lado afectado. El hombro debería quedarse por lo menos a 90°.	eldC, retaC, abdS, rotS (elevación, retracción, abducción y rotación del hombro), fexE (flexoextensión del codo) y pronOE (pronosupinación del antebrazo)
SE	Flexionar y girar el hombro internamente, extender el brazo hacia la rodilla no afectada con el antebrazo en pronación.	abdS, rotS, fexE, pronOE
SMC_A	Llevar la mano a la columna lumbar con el puño cerrado.	fexS, abdS, fexE, rotS
SMC_B	Flexionar el hombro (90°) con el codo totalmente extendido a lo largo del rango de movimiento. El antebrazo en una posición media.	fexS, abdS, fexE, pronOE
SMC_C	Pronar/supinar el antebrazo con el codo a 90° y hombro a 0°.	fexS, abdS, fexE, pronOE
MCF_A	Abducir el hombro a 90°, con el codo totalmente extendido y el antebrazo pronado.	abdS, fexE, pronOE
MCF_B	Flexionar el hombro 90°-180° con el codo 0° y el antebrazo en posición media.	fexS, abdS, fexE, pronOE
MCF_C	Pronar/supinar el antebrazo con el codo 0° y el hombro en flexión entre 30 y 90°.	fexS, fexE, pronOE

Tabla 1. Descripción y DoF principales de las pruebas de FM

Al puntuar los PM obtenidos de la métrica ROM e IAM se ha tenido en cuenta la BN para cada DoF. Por lo tanto, si el valor del PM de un sujeto, se encuentra dentro de la BN, la puntuación será 2. Si el valor del PM esta fuera de la BN, la puntuación será menor que 2 e irá disminuyendo hasta 0 a medida que el valor PM del sujeto se aleje de la BN.

Para puntuar los PM obtenidos de la métrica C, se han definido 3 rangos. Los valores numéricos de los rangos se han obtenido al dividir en 3 el valor máximo que obtiene el modelo de referencia en el coeficiente C "1". Por lo tanto un sujeto se encontrará en:

- Rango 1: cuando el valor del PM está entre 0,67 y 1, lo que indica que tiene alta similitud morfológica con respecto al modelo y que se encuentra dentro de la BN, asignándosele una puntuación de 2.
- Rango 2: cuando el valor del PM está entre 0.34 y 0.66, indicando que tiene una similitud morfológica media respecto al modelo, asignándosele una puntuación entre 1.9 y 1.
- Rango 3: cuando el valor del PM es menor que 0.33, lo que indica que tiene baja similitud morfológica con respecto al modelo. En este caso, la puntuación se calcula aplicando la Función C, la cual revisa el comportamiento del DoF en cuestión. Es decir, si la variación del ángulo (la diferencia entre el punto inicial y final de la curva) es pequeña (menor a 7°) se considera que es estable asignándosele una

puntuación de 2, en caso contrario se le asignará 0. El hecho de que el valor PM, correspondiente a baja similitud, puede asignar una puntuación de 2, ocurre cuando el coeficiente C obtiene un valor negativo aun teniendo alta similitud morfológica. Esto es debido a que C mide la relación lineal entre dos variables y un resultado negativo indica que un incremento en una variable se asocia con un decremento en la otra.

Para puntuar los PM obtenidos de la métrica RMSE, se han definido 2 rangos. Los valores numéricos de los rangos se han obtenido a partir del umbral de desviación (U) obtenido como la media del RMSE medido para los límites superior e inferior del modelo cinemático sano de referencia. Estos rangos varían dependiendo del DoF que se analice. Por lo tanto un sujeto se encontrará en:

- Rango 1: cuando el valor del PM es menor o igual que U, lo que indica que tiene baja diferencia con respecto al modelo y que se encuentra dentro de la BN, asignándosele una puntuación de 2.
- Rango 2: cuando el valor del PM sea mayor que U y menor o igual que el doble de U, lo que indica que tiene diferencia media con respecto al modelo asignándosele una puntuación entre 1.9 y 0. Cuando el valor del PM es mayor que el doble de U, se le asigna una puntuación de 0, lo que indica que tiene alta diferencia con respecto al modelo.

Los rangos para calcular las puntuaciones de los PM del coeficiente C y RMSE definidos en este trabajo son provisionales, pues se irán ajustando a medida que se analice una cantidad mayor de sujetos con DCA y de que sean validados por un grupo de clínicos investigadores.

2.4 Cálculo del score objetivo

En el cálculo de SO se evalúa y puntúa el control motor de la ES de los sujetos al realizar cada prueba FM. En este trabajo se realiza este cálculo entre los valores 0 y 2 como lo hace el test FM.

El SO se calcula al promediar todos los valores de los PM, para cada DoF principal. Por lo tanto la automatización se logra mediante la comparación del modelo cinemático sano de referencia y el movimiento realizado por los sujetos con DCA de modo que las alteraciones pueden ser detectadas.

3 Material

La adquisición de datos de movimiento de sujetos sanos y pacientes con DCA se ha realizado con el sistema de seguimiento optoelectrónico BTS-SMART-D [13] en el laboratorio de análisis del movimiento del Institut Guttmann. Para la captura de movimiento se ha utilizado un modelo bimanual de dieciséis puntos como el usado en [12]. Los modelos cinemáticos de sujetos sanos, las métricas y el SO de las pruebas FM se han realizado con la herramienta matemática MATLAB[®] r2013a.

4 Procedimiento experimental

La posición inicial que han usado todos los sujetos para realizar las 8 pruebas ha sido: el sujeto se sienta en un taburete, de modo que las piernas siempre formen un ángulo de 90°; la ES reposa sobre las piernas tocando los muslos con la palma de la mano, la espalda recta y

alineada con el eje vertical del laboratorio. Partiendo de esta posición inicial, los sujetos deben seguir las instrucciones correspondientes a cada prueba dadas por el terapeuta. En este trabajo, han participado voluntariamente 42 sujetos sanos (25 mujeres entre 23 y 49 años y 17 hombres entre 24 y 48 años), 7 sujetos con DCA (7 hombres entre 27 y 66 años) y 2 terapeutas (T1 y T2) del Institut Guttmann.

5 Resultados

La Tabla 2 muestra el *score* T1, *score* T2 y SO para las 8 pruebas FM y los 7 sujetos (S). Al comparar los resultados de los *score* T1 y T2, se observa que 2 terapeutas pueden puntuar con el mismo o diferente *score* a un sujeto con DCA en una prueba FM. El hecho de que dos terapeutas asignen un *score* diferente a un mismo sujeto, medido en las mismas condiciones espacio temporales, refleja la subjetividad de la evaluación FM, pues la asignación del *score* depende del criterio y experiencia del terapeuta que puntúa la prueba. En la mayoría de los casos los valores de los *scores* asignados por los terapeutas son similares a los calculados por SO, pero en algunos casos son diferentes. Con el fin de analizar las causas de los desajustes en los *scores* obtenidos, se explica el caso más representativo (S3: prueba SF). Para esto se procede a analizar las puntuaciones de los PM en los DoF principales en las que el sujeto ha obtenido una puntuación menor que 2, es decir, donde se ha detectado una alteración en el control motor. A continuación se describen de manera cuantitativa los resultados objetivos de las puntuaciones y se discuten las razones del valor del SO.

Los *scores* asignados al S3 son: T1=2, T2=4 y SO=1. El *score* máximo posible en la prueba SF es 12. Este sujeto tiene un rango limitado en la abdS con una puntuación para el PM de ROM=0 (corresponde al 57.5% del modelo), y con una puntuación para el PM de IAM=0 (corresponde al 73.45% de la abdS requerida), es decir, se encuentra fuera de la BN. Además, S3 no puede flexionar el codo, tiene una puntuación para el PM de IAM=0 y ROM=0 (corresponde al 0% del modelo en los 2 PM) (Figura 2 y Figura 3).

Los terapeutas han asignado *score* bajo a S3 ya que el sujeto no llega a la posición final deseada (tocar la parte superior de la oreja). Es difícil para el ojo humano detectar variaciones de pequeña escala del movimiento de la ES y cuantificar las alteraciones en los DoF principales solo con un realimentación visual, sin embargo, estas variaciones se identifican con facilidad al realizar un análisis biomecánico como el propuesto en este trabajo.

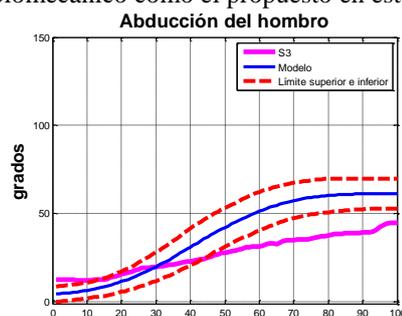


Figura 2. Abducción del hombro de S3

S	Prueba SF			Prueba SE			SMC A			SMC B			SMC C			MCF A			MCF B			MCF C		
	T1	T2	SO	T1	T2	SO	T1	T2	SO	T1	T2	SO	T1	T2	SO	T1	T2	SO	T1	T2	SO	T1	T2	SO
S1	12	12	7.1	6	6	4.5	2	1	1.8	2	2	1.7	1	1	1	2	2	1.2	2	1	1.7	2	1	1.2
S2	11	11	7.4	6	6	4.2	0	0	0	2	2	1.5	1	2	1.8	2	2	1.3	0	0	1.3	1	2	1.4
S3	2	4	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0
S4	10	8	6.8	6	6	4.4	2	2	1.9	2	2	1.5	2	2	1.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S5	10	12	8.7	6	6	4.2	2	2	2	2	1	1.3	1	2	1.6	2	2	1.7	2	2	1.5	2	1	1.5
S6	10	12	8.1	6	6	3.2	2	2	2	2	2	1.7	1	2	1.7	2	2	1.4	2	2	1.7	2	2	1.7
S7	9	10	9.8	6	6	5	2	2	1.9	2	2	1.3	1	2	1.5	2	2	1.4	2	2	1.8	2	2	1.5

Tabla 2. Score T1, T2 y SO de las pruebas FM

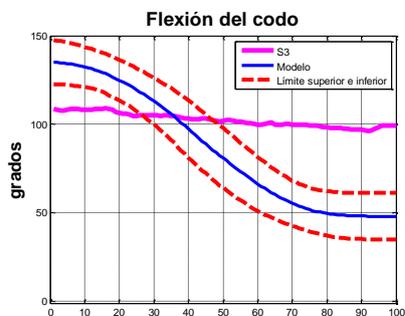


Figura 3. Flexión del codo de S3

6 Conclusiones y trabajos futuros

La principal novedad de este trabajo de investigación se centra en la obtención de la valoración objetiva (scores) del control motor de la ES de 7 sujetos con DCA aplicando la metodología de automatización de las pruebas FM. Ocho pruebas han sido automatizadas, pudiendo ser extendida al resto de pruebas. Las principales ventajas de la metodología son: 1. Puede ser usada por los terapeutas como herramienta de evaluación objetiva para todas las pruebas FM. 2. Es posible crear modelos de referencia, con los cuales se puede determinar la BN para cada DoF. 3. Permite obtener mediciones cuantitativas fiables de la evolución biomecánica por DoF, que actualmente no están disponibles para los terapeutas. 4. Facilita la identificación de las alteraciones del movimiento de la ES de los sujetos con DCA. 5. Es posible obtener un vector de características que identifica las alteraciones físicas de los sujetos. 6. Independiente del sistema de captura de movimiento utilizado.

Los trabajos futuros se enfocarán en la automatización de las demás pruebas FM y la validación más amplia de la metodología con un mayor número de sujetos con DCA.

Agradecimientos

Agradecemos al equipo clínico y del departamento de rehabilitación funcional del Hospital de Neurorrehabilitación Institut Guttmann por su inestimable colaboración, en especial a los terapeutas María Almenara, Carlos Molleja e Ignasi Sorian. Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto Sensingtoys (TP-2012-1063-300000).

Referencias

[1] The Lancet Neurology. Traumatic brain injury: time to end the silence. *The Lancet Neurology*, vol. 9 (4), 2010, pp. 331. (ISSN: 1474-4465).

[2] World Health organization, <http://www.who.int/es> (Consultada: Septiembre 2015)

[3] Fugl Meyer R, Jaasko L, Leyman I, et al. The post stroke hemiplegic patient. A method for evaluation of physical performance. *Scand J Rehabil Med* 7 (1975), (1) 13-31.

[4] Velozo CA, Woodbury ML. Translating measurement findings into rehabilitation practice: An example using Fugl-Meyer Assessment-Upper Extremity with patients following stroke. *JRRD* 48 (2011), (10) 1211-1222.

[5] De los Reyes-Guzmán A, Dimbwadyo-Terrer I, Trincado-Alonso F. Quantitative assessment based on kinematic measures of functional impairments during upper extremity movements: A review, *Clin. Biomech* 29 (2014), 719-727.

[6] Kim K, Song WK, Lee J, et al. Kinematic analysis of upper extremity movement during drinking in hemiplegic subjects. *Clin. Biomech.* 29 (2014), (3) 248-256.

[7] Murphy MA, Willen C, Sunnerhagen KS. Responsiveness of upper extremity kinematic measures and clinical improvement during the first three months after stroke. *Neurorehabil. Neural Repair* 27 (2013), 844.

[8] Pérez R, Costa Ú, Torrent M, et al. Upper Limb Portable Motion Analysis System Based on Inertial Technology for Neurorehabilitation Purposes, *Sensors* 10 (2010), 10733-10751.

[9] Olesh EV, Yakovenko S, Gritsenko V. Automated Assessment of Upper Extremity Movement Impairment due to Stroke, *PLoS ONE* 9 (2014), (8) e104487.

[10] Wang J, Yu L, Wang J, et al. Automated Fugl-Meyer Assessment Using SVR Model. In Proceedings of the *IEEE International Symposium on Bioelectronics and Bioinformatics IEEE ISBB* (2014), 1-4.

[11] Prochazkaa A, Kowalczewskia J. A Fully Automated, Quantitative Test of Upper Limb Function. *J. Motor Behavior* 47 (2015) (1) 19-28.

[12] Villán-Villán MA, Pérez Rodríguez R, Gómez C, et al. A first step for the Automation of Fugl-Meyer assessment scale for stroke subjects in upper limb physical neurorehabilitation. In Proceedings of the International conference of informatics, management and technology in healthcare. Athens, 9-11 July, 2015.

[13] BTS Bioengineering, <http://www.btsbioengineering.com/> (Consultada: Septiembre 2015)

Estudio de validación preclínica de un entorno de rehabilitación cognitiva basado en vídeo interactivo y eye-tracking

J.M. Martínez-Moreno^{1,2}, P. Sánchez-González^{1,2}, J.L. García³,
R. Sánchez-Carrión³, J.M. Tormos³, E.J. Gómez Aguilera^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación (UPM), Madrid, España
{jmartinez,psanchez,egomez}@gbt.tfo.upm.es

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

³ Instituto Universitario de Neurorrehabilitación Guttmann-UAB, Barcelona, España,
{jlgarcia,rsanchezcarrion,jmtormos}@guttmann.com

Resumen

Los entornos virtuales interactivos pueden ser utilizados para reproducir situaciones de la vida real. Su incorporación al proceso de rehabilitación cognitiva permite implementar estrategias de intervención terapéutica sobre actividades de vida diaria. Se busca incrementar la validez ecológica del tratamiento de forma sostenible y segura, a través de intervenciones no presencial, asíncrona y dentro de un contexto controlado. En trabajos previos se presentó un entorno de rehabilitación que, basado en las tecnologías de vídeo interactivo y eye-tracking, sirviera de soporte al desarrollo de este tipo de tratamientos.

El presente trabajo de investigación tiene por objetivo evaluar dicho entorno de rehabilitación como paso previo a su uso clínico. Para ello se realiza un estudio experimental con la participación de dos grupos de sujetos: sanos y pacientes con daño cerebral. El análisis de los resultados extraídos de dicho estudio demuestra la viabilidad del uso del entorno por pacientes con déficit cognitivo y el potencial del mismo para intervenir y monitorizar el comportamiento de sujetos en actividades de vida diaria reproducidas sobre un entorno virtual interactivo.

1. Introducción

El daño cerebral supone un cambio drástico en la vida de los pacientes que lo sufren así como de las personas de su entorno. Los déficits causados pueden limitar el desarrollo de hasta la más sencilla de sus actividades cotidianas [1][2]. La neurorrehabilitación tiene por objetivo reducir al mínimo esas limitaciones tratando de restaurar al máximo nivel posible la calidad de vida del paciente [3]. No obstante, la naturaleza del cerebro humano hace que el proceso de rehabilitación esté lleno de matices que lo convierten en un proceso extremadamente complejo.

La incorporación de la tecnología a las terapias de rehabilitación ha permitido desarrollar nuevas metodologías de trabajo. Esto ha ayudado a hacer frente a las dificultades de la rehabilitación que los procesos tradicionales no logran abarcar. A pesar del gran avance realizado en los últimos años, todavía existen debilidades en del proceso de rehabilitación; por ejemplo, la transferencia a la vida real de las habilidades logradas durante la terapia de rehabilitación, así como su transferencia a otras actividades cotidianas [4].

Los entornos virtuales pueden reproducir situaciones cotidianas. Permiten simular, de forma controlada, los requisitos conductuales que encontramos en la vida real

[5]. En este contexto, el terapeuta puede corregir comportamientos patológicos no deseados que realice el paciente, estimulándole para redirigirle hacia las respuestas correctas. Por tanto, el neuropsicólogo podría realizar las intervenciones terapéuticas propias de la sesión de rehabilitación sobre la actividad de vida diaria que esté ejecutando el paciente en el entorno.

A pesar de que las tecnologías actuales tienen potencial suficiente para aportar nuevos beneficios al proceso de rehabilitación, existe cierta reticencia a su incorporación a la clínica diaria [6]. A día de hoy, no se ha podido demostrar que su uso aporte una mejora significativa con respecto a otro tipo de intervención; en otras palabras, no existe evidencia científica de la eficacia del uso de entornos virtuales interactivos en rehabilitación [7].

Publicaciones recientes defienden la importancia de identificar las necesidades del proceso de rehabilitación y determinar qué aportan las nuevas tecnologías para solucionarlas [8]. Formalizar la definición de las actividades de rehabilitación en base a sus componentes terapéuticos, pueden sentar las bases que permitan evaluar la eficacia del tratamiento aplicado [9][10].

Bajo estas premisas, en trabajos previos se desarrolló un entorno de rehabilitación basado en la integración de las tecnologías de Vídeo Interactivo (VI) y Eye-Tracking (ET) [11][12]. El objetivo del presente trabajo de investigación es evaluar este entorno de rehabilitación como paso previo a su uso clínico. Se pretende analizar la capacidad de la AVD diseñada para guiar a los usuarios por la actividad, el posible potencial terapéutico del sistema de monitorización, y la viabilidad del uso del entorno por pacientes con daño cerebral.

2. Material y Métodos

2.1. Entorno de rehabilitación: VI+ET

El entorno de rehabilitación está compuesto por la integración de las tecnologías de VI y ET. El VI permite desarrollar entornos virtuales donde reproducir AVD. Estas AVD pueden ser diseñadas siguiendo una estrategia de intervención que permite al neuropsicólogo actuar sobre el comportamiento del paciente durante la ejecución de la misma de forma asíncrona y no presencial. El entorno de rehabilitación cuenta con un sistema de monitorización

avanzado adaptado a contextos con alto grado de estimulación, del que destaca el uso de un dispositivo un dispositivo de ET. En concreto se ha utilizado el Tobii 1750, que permite registrar información sobre la atención visual del paciente. Por tanto, las actividades del entorno se reproducen sobre el monitor de este dispositivo, y la interacción se realiza a través del ratón del ordenador.

En un estudio previo se ha evaluado la usabilidad del entorno, y su capacidad para intervenir sobre los usuarios, haciendo que la ejecución de los usuarios fuera más eficiente: reducción del tiempo empleado, del número de clics y de los errores cometidos. De esta forma se validó la madurez del entorno de rehabilitación para ser utilizado por pacientes que han sufrido un daño cerebral.

2.2. AVD: “ir a comprar el pan”

El diseño de la AVD ha sido realizado por neuropsicólogos del Institut Guttmann siguiendo un modelo de definición de terapias ecológicas [13]. De esta forma, el diseño de la AVD establece en sí mismo una estrategia de intervención terapéutica. Para su elaboración, los neuropsicólogos identificaron aquellas situaciones que supondrán una dificultad al paciente para completar el objetivo final dependiendo de sus déficits cognitivos; en función a ello, definieron la respuesta de la actividad (feedback, flujo de acción, etc.) de acuerdo a cada posible interacción del paciente. Como resultado final, el paciente es guiado a lo largo de la actividad conforme a sus necesidades.

Este diseño ha sido implementado mediante tecnología de VI. La actividad reproduce las situaciones por las que tendría que pasar un sujeto en su vida cotidiana desde que se encuentra sentado en el sofá de casa hasta que compra el pan en la panadería. Se trata de una AVD instrumental compleja, ya que a su vez se compone de varias AVD instrumentales. Está dividida en tres tareas secuenciales:

- Tarea 1: salir de casa. Para completar la tarea es necesario localizar y coger aquellos objetos imprescindibles para ejecutar la AVD, es decir, la cartera y las llaves.
- Tarea 2: llegar a la panadería. El paciente tendrá que orientarse por la vía pública y realizar algunas acciones como por ejemplo cruzar la calle o interaccionar con otros peatones.
- Tarea 3: comprar el pan. Una vez en la panadería, hay que interaccionar con el resto de clientes y el dependiente, realizar la compra, seleccionando el producto adecuado y manejar el dinero de manera correcta.

La AVD se desarrolla, por tanto, en tres escenarios diferentes correspondientes a cada una de las tareas: el domicilio, la calle y la panadería. En cada escenario el contexto ambiental es diferente, y en consecuencia el esfuerzo cognitivo requerido al paciente. En el caso del domicilio del paciente, nos encontramos en un entorno controlado, que le ofrece seguridad. En el caso de la calle, hablamos de un entorno no controlado, en el que pueden aparecer numerosos distractores que desvíen al paciente de su objetivo final. Finalmente, en la panadería aparece la

interacción con otros miembros de la comunidad para alcanzar el objetivo final de comprar el pan.

2.3. Metodología de Monitorización

El sistema de monitorización del entorno de rehabilitación permite realizar un registro de datos en torno a tres fuentes de información:

- Ejecución de actividad. Registra todos los eventos que ocurren relativos a la ejecución de la actividad: cambios de escenas, aciertos, errores, etc.
- Interacción con el entorno. Registro de los eventos relativos a la interacción del usuario con entorno. En este caso al realizarse la interacción con el ratón del ordenador se registran los eventos de clic y movimiento del puntero.
- Atención visual. Registro de datos relacionados con el seguimiento de la mirada del usuario durante la ejecución de la actividad, principalmente coordenadas de atención visual en la pantalla.

2.4. Metodología del estudio

En el diseño y desarrollo del experimento se han seguido los principios éticos establecidos por la Declaración de Helsinki, de forma que cada sujeto que toma parte en el estudio está previamente de acuerdo con su participación y con el uso anónimo y científico de los datos derivamos de la misma.

Dos grupos de 20 sujetos cada uno ejecutan la AVD “ir a comprar el pan” en el entorno de rehabilitación expuesto anteriormente. El primer grupo formado por sujetos sanos, y el segundo por pacientes que han sufrido un daño cerebral. En ambos casos se trata de personas mayores de edad, sin contacto previo con la actividad o el entorno de rehabilitación, y que no presentan déficit (motor, visual o de lenguaje) que les impida realizar la actividad.

Antes de comentar la actividad, se realiza un proceso de calibración para configurar el dispositivo eye-tracker según las características y condiciones del sujeto. Después de la ejecución de la AVD se pide a los participantes que contesten a una encuesta para valorar la experiencia de usuario. El cuestionario con formato Likert, estaba compuesto por las 5 preguntas de la Tabla 1.

P1. En general, considero la experiencia como satisfactoria

P2. Los mensajes mostrados durante la actividad eran fáciles de leer

P3. Las situaciones que se exponen durante la actividad me resultan familiares, las identifiqué con las que me ocurren en mi día a día

P4. La interacción con el entorno es poco intuitiva

P5. En algunos instantes de la actividad me he sentido perdido sin saber qué hacer, alguna indicación más me hubiera ayudado

Tabla 1. Preguntas del cuestionario de experiencia de usuario

Resultados

El estudio se completó con una muestra de 40 sujetos. El grupo de sujetos sanos compuesto por 20 personas de entre 21 y 36 años, con paridad entre mujeres y hombres. El grupo de pacientes estaba compuesto por sujetos (con media de edad de 35 años) que habían sufrido un

traumatismo craneoencefálico y que presentaban déficits cognitivos, encontrándose en tratamiento en la unidad de neurorrehabilitación del Institut Guttmann.

Todos los sujetos que participaron en el estudio lograron finalizar la actividad. En las Tablas 2, 3 y 4 se recogen los datos medios correspondientes a los parámetros más significativos: Tiempo, Número de clics y Número de errores. Se muestran los valores medios, totales en la actividad y desglosados por tareas, para cada uno de los dos grupos del estudio. La última fila de cada tabla indica el p-valor correspondiente al test de Wilcoxon [14].

Tiempo	Total AVD.	Tarea 1	Tarea 2	Tarea 3
Sanos	367,09 s	90,58 s	98,53 s	177,97 s
Pacientes	514,82 s	171,31 s	148,85 s	194,66 s
p-valor	$2,69 \cdot 10^{-6}$	$4,54 \cdot 10^{-7}$	$2,00 \cdot 10^{-4}$	$2,10 \cdot 10^{-3}$

Tabla 2. Valores medios del Tiempo empleado para completar cada una de las Tareas

Nº de clics	Total AVD.	Tarea 1	Tarea 2	Tarea 3
Sanos	22,35	11,00	7,45	3,90
Pacientes	36,50	17,00	12,55	6,95
p-valor	$2,00 \cdot 10^{-3}$	$7,12 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-3}$	0.3924

Tabla 3. Valores medios del Número de Clics realizados durante cada Tarea

Nº errores	Total AVD.	Tarea 1	Tarea 2	Tarea 3
Sanos	2,15	0,50	1,05	0,60
Pacientes	8,65	3,50	3,40	1,75
p-valor	$2,06 \cdot 10^{-4}$	$1,30 \cdot 10^{-5}$	$1,01 \cdot 10^{-2}$	0.1840

Tabla 4. Valores medios de los Errores. Se considera error la interacción con un estímulo activo erróneo o la ausencia de interacción

Los datos derivados de la monitorización visual se representan a continuación a través de mapas de calor. Estos mapas muestran la exploración visual de la escena de un sujeto cuando se requiere que interacciones con la actividad, es decir, que tome una decisión y actúe ante una serie de estímulos expuestos. La Figura 1 y 2 recogen algunos ejemplos del estudio realizado, correspondientes a los datos totales acumulados por cada grupo en la respectiva escena.



Figura 1. Mapa de calor correspondiente a una escena de la tercera tarea. Izq., grupo sujetos sanos; derecha, grupo de sujetos pacientes.

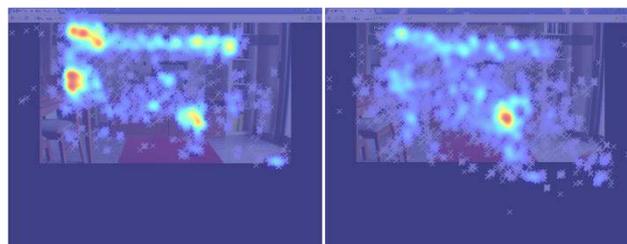


Figura 2. Mapa de calor correspondiente a una escena de la tarea 1. Izq., grupo de sujetos sanos; derecha: grupo de sujetos pacientes

Los resultados correspondientes a la encuesta sobre la experiencia de usuario se han representado en el diagrama de la Figura 3.

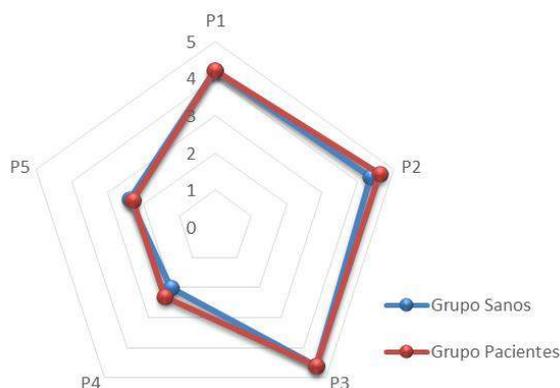


Figura 3. Resultados del cuestionario (1: Totalmente en desacuerdo; 5: Totalmente de acuerdo)

3. Discusión

Todos los sujetos participantes en el estudio finalizaron con éxito la AVD, aunque el grupo de sujetos pacientes ha necesitado más tiempo, realizado más errores y número de clics, de lo que se deduce que las intervenciones planificadas en el diseño han sido útiles a la hora de completar la actividad.

Del análisis de los datos se confirma que existen diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de sujetos en los parámetros expuestos en las Tablas 2, 3 y 4. En este respecto, la Tarea 3 es la más comprometida con diferencias menores, llegando a no ser significativas en los dos últimos parámetros. Esto puede ser debido a la naturaleza de la tarea a realizar, ya que en ella se trabaja la inhibición por lo que el número de interacciones necesarias para completar la tarea es muy pequeño: solamente hacen falta dos clics para lograr el objetivo.

La representación de los datos de la atención visual confirman las diferencias conductuales entre los dos grupos durante la ejecución de la actividad. Los mapas de calor reflejan una mayor dispersión en la exploración visual del grupo de pacientes, como se muestra por ejemplo en la Figura 1. No obstante, se puede observar que en ambos grupos los principales focos de atención se centran en los estímulos definidos a tal efecto.

Por otro lado, la monitorización realizada permite la detección de nuevas regiones de interés (focos de atención que no fueron tenidos en cuenta durante el diseño de la

AVD), o escenas en las que las instrucciones dadas no resultan tan eficaces como se pensó durante el diseño (exploración visual muy poco eficiente). Ambos casos se pueden observar en la Figura 2. El foco de atención representado cerca de la zona central de ambas imágenes se corresponde con una nueva región de interés. Por otro lado, al comparar las dos imágenes, parece evidente que la instrucción dada no consigue focalizar la atención de los pacientes sobre los estímulos de interés. De estos dos ejemplos se deduce la necesidad de adaptar la estrategia de intervención, incorporando la región detectada como zonas potenciales de intervención, y acondicionando las instrucciones y feedback para hacer más eficiente la ejecución de los sujetos pacientes.

La capacidad del sistema para analizar y diferenciar el comportamiento del sujeto durante la tarea, sugiere la posibilidad de incorporar técnicas de reconocimiento de patrones para, por ejemplo, detectar comportamientos patológicos. Una primera aproximación pasaría por analizar los registros de este estudio considerando los datos clínicos de cada paciente individualmente. De igual forma, incorporar la variable temporal al análisis de los datos de atención visual, permitiría conocer con exactitud cómo se realizó la exploración visual de cada escena.

Para trabajar en la detección de patrones de comportamiento, o incluso realizar un examen más exhaustivo de los datos, sería necesario aumentar la muestra del estudio realizado. En relación al trabajo con perfiles cognitivos específicos, un nuevo estudio debe ser realizado con el objetivo de evaluar el impacto terapéutico de este tipo de intervenciones.

Finalmente, de la información extraída de las respuestas del cuestionario (Tabla 4) se deduce que la experiencia general es positiva. Destaca la comodidad de los pacientes con los mensajes e interacción del entorno. No obstante, con el objetivo de ampliar el rango de pacientes que puedan utilizar el sistema, se estudiará el refuerzo de las instrucciones por audio, así como la incorporación de nuevos medios de interacción: dispositivos táctiles, el propio eye-tracker o dispositivos de detección de movimiento (Leap Motion, Kinect, etc.).

4. Conclusiones

El estudio ha demostrado la viabilidad de uso del entorno de rehabilitación propuesto con pacientes reales. Todos los pacientes han logrado finalizar la AVD, aunque con un mayor número de errores y tiempo empleado que lo sujetos sanos.

El sistema de monitorización del entorno es capaz de explorar y monitorizar estrategias atencionales. Por tanto, además de registrar el resultado de la ejecución, permite analizar el comportamiento del paciente ante los distintos estímulos que componen cada situación de la AVD.

La extracción de características conductuales por perfiles cognitivos ayudará a ajustar con mayor precisión las intervenciones terapéuticas a cada paciente. Y en general, abre una ventana de posibilidades para la investigación de las intervenciones terapéuticas en entornos virtuales interactivos.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a todas las personas que han participado en el estudio. Este trabajo de investigación ha sido parcialmente financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad en el marco del Proyecto de investigación COGNITIO (TIN2012-38450).

Referencias

- [1] Lillie, R. Everyday Impact of traumatic Brain Injury. En Marcotte, Thomas; Grant, Igor, *Neuropsychology of everyday functioning*. 2010, pp 357-388.
- [2] Marcotte, Thomas. *Neuropsychology and the Prediction of the Prediction of Everyday Functioning*. En Marcotte, Thomas; Grant, Igor, *Neuropsychology of Everyday functioning*. 2010, pp 5-38
- [3] Bernabeu, M.; Roig T. Unidad de daño cerebral en el Institut Guttmann. Hospital de Neurorrehabilitación. *Minusval*, 2, 76-81. 2002
- [4] Cicerone KD, et al. Evidence Based Cognitive Rehabilitation: Updated Review of the Literature from 2003 through 2008. *Arch Phys Med Rehabil* 2011; 92: 519–530.
- [5] Schultheis, M.T.; Rizzo, A.A. The application of virtual reality technology in rehabilitation. *Rehabilitation Psychology*, 2001. Vol 46, No 3. 296-311.
- [6] Riva, G. et al. Transforming VR into a Reality for Behavioral health Care: The NeuroVR Project. *CyberTherapy & Rehabilitation*. (1) 2009. pp 12-13.
- [7] Pietrzak E, et al. Virtual Reality and Videogames for Traumatic Brain Injury Rehabilitation: A Structured Literature Review. *GAMES FOR HEALTH: Research, Development, and Clinical Applications* 2014; 3: 202–214.
- [8] Giustini A. et al. UEMS—Position Paper. New technologies designed to improve functioning: the role of the physical and rehabilitation medicine physician. *European journal of physical and rehabilitation medicine* 2014; 50 (5): 579–583.
- [9] Whyte J, Hart T. It's more than a black box; It's a Russian doll – Defining rehabilitation treatments. *Am J Phys Med Rehabil* 2003; 82 (8): 639– 652.
- [10] Dijkers MP, Hart T, Tsaousides T, Whyte J, Zanca JM. Treatment Taxonomy for Rehabilitation: Past, Present, and Prospects. *Arch Phys Med Rehabil* 2014; 95 (1): S6 –S16.
- [11] Martínez-Moreno JM, Sánchez-González P et Al. Entornos virtuales de vídeo interactivo para neurorrehabilitación cognitiva. *Actas XXIX Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2011)*.2011.
- [12] Martínez-Moreno, JM. et Al. Integración de tecnologías eye-tracking con vídeos interactivos para neurorrehabilitación cognitiva. *Actas XXX Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2012)*. 2012
- [13] Martínez-Moreno J. M., Sánchez-González P., Roig T., Tormos J. M., Gómez, E. J. Modelling Ecological Cognitive Rehabilitation Therapies for Building Virtual Environments in Brain Injury. *Methods of Information in Medicine*. 2015. DOI: 10.3414/ME15-01-0050
- [14] Wilcoxon, Frank. "Individual comparisons by ranking methods." *Biometrics bulletin* (1945): 80-83.

Informática Biomédica y Sistemas de Información

Clínica

Jueves 5 de Noviembre

Biomedical Multi-Scale Viewer (BiMS Viewer): visualizador interactivo de datos biomédicos

P. Díaz Ruata¹, A. Perera Lluna¹

¹ Ingeniería de Sistemas, Automática i Informàtica Industrial (ESAI), Universidad Politècnica de Catalunya (UPC), Barcelona, España, patricia.diaz.ruata@estudiant.upc.edu, alexandre.perera@upc.edu

Resumen

En el presente documento se describe la aplicación BiMS Viewer, una herramienta ligera de visualización de grafos para facilitar la interpretación biológica de resultados obtenidos al realizar enriquecimientos sobre experimentos de metabolómica y espectrometría de masas. Debido a la dificultad de representar la gran cantidad de biomarcadores que suelen estar involucrados en dichos experimentos, en este proyecto se definen y desarrollan también métodos específicos para la visualización de grandes grafos. Además, la aplicación incluye información extraída de bases de datos biomédicos, como KEGG y Human Metabolome Database.

1. Introducción

En los laboratorios de biomedicina es muy frecuente realizar experimentos cuyos resultados se presentan en forma de listas, que pueden variar de decenas a miles de elementos. Representar estas listas en forma de grafos o redes ayuda notablemente a analizarlas, ya que de esta manera se ven mucho mejor las conexiones entre los distintos elementos que las forman. Pese a que los programas con los que se llevan a cabo los test ofrecen representaciones de los resultados, éstas suelen ser imágenes estáticas e incómodas de estudiar porque superponen elementos y etiquetas y porque no permiten realizar modificaciones sobre ellas. Por otra parte, utilizar programas especializados en visualización requiere exportación de datos y un buen conocimiento de su uso, que no suele ser fácil debido a la complejidad y cantidad de opciones que incorporan. Ejemplos relevantes de herramientas de visualización en el área biomédica son *Cytoscape* [1], *Ingenuity Pathway Analysis* [2], *PHINCH* [3], *BioLayout* [4], *Osprey* [5] y *Omix* [6], entre otros. De sus características se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- Interactividad y flexibilidad (permitir diferentes tipos de representaciones) son atributos indispensables, ya que todas los incorporan.
- Todas las aplicaciones permiten representar grandes cantidades de datos, pero las que requieren instalación consumen bastante memoria de almacenamiento para evitar que el ordenador se ralentice o incluso se cuelgue.
- La mayoría de ellas conectan con alguna base de datos biomédica para facilitar los análisis.

Se precisa, por tanto, una aplicación interactiva de visualización de grafos, que ocupe poco espacio, que se

pueda añadir a uno o varios de los programas estadísticos que realizan los experimentos y que incluya información extraída de alguna base de datos conocida. Para atender a las necesidades citadas, este proyecto se desarrolla con los siguientes objetivos:

- Representar grafos y permitir su manipulación.
- Implementar una visualización por escalas para representar redes grandes.
- Aplicar métodos de agrupamiento de grafos para la visualización por escalas.
- Permitir la integración de la aplicación en herramientas estadísticas de análisis de datos.

2. Materiales y métodos

En este apartado se describen las bases de datos con las que trabaja BiMS Viewer, su estructura, el lenguaje de programación utilizado y el método desarrollado para la representación de grafos grandes.

2.1. Bases de datos

KEGG [7] es una base de datos para entender las funciones y utilidades de diferentes sistemas biológicos, como la célula, el organismo y el ecosistema, a partir de información a nivel molecular. La base de datos contiene diferentes elementos para la representación computacional de sistemas biológicos, y cada uno está asociado con un identificador. Destacan especialmente en este proyecto los pathways (diagramas de interacciones moleculares, reacciones y relaciones) y los compuestos (pequeñas moléculas, biopolímeros y otras sustancias químicas relevantes en los sistemas biológicos).

La *Human Metabolome Database* [8] es una base de datos electrónica que contiene información detallada sobre pequeños metabolitos del cuerpo humano. Está pensada para ser utilizada en aplicaciones de metabolómica, química clínica e investigación sobre biomarcadores. Contiene tres tipos de datos: datos químicos, datos clínicos y biología molecular. Contiene 41.993 entradas de metabolitos, cada uno con más de 110 campos de datos y muchos de ellos incluyen el identificador de la base de datos *KEGG* con los que están relacionados.

2.2. JavaScript y Data-Driven Documents (D3)

La herramienta BiMS Viewer consta de la aplicación en sí, encargada de la visualización interactiva de grafos, y de un script adicional en lenguaje R que realiza dos procesos: el spectral clustering y la creación de los

archivos de texto con la estructura y formato adecuados (.json) para que puedan ser interpretados por la aplicación.

La arquitectura de la aplicación ha sido diseñada con *JavaScript*. Consiste en una hilera de botones en la parte superior de la pantalla (los controladores de visualización, encargados de abrir nuevos grafos) y otra hilera de botones en la parte inferior de la pantalla (los controladores adicionales, que permiten modificar la red representada), reservando el resto del espacio para la visualización interactiva de los grafos. Esta distribución de elementos permite obtener, por una parte, la máxima superficie para ver y analizar redes y, por otra parte, una aplicación cómoda y sencilla de utilizar. La Figura 1 muestra la pantalla de bienvenida de la aplicación.

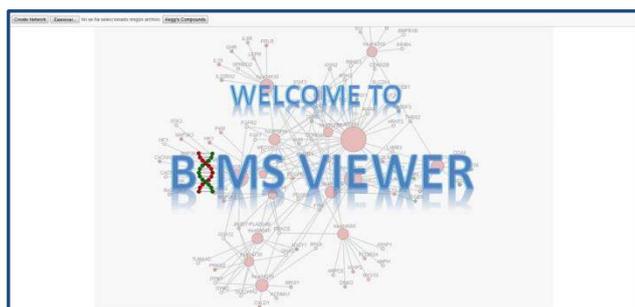


Figura 1. Pantalla de bienvenida de BiMS Viewer.

Para la parte de visualización se ha utilizado una de las librerías de *JavaScript*, *Data-Driven Documents (D3)* [9], que facilita la representación de datos. Sus principales características son su flexibilidad (permite obtener tanto redes, como tablas, como gráficos, etc), el uso de selecciones y propiedades dinámicas. Estas dos últimas características son muy eficaces a la hora de programar, ya que permiten sintetizar en pocas líneas lo que con otros lenguajes ocuparía más espacio. *D3* estructura sus funciones en varios grupos: *Core*, *Scales*, *SVG*, *Behaviors*, *Layouts*, *Geometry*, *Geography*, *Time*. Los más importantes para el desarrollo de *BiMS Viewer* han sido *Core*, porque agrupa las funciones elementales; y *Behaviours*, porque incluye las funciones de zoom.

2.3. Representaciones multi-escala

Como se ha explicado anteriormente, la característica multi-escala de la aplicación se ha creado principalmente para la visualización de grafos grandes y se basa en agrupar sus nodos en clusters. Esta parte del proyecto se ha realizado en dos fases: estudio de algoritmos de clustering e integración en BiMS Viewer.

De los diferentes algoritmos de agrupamiento que existen, se ha seleccionado el *spectral clustering* por ser el más completo [10]. Dado un conjunto de puntos, este algoritmo utiliza los vectores propios de su matriz de similitudes para definir neighborhoods (vecindarios) entre ellos, que serán los futuros clusters (grupos). Para aplicar el algoritmo hay que definir el tipo de grafo (ϵ -neighborhood, *K*-nearest neighbor o *fully connected*) y el tipo de método (matriz Laplaciana) a utilizar (*unnormalized*, *random walk* o *symmetric*). En la Figura 2

se pueden ver diferentes combinaciones entre ellos aplicados a un mismo ejemplo.

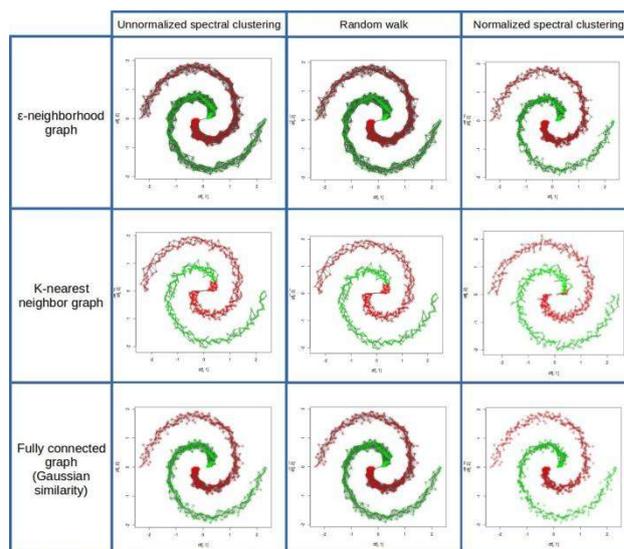


Figura 2. Aplicación de spectral clustering a un conjunto de puntos que forman dos espirales, con diferentes tipos de grafo (en columna) y diferentes matrices (en fila).

Para la aplicación se ha elegido la matriz Laplaciana no normalizada (*unnormalized*), cuya fórmula es $L = D - W$. W es la matriz que contiene los pesos de las aristas del grafo (valores binarios en los casos ϵ -neighborhood graph y *K*-nearest neighbor graph) y D es la matriz de grado, definida: $d_i = \sum_{j=1}^n w_{ij}$. Como grafo se ha utilizado el *K*-nearest neighbor graph, que conecta cada punto v_i con el punto v_j si v_j es uno de los k puntos más cercanos a v_i .

BiMS Viewer muestra los grafos grandes en cuatro escalas. Esto significa que el *spectral clustering* debe aplicarse tres veces en cada red, obteniendo así tres capas de clusters y una cuarta en la que aparezcan solo los nodos originales del grafo. Para facilitar el análisis de las redes clusterizadas, la aplicación incorpora un botón que permite pintar clusters. De esta manera, todos los clusters y nodos originales pertenecientes a él se muestran del mismo color y se pueden identificar a través de las diferentes escalas.

Este método de optimización permite controlar el número de elementos simultáneos a representar. En la primera escala siempre habrá 200 clusters y después del zoom aplicado por el usuario, solo los nodos y aristas que queden dentro de los límites de la pantalla en ese momento serán renderizados.

3. Resultados

Desde la pantalla de inicio de BiMS Viewer se pueden utilizar los controladores de visualización, que son, de izquierda a derecha:

Create Network: crea un grafo con los compuestos cuya masa esté dentro del intervalo que introduzca el usuario, siempre que este intervalo suponga mostrar menos de 500 nodos (este límite se impone para evitar que la aplicación

se bloquee por intentar representar demasiados elementos). La información se extrae de la HMDB.

Open Network: representa un nuevo grafo, después de seleccionar un archivo de formato *.json*. Estos archivos de texto deben tener una determinada estructura para que puedan ser interpretados por la aplicación, nombrando primero todos los nodos con sus propiedades y a continuación las aristas indicando los nodos que unen y su peso.

KEGG's compounds: permite visualizar los compuestos extraídos de la base de datos KEGG agrupados en clusters, y se pueden ver a cuatro escalas. Esta representación muestra los resultados de un experimento de metabolómica y cada arista indica que los compuestos que unen están relacionados por una reacción química.

Los controladores adicionales de la aplicación solo aparecen cuando se muestra un grafo en pantalla. Son los siguientes:

Show/Hide Labels: permite mostrar y quitar los nombres de los nodos de la red.

Show Path: muestra el camino más corto entre dos nodos seleccionados.

Search Node: permite encontrar el nodo cuyo identificador ha escrito el usuario previamente. La aplicación lo pinta de color amarillo para que destaque.

Disease Filter: destaca todos los compuestos relacionados con la enfermedad que el usuario introduce. Este controlador solo está habilitado cuando el grafo está formado por compuestos, ya que la información de las enfermedades se extrae de la HMDB.

Biofluid Filter: similar al controlador anterior, ya que destaca todos los compuestos que se encuentran en el/los biofluidos escritos por el usuario. También se habilita solo cuando los nodos del grafo son compuestos.

Save Subgraph: crea un archivo *.json* con el objetivo de permitir la posterior representación de un nuevo grafo. Por este motivo solo se habilita una vez aplicado *Disease Filter*, *Biofluid Filter* o estando en la escala 2, 3 o 4 de un grafo grande.

Paint Cluster: como se explica en el apartado 4.2, permite identificar a primera vista los miembros de un cluster a través de las diferentes escalas, ya que los pinta del mismo color. Por tanto, este controlador solo aparece en redes grandes.

El efecto de los tres primeros controladores adicionales se puede observar en la Figura 3.

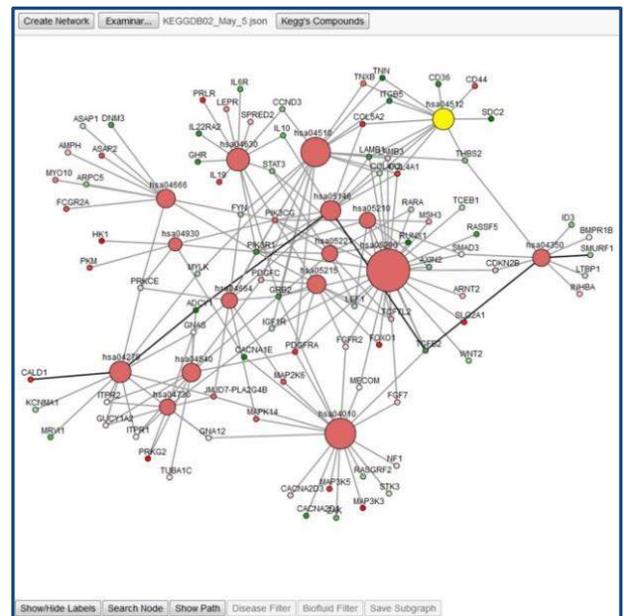


Figura 3. Grafo de pathways (en rosado) y genes pintados según su *fold change value*. Se muestran las etiquetas con los identificadores de los nodos, se ha encontrado el camino más corto entre los genes *CALD1* y *SMURF1* y se ha buscado el pathway *hsa04512*.

La Figura 4 es una demostración del controlador *Disease Filter* en un grupo de compuestos.

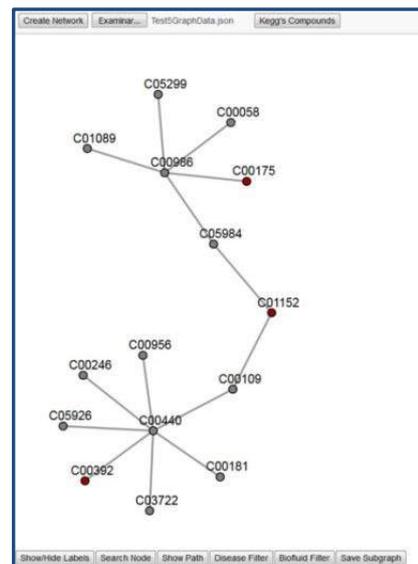


Figura 4. Ejemplo de aplicación del filtro de enfermedades a una red de compuestos. Los que se muestran en granate están relacionados con el Alzheimer.

En la Figura 5 se pueden ver las cuatro escalas del grafo que resulta al utilizar el controlador *KEGG's compounds*.

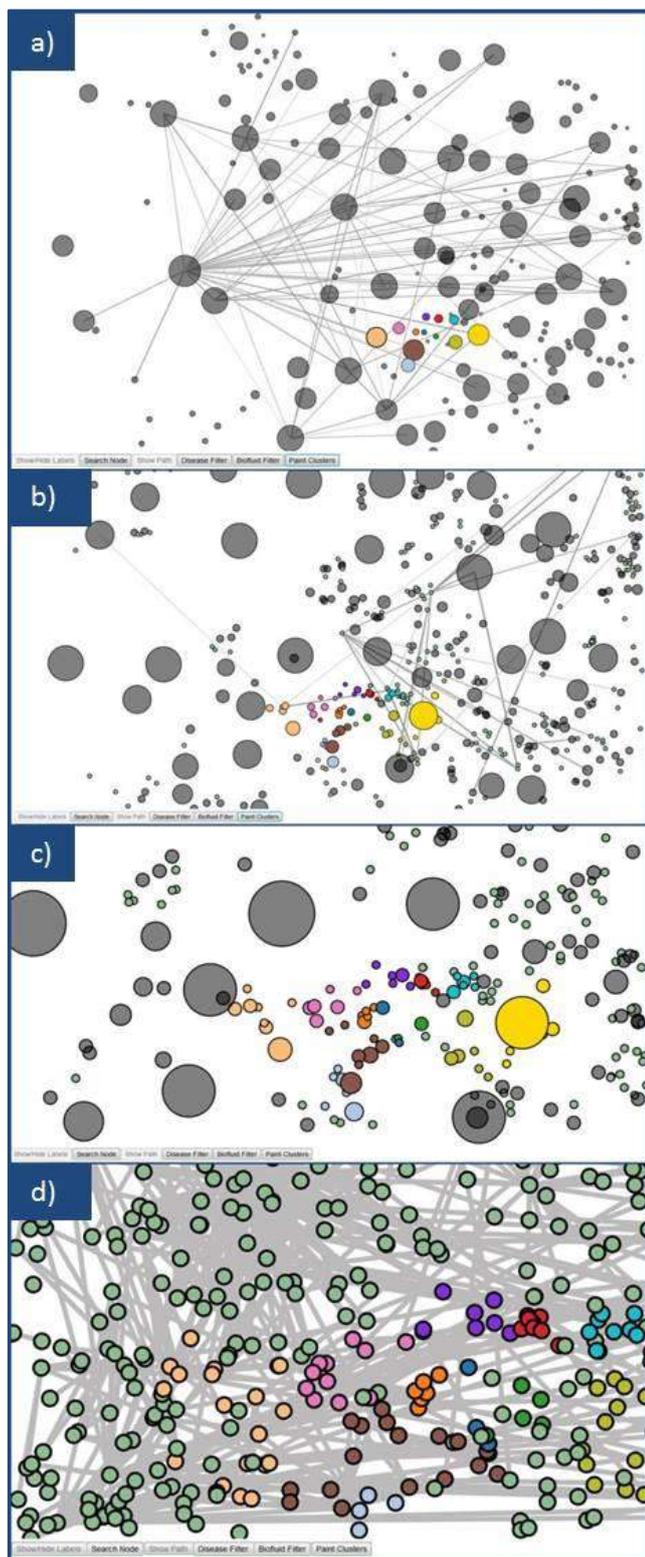


Figura 5. Demostración de los controladores KEGG's *Compounds* y *Paint Clusters*. Algunos clusters se han pintado en la escala 1 (imagen a) y al hacer zoom, en las escalas 2, 3 y 4 (b,c y d, respectivamente) sus miembros han quedado del mismo color. Los nodos en verde claro son compuestos no pertenecientes a los clusters pintados.

En el proyecto se incluye un pequeño tutorial para añadir BiMS Viewer a un paquete de R, dado que *RStudio* se ha utilizado durante el desarrollo del mismo y es un programa muy extendido en bioinformática.

Conclusiones

BiMS Viewer es una herramienta de visualización interactiva de datos biomédicos con un nuevo enfoque respecto a dos aspectos fundamentales: la manera de resolver la representación de grafos grandes sin requerir mucha memoria del ordenador del usuario y la posibilidad de incorporación a programas estadísticos que utilicen el lenguaje R. No incorpora tantas opciones como otras aplicaciones citadas al principio del documento, pero en contrapartida presenta una interfaz mucho más intuitiva de utilizar y tiene un tamaño muy pequeño. Además, el hecho de incluir información de bases de datos importantes es una característica cada vez más valorada en este tipo de herramientas para facilitar la interpretación biológica de los resultados.

Referencias

- [1] Shannon P [et al]. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research* 2003 Nov; 13(11):2498-504
- [2] Página web de Ingenuity Pathway Analysis. Qiagen Redwood City. <http://www.ingenuity.com/products/ipa> (Consultada: Febrero 2015)
- [3] Bik, H.M., Bu, S., Grubbs, W. (manuscrito en preparación). Phinch: An interactive, exploratory data visualization framework for environmental sequence data. <https://github.com/PitchInteractiveInc/Phinch>, (Consultada: Febrero 2015)
- [4] Wright D.W., Angus T., Enright A.J., Freeman T.C. Visualisation of BioPAX Networks using BioLayout Express3D *F1000Research*. 2014, 3:246 (doi: 10.12688/f1000research.5499.1).
- [5] Breitkreutz, B-J, Stark, C, Tyers, M. Osprey: a network visualization system. *Genome Biology* 2003, 4:R22
- [6] Droste, P; Nöh, Ka; Wiechert W. Omix – A Visualization Tool for Metabolic Networks with Highest Usability and Customizability in Focus. *Chemie Ingenieur Technik* 2013, 85, 6, 849–862
- [7] Ogata, H., Goto, S., Sato, K., Fujibuchi, W., Bono, H., Kanehisa, M.; *KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*. *Nucleic Acids Res.* 27, 29-34 (1999)
- [8] Wishart DS, Tzur D, Knox C [et al.], HMDB: the Human Metabolome Database. *Nucleic Acids Res.* (January 2007)
- [9] Página web de D3. <http://d3js.org/> (Consultada: Febrero 2015)
- [10] Von Luxburg, U. *A Tutorial on Spectral Clustering*. *Statistics and Computing*, 17(4):395{416, dec 2007.

Un nuevo lenguaje de marcado para la visualización práctica de la información clínica normalizada

R. Sánchez de Madariaga¹, A. Muñoz Carrero¹, A. Castro Serrano¹, O. Moreno Gil¹, M. Pascual Carrasco¹, C. H. Salvador¹

¹ Unidad de investigación en Telemedicina y e-Salud, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid, España, {ricardo.sanchez,adolfo.munoz,alcastro,omoreno,mario.pascual,chsalvador}@isciii.es

Resumen

Se introduce un nuevo lenguaje de programación de marcado basado en XML especialmente diseñado para la visualización práctica de información clínica normalizada según la norma UNE-EN ISO 13606. Los usuarios de estos sistemas informáticos normalizados son profesionales sanitarios sin conocimientos técnicos en las tecnologías de la información y las comunicaciones. Esta es la primera vez que se aborda sistemáticamente la visualización de información médica normalizada y utilizada por profesionales sanitarios sin conocimientos tecnológicos.

1. Introducción

La atención médica en la actualidad sería inconcebible sin la intervención de la normalización de la información clínica. Gracias a la normalización los diferentes sistemas informáticos que tratan la información médica pueden comunicarse entre sí al conseguir la interoperabilidad semántica necesaria para ello. Además, estos sistemas pueden adaptarse a los cambios que se producen a diario en el conocimiento médico manejado por los profesionales de la salud sin los insuperables problemas que había antes de introducir las normas basadas en el llamado modelo dual [1].

Este modelo, implementado en la norma europea UNE-EN ISO 13606 [2], separa el conocimiento médico de la información clínica en dos niveles de abstracción diferentes, permitiendo que el conocimiento evolucione sin tener que cambiar la información, de forma que los sistemas que lo implementan pueden ser sostenibles y manejables en la práctica.

El nivel de la información se implementa en el Modelo de Referencia (MR) que define la estructura de los elementos de datos que puede utilizarse para representar la información médica en la Historia Clínica Electrónica (HCE). Por su parte el nivel del conocimiento médico se implementa mediante unas estructuras de datos especiales muchas veces llamadas arquetipos [3] que sirven para constreñir la estructura que puede adoptar la información clínica de las HCE. Este constreñimiento refleja la forma del conocimiento médico.

Se diseña, desarrolla y presenta un lenguaje de programación de marcado basado en XML para permitir la visualización de HCE normalizada por usuarios de

sistemas informáticos que carecen de conocimientos técnicos en las TICs, como los profesionales sanitarios. Esta es una de las primeras veces que se aborda sistemáticamente la visualización de este tipo de información por este tipo de usuarios.

2. Materiales y métodos

En la Figura 1 se puede ver la estructura de un Sistema Informático que maneja ficheros XML que representan HCE normalizadas de pacientes clínicos (parte no amarilla). Este sistema tiene como entrada el MR 13606 (estructuras de datos) y 21090 (tipos de datos) [4] por un lado, representando el nivel de la información; y por otro lado los arquetipos 13606 representando el nivel del conocimiento.

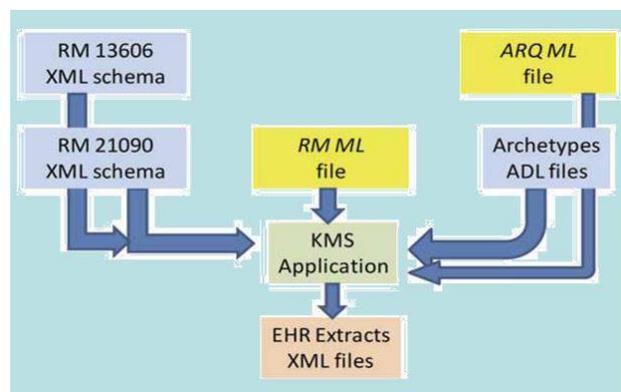


Figura 1. Arquitectura básica de un sistema de información médica

La parte amarilla de la figura representa los dos ficheros escritos en el nuevo lenguaje de marcado, que etiquetan cada uno de los dos niveles respectivamente, llamados fichero RM ML y fichero ARQ ML.

El fichero RM ML aborda las estrategias de visualización de elementos genéricos del MR 13 606. En cambio el fichero ARQ ML puede referirse a la estructura específica del conocimiento médico tal y como está codificada en los arquetipos.

Esta división da lugar a la generación de dos sublenguajes llamados lenguaje RM ML y lenguaje ARQ ML, en los

que están escritos los respectivos ficheros de nombre análogo.

Una capa de software sobre el sistema original procesa los dos ficheros de marcado y da lugar a la correcta visualización de la información normalizada. Los ficheros de marcado mimetizan respectivamente el MR y los arquetipos, de forma que la capa de software que los procesa puede *saber* cuando se produce un *match* con una parte de la estructura del MR o de los arquetipos, cómo quiere el usuario que se visualicen esas partes concretas, utilizando los códigos de visualización que se describen en el siguiente párrafo. La Figura 2 muestra un ejemplo de una parte de los ficheros RM ML y ARQ ML.

```
<ui:VType name="Entry" vv_visible="true" vv_date="2004.08.04" vv_format="panel" vv_number="2" vv_expansion="clickon"
vv_colour="none">
  <ui:VComplexElement name="meaning" vv_visible="true" vv_colour="green" type="CD.CV">
    <ui:VSimpleElement name="displayName" vv_visible="true" vv_colour="none" type="ST">
      <ui:VAttribute name="value"/>
    <ui:VSimpleElement>
      <ui:VAttribute name="codeSystem"/>
    <ui:VAttribute name="codeSystemName"/>
    <ui:VAttribute name="code"/>
  </ui:VComplexElement>
  <ui:VComplexElement name="name" vv_visible="false" vv_colour="none" type="CD.CV">
    <ui:VSimpleElement name="originalText" vv_visible="false" vv_colour="none" type="ED.TEXT">
      <ui:VAttribute name="mediaType"/>
    <ui:VAttribute name="value"/>
  </ui:VComplexElement>
  <ui:VComplexElement>
    <ui:VSimpleElement name="archetypeId" vv_visible="true" vv_colour="red" type="III">
      <ui:VAttribute name="root"/>
    <ui:VSimpleElement>
      <ui:VSimpleElement name="rctd" vv_visible="true" vv_colour="blue" type="III">
        <ui:VAttribute name="root"/>
      <ui:VAttribute name="extension"/>
    </ui:VComplexElement>
  </ui:VType>
RM ML example

<ui:VArchetype name="CEN-CEN13606-Composition.EHR.v1.ad1"
  <ui:VPath>/content[at0001]/items[at0002]/parts[at0003]/parts[at0002]/parts[at0029]
  <ui:VPath>
  <ui:VCodes visible="true" date="2014.08.04" expansion="clickon" color="red"/>
  <ui:VArchetype name="CEN-CEN13606-Composition.EHR.v1.ad1"
  <ui:VPath>/content[at0009]/items[at0010]
  <ui:VPath>
  <ui:VCodes visible="true" date="2004.08.04" expansion="flat color="blue"/>
  <ui:VArchetype>
ARQ ML example
```

Figura 2. Ejemplo de muestras de RM ML y ARQ ML

Los ficheros de marcado utilizan códigos de visualización divididos en cuatro tipos: *visibilidad*, para controlar si un elemento de la HCE será o no visualizado; *formato*, para indicar cómo un elemento será visualizado; *expansión*, para controlar si será expandido el contexto médico-legal de un elemento; y *color*, para determinar el color concreto en que un elemento será desplegado.

3. Resultados

Las gramáticas formales de las dos partes del lenguaje se describen, usando la teoría de lenguajes formales, como gramáticas de árbol de tipo simple. Este es el tipo de gramáticas que se utilizan para definir los lenguajes de marcsdo basados en XML. Este tipo de lenguajes se definen utilizando esquemas W3C XML. Estos ficheros crean un conjunto de nombres y atributos usados por el lenguaje, mimetizando cada uno la estructura del MR y de los arquetipos.

Los esquemas W3C XML que representan el MR ISO/EN 13606 son utilizados por el sistema para construir una representación en memoria de clases Java del árbol que representa la HCE. Esta representación de clases Java en memoria se hace automáticamente utilizando tecnología JAXB (Java XML Binding) a partir de los ficheros XML que representan los esquemas del MR.

Los arquetipos del modelo dual se representan mediante ficheros escritos en ADL (Archetype Description

Language) [5]. Este lenguaje está también definido en la norma UNE/EN ISO 13606 y se ha construido una representación de clases Java en memoria del AOM (Archetype Object Model) de la norma para construir arquetipos descritos mediante ADL utilizando un parser de este lenguaje.

Cuando un fichero XML representando un extracto de HCE se carga desde el disco, un intérprete del nuevo lenguaje atraviesa su representación en memoria en forma de árbol y la anota con las etiquetas de visualización especificadas en los ficheros RM ML y ARQ ML, cuando se produce un *match* entre la estructura del árbol de la HCE y la estructura del MR y de los arquetipos etiquetada por los ficheros del nuevo lenguaje. De esta forma el sistema sabe cómo el usuario quiere que se visualice cada elemento individual de la HCE, y así puede ejecutarlo.

4. Discusión

La información médica *normalizada* parece tener características especiales diferentes de la ‘información médica’. El hecho de la normalización impone ciertas condiciones a la forma en que la HCE debe visualizarse. Los arquetipos tienen una estructura lógica que tiende a agrupar conceptos médicos relacionados en paneles (llamados *Entries*) que contienen pares nombre/valor (ver Figura 3); o bien conceptos agrupados en los llamados *Clusters* que se visualizan en forma de tablas que contienen filas y columnas etiquetadas (ver Figura 4), donde cada fila representa una instancia de cada grupo de conceptos, cada columna una característica de esos conceptos y cada celda de intersección un valor individual.

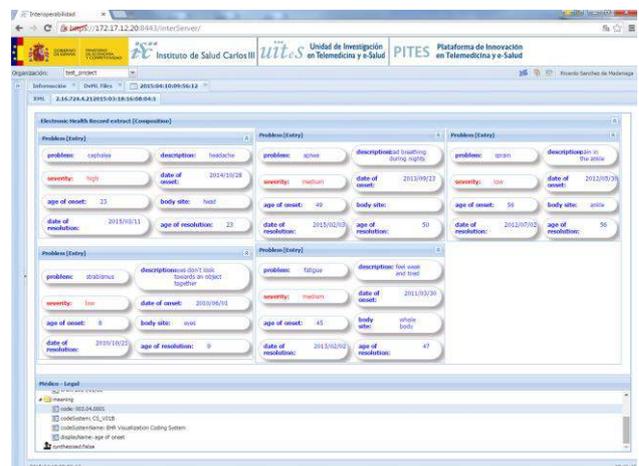


Figura 3. Ejemplo de visualización de Entries

Sin embargo un usuario de un sistema informático que maneja HCE, normalmente un profesional sanitario sin conocimientos sobre las TICs, no debería visualizar toda la información a la vez. Esto se debe a que hay evidentes limitaciones como el tamaño de la pantalla del sistema informático. Además, el profesional médico querrá ver unas partes de la HCE u otras dependiendo del momento y del contexto en que la esté visualizando. Esto significa que la visualización debe ser subjetiva, y adaptada a cada circunstancia. De esta forma en el futuro un profesional

sanitario sin conocimientos tecnológicos de TIC al que se le proporcione una GUI adecuada puede programar fácilmente ficheros RM ML y ARQ ML y visualizar los

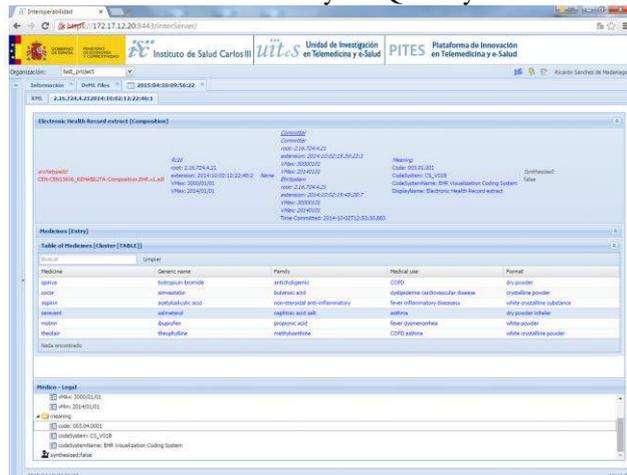


Figura 4. Ejemplo de visualización de Clusters

extractos de HCE de acuerdo con sus necesidades particulares en cada momento y contexto, de una forma amigable y práctica que contribuye a mejorar el rendimiento y la productividad de su trabajo.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por los proyectos PI09/90110 "Plataforma de innovación en nuevos servicios de telemedicina y eSalud para pacientes crónicos y dependientes - PITES", PI12/00508 "Plataforma de innovación en nuevos servicios de Telemedicina y e-Salud: Definición, diseño y desarrollo de herramientas para interoperabilidad, seguridad del paciente y ayuda a la decisión - PITES-ISA" y

PI12/01476 " Continuidad de la asistencia basada en estándares de tecnología y conocimiento: arquitectura tecnológica para usos primario y secundario de la información – CAMAMA2" del Fondo de Investigación Sanitaria (FIS) Plan Nacional de I+D+i.

Referencias

Enumere todas las referencias bibliográficas, por orden de aparición en el documento, al final de la comunicación. Al referirse a ellas en el texto, escriba el número correspondiente entre corchetes, siguiendo [1] si se trata de un libro, si es un artículo en revista usar [2], si es una comunicación en un congreso [3] y si es una referencia a un recurso en Internet usar [4].

- [1] Beale T. Archetypes: constraints-based domain models for future-proof information systems. Citeseer. <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.147.8835&rep=rep1&type=pdf> (Consultada: Julio 2015)
- [2] Página Web del CEN/ISO EN 13606 standard. EN13606 Association. <http://www.en13606.org/the-ceniso-en13606-standard> (Consultada: Julio 2015)
- [3] Kalra D, Beale T, Lloyd D et al., eds. Electronic Health Record Communication Part 2: Archetype Interchange Specification. ISO 13606-2. ISO, 2008, Geneva
- [4] ISO 21090:2011 Health informatics Harmonized data types for information interchange. International Organization for Standardization, 2011, Geneva
- [5] Beale T. The openEHR Archetype Model Archetype Definition Language ADL 2 OpenEHR Disponible en: <http://www.openehr.org> (Consultada: Julio 2015)

Definición de subconjuntos en SNOMED CT

V. M. Giménez Solano¹, J. A. Maldonado Segura^{1,2}, M. Robles Viejo¹

¹ Instituto de Aplicaciones de las Tecnologías de la Información y las Comunicaciones Avanzadas (ITACA),
Universitat Politècnica de València, Valencia, España, vigiso, jamaldo, mrobles @upv.es

² VeraTech for Health, Valencia, España, jamaldo@veratech.es

Resumen

Dentro del objetivo de desarrollar sistemas de información clínicos eficientes y eficaces, se halla el reto de que sean semánticamente interoperables, es decir, que entiendan la información intercambiada entre ellos. Para lograr esta interoperabilidad semántica, los modelos de información clínica deben enlazarse con terminología clínica para poder definir inequívocamente su significado y contenido. Por un lado, las terminologías clínicas permiten definir el significado de las estructuras de información contenidas en los modelos de información (enlace semántico). Por otro lado, en numerosos casos se debe restringir el subconjunto de códigos que un campo del modelo de información puede contener (enlace de contenido). La International Health Terminology Standards Development Organisation (IHTSDO) ha desarrollado un lenguaje para la especificación de restricciones sobre expresiones de SNOMED CT, que permite especificar ambos tipos de enlaces. Para dar soporte a este lenguaje y poder así definir intensionalmente subconjuntos de conceptos de SNOMED CT, hemos desarrollado un motor de ejecución, accesible públicamente en su versión beta en <http://tiny.cc/SNQuery>, que valida sintácticamente y evalúa estas restricciones.

1. Introducción

La interoperabilidad semántica ha de ser una propiedad de los sistemas de información, puesto que permite la comunicación a lo largo y ancho de las estructuras de atención sanitaria. En las instituciones sanitarias coexisten multitud de sistemas de información diferentes, de modo que la información almacenada forma islas independientes. Cuando se accede a la información de un paciente, la posibilidad de estar consultando información parcial constituye un riesgo potencial para el mismo. Existen, por tanto, grandes beneficios en el diseño y construcción de sistemas de información semánticamente interoperables, como la integración de la información del paciente, con la consecuente mejora de la adecuación en la toma de decisiones, la obtención de estadísticas e indicadores en tiempo real o la distribución universal de la información [1].

Alcanzar la interoperabilidad semántica no es una tarea sencilla. Existen tres pilares fundamentales sobre los que se asienta. Por una parte, los modelos de información, formados por los estándares de almacenamiento y comunicación de Historia Clínica Electrónica (modelos de referencia HL7 CDA, EN ISO 13606 u openEHR), y los modelos de información clínica detallados (arquetipos, plantillas, interfaces visuales, etc.). Y, por otra parte, los modelos terminológicos o de conceptos (terminologías

clínicas, tales como SNOMED CT). Para lograr la interoperabilidad semántica es condición necesaria enlazar los modelos de información con las terminologías clínicas. Existen dos variantes a la hora de realizar este enlace terminológico. En primer lugar, el enlace semántico, que se ocupa de dotar de significado inequívoco a las estructuras de información contenidas en el modelo de información. Y, en segundo lugar, en muchas ocasiones se precisa de un enlace de contenido, debido a la necesidad de restringir el subconjunto de códigos asociado a un elemento del modelo de información.

SNOMED CT (Systematized Nomenclature of Medicine – Clinical Terms) es la terminología clínica integral, multilingüe y codificada de mayor amplitud, precisión e importancia desarrollada en el mundo.

Existen dos posibilidades a la hora de definir un subconjunto de conceptos de SNOMED CT. Por una parte, es posible especificar los conceptos de manera extensional, esto es, listándolos. No obstante, esta aproximación presenta algunos inconvenientes, como la posibilidad de que algún código cambie con el tiempo, lo que conllevaría a que el subconjunto especificado contuviera códigos erróneos. Además, la terminología SNOMED CT está formada por cientos de miles de códigos de conceptos, con lo que es posible definir subconjuntos de SNOMED CT con una cantidad de conceptos tan grande que sería inviable hacerlo extensionalmente. Para solucionar esto, existe la posibilidad de especificar los subconjuntos de manera intensional, es decir, mediante la especificación de restricciones sobre expresiones de SNOMED CT que circunscriban los conceptos de SNOMED CT a únicamente aquellos que se quiera incluir en el subconjunto y que, tras la evaluación de dichas restricciones, genere el subconjunto de conceptos. Para este propósito, IHTSDO, que es la organización que se encarga del mantenimiento y distribución de SNOMED CT, ha desarrollado un lenguaje para la especificación de restricciones sobre expresiones de SNOMED CT.

El objetivo de este artículo es presentar este lenguaje para la especificación de restricciones y un motor de ejecución. Para acometer nuestro objetivo, se hace un repaso a los requisitos que es necesario conocer para abordar la especificación de restricciones, tales como la definición de expresiones precoordinadas y postcoordinadas, la Gramática Composicional y el Modelo de Conceptos de SNOMED CT.

2. Material y métodos

Una expresión de SNOMED CT es un conjunto de conceptos (identificador y, opcionalmente, descripción), sintácticamente combinados, que representan una idea clínica. El uso de estas expresiones proporciona un modo estandarizado de representar conocimiento clínico capturado por clínicos y permite una interpretación automática de estos conocimientos. Existen dos tipos de expresiones de SNOMED CT: las expresiones precoordinadas, formadas por un solo identificador de concepto, y las postcoordinadas, formadas por más de uno. Estas expresiones representan una (y solo una) idea clínica, de un modo lógico y procesable automáticamente. Se construyen a partir de la Gramática Composicional de SNOMED CT. Por ejemplo, la siguiente es una expresión precoordinada, y como tal, existe en la base de datos de SNOMED CT (los acentos se han omitido deliberadamente por no estar admitidos en la sintaxis):

174041007 |apendicectomia laparoscopica de emergencia|

donde, según la sintaxis de la gramática composicional, 174041007 es el identificador del concepto, y |apendicectomia laparoscopica de emergencia| es la descripción encerrada entre barras. En el caso de que esta expresión precoordinada y, por ende, la idea clínica que expresa, no existiera como tal en la base de datos de SNOMED CT, sería posible expresarla mediante una expresión postcoordinada, de esta manera:

80146002 |apendicectomia|:

260870009 |prioridad| = 25876001 |emergencia|,

425391005 |dispositivo de acceso| = 86174004 |laparoscopia|

donde, según la sintaxis de la gramática composicional de SNOMED CT, 80146002 |apendicectomia| es el concepto foco, 260870009 |prioridad| y 425391005 |dispositivo de acceso| son nombres de atributos de ese concepto foco (i.e. relaciones de SNOMED CT), y 25876001 |emergencia| y 86174004 |laparoscopia| son los valores que toman dichos atributos. Asimismo, el símbolo “:” indica el inicio del refinamiento (léase *tal que*) que se aplica al concepto foco, y el símbolo “=” se utiliza para formar los pares *nombre de atributo-valor del atributo*. La “,” que aparece entre los dos pares atributo-valor, funciona como operador “AND” lógico (para simplificar, al par atributo-valor se le llama simplemente atributo). Así pues, la expresión postcoordinada anterior puede leerse como una apendicectomía, tal que su prioridad es emergencia y el dispositivo de acceso utilizado es un laparoscopia.

Es importante subrayar que toda expresión precoordinada forma parte del núcleo de conceptos de SNOMED CT. Mientras que, por el contrario, las expresiones postcoordinadas no existen en dicho núcleo. Es decir, la postcoordinación se encarga de crear nuevos conceptos de SNOMED CT, y esto le confiere una enorme potencia, puesto que permite llegar al nivel de granularidad necesario para expresar el conocimiento clínico

pretendido, sin obligar a SNOMED CT a contener todos los posibles conocimientos clínicos imaginables en forma de expresiones precoordinadas, lo que resultaría poco menos que inviable. Un ejemplo clarificador sería un concepto tan específico como “quemadura de piel de tercer grado en el dedo índice de la mano izquierda causada por agua caliente”. Este concepto se puede representar por medio de una expresión postcoordinada:

284196006 |quemadura de piel|:

116676008 |morfologia asociada| = 80247002 |quemadura de tercer grado|,

272741003 |lateralidad| = 7771000 |izquierdo|,

246075003 |agente causal| = 47448006 |agua caliente|,

363698007 |sitio del hallazgo| = 83738005 |dedo indice|

Para construir las expresiones postcoordinadas es necesario seguir el modelo de conceptos de SNOMED CT, que es un conjunto de reglas que determinan los conjuntos de relaciones permitidas entre tipos particulares de conceptos. Dicho de otro modo, dado un atributo de SNOMED CT, el modelo de conceptos es el encargado de establecer sobre qué conceptos puede aplicarse (dominio del atributo) y qué valores puede tomar dicho atributo (rango del atributo).

De modo que las expresiones precoordinadas y postcoordinadas de SNOMED CT, construidas formalmente sobre la base de la sintaxis de la Gramática Composicional de SNOMED CT, dado que expresan una sola idea o conocimiento clínico, son aptas para realizar el enlace semántico entre modelos de información y la terminología SNOMED CT. Llegados a este punto, es necesario hacer uso de una sintaxis más potente y amplia que la Gramática Composicional de SNOMED CT, y así obtener la capacidad de especificar conjuntos de ideas clínicas (i.e. subconjuntos de conceptos de SNOMED CT) para poder realizar el enlace de contenido entre los modelos de información y la terminología SNOMED CT. Para ello, IHTSDO ha desarrollado el Lenguaje para la Especificación de Restricciones de Expresiones de SNOMED CT. El propio IHTSDO define la restricción de expresiones de SNOMED CT como una *regla computable que puede ser utilizada para definir un conjunto acotado de conocimientos clínicos, representados tanto por expresiones precoordinadas como postcoordinadas*. Asimismo, las restricciones de expresiones de SNOMED CT pueden ser utilizadas como restricciones formales del contenido de un elemento de datos particular en una Historia Clínica Electrónica (enlace de contenido), como la definición intensional de un subconjunto de conceptos, como una consulta procesable por computador que identifica a un determinado conjunto de expresiones precoordinadas y postcoordinadas, o como una restricción que limita el rango de un atributo definido en el modelo de conceptos de SNOMED CT.

La estructura de esta sintaxis es semejante a la Gramática Composicional de SNOMED CT, pero con ampliaciones y alguna diferencia. A grandes rasgos, para especificar restricciones sobre expresiones de SNOMED CT, es

necesario seleccionar un subconjunto de conceptos de SNOMED CT (y no un solo concepto, como ocurría en la gramática composicional) y, opcionalmente, refinarlo mediante atributos y valores para dichos atributos.

Para agilizar el proceso de comprensión y aprendizaje de este lenguaje se exponen una serie de ejemplos que van aumentando en complejidad. Conviene subrayar que la versión utilizada del lenguaje es la más reciente en el momento en que se escribe este artículo (fecha de especificación del lenguaje: 14/05/2015; versión: 0.06; estado: borrador) [1].

Existen dos tipos de restricciones de expresiones: sin refinamiento, que puede ser simple o compuesta; y con refinamiento, mediante conjuntos de atributos y/o grupos de atributos. Veamos algunos ejemplos de restricciones de expresiones simples y compuestas:

< 404684003 |hallazgos clinicos|

Restricción simple que selecciona todos los hallazgos clínicos de SNOMED CT (i.e. descendientes del concepto 404684003 |hallazgos clinicos|).

<19829001 |trastorno de pulmon| AND <301867009 |edema de tronco|

Restricción compuesta que selecciona todos los trastornos de pulmón que, además, son edemas de tronco.

<233604007 |neumonia| MINUS <233613009 |neumonia micotica|

Restricción compuesta que selecciona todas las neumonías menos las que son micóticas (obsérvese que al revés se obtendría el conjunto vacío ya que en la diferencia de conjuntos no se cumple la propiedad conmutativa).

< 404684003 |hallazgos clinicos|:

246075003 |agente causal| = (< 409822003 |bacteria| OR < 49872002 |virus|)

Restricción con refinamiento que selecciona todos los hallazgos clínicos de SNOMED CT que están causados por algún tipo de bacteria o virus.

< 404684003 |hallazgos clinicos|:

{ 363698007 |sitio del hallazgo| = << 39057004 |estructura de la valvula pulmonar|,

116676008 |morfologia asociada| = << 415582006 |estenosis| }

AND

{ 363698007 |sitio del hallazgo| = << 53085002 |estructura del ventriculo derecho|,

116676008 |morfologia asociada| = << 56246009 |hipertrofia| }

Restricción con refinamiento que especifica el subconjunto formado por estenosis en la válvula pulmonar que, además, son hipertrofias en el ventrículo derecho. Nótese el uso de grupos encerrados entre llaves

para evitar la inclusión de estenosis del ventrículo derecho e hipertrofias de la válvula pulmonar.

Conviene recordar que aquí se muestran ejemplos relativamente sencillos. El lenguaje es capaz de definir restricciones complejas haciendo uso de cardinalidades en los atributos, cardinalidades a nivel de grupo, caracteres comodín (“*”), anidamiento de restricciones e incluso combinaciones de varios subconjuntos.

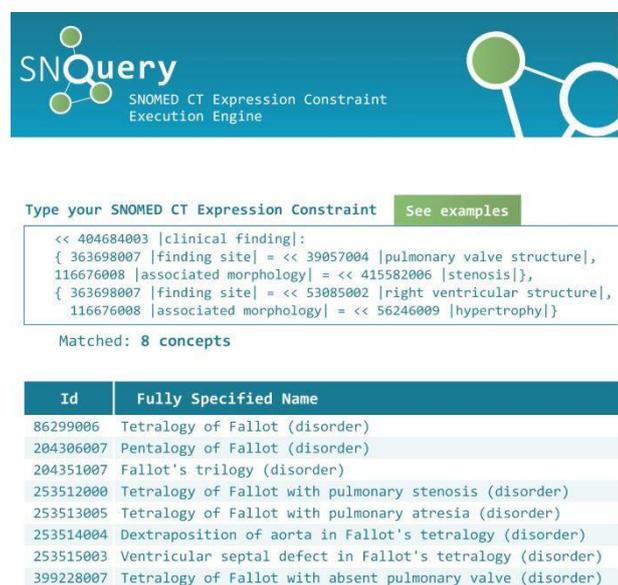
3. Resultados

Para dar soporte al Lenguaje de Especificación de Restricciones de Expresiones de SNOMED CT, y poder enlazar la Historia Clínica Electrónica con SNOMED CT, hemos desarrollado SNQuery, un motor de ejecución de restricciones sobre expresiones de SNOMED CT con el lenguaje de programación Java, cuya versión beta está disponible vía web en <http://tiny.cc/SNQuery>. Además, se ha creado una base de datos con el contenido de SNOMED CT, a partir de los ficheros relacionales que se encuentran disponibles en el área de descarga de SNOMED CT de la página web del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad español. Para crear y gestionar la base de datos se ha utilizado Neo4j, que es un software libre de bases de datos orientadas a grafos. El grafo construido contiene un total de 300542 nodos (conceptos de SNOMED CT) y casi un millón y medio de relaciones entre dichos nodos (atributos de SNOMED CT), incluyendo la relación de especialización IS_A. Dada la envergadura del grafo, en aras de agilizar el proceso de consulta se ha incluido la clausura transitiva de todos sus nodos (en total, más de cinco millones de relaciones).

La versión de la base de datos de SNOMED CT empleada ha sido la edición internacional de 31/07/2014 (conviene recordar que IHTSDO lanza una versión actualizada semestralmente). En el futuro se prevé añadir a SNQuery la edición en español de la base de datos de SNOMED CT como alternativa de consulta de los subconjuntos de conceptos. Asimismo, la versión del lenguaje sobre el que trabaja esta primera versión (beta) del motor de ejecución SNQuery, es la v0.03 de 2014, que se encuentra en estado borrador. Actualmente estamos trabajando en la actualización de SNQuery a la nueva sintaxis del lenguaje, lanzada por IHTSDO en mayo de 2015 (v0.06) y que también se encuentra en estado borrador. Esta versión contiene algunas ampliaciones respecto a la anterior que la hacen todavía más potente. Se han mejorado algunos aspectos y solucionado algunos puntos que quedaron pendientes en la versión anterior. Es importante remarcar que hemos participado en la comunidad de revisión de la versión 0.06 de la sintaxis y, como resultado de este proceso de evaluación, se han propuesto algunas mejoras a IHTSDO.

Cuando se introducen restricciones sobre expresiones de SNOMED CT en SNQuery, el motor, en primera instancia, analiza las restricciones sintácticamente para validarlas con la sintaxis de restricción de expresiones de IHTSDO (v0.03). Una vez la restricción es sintácticamente correcta, se valida semánticamente, esto es, se analiza la expresión desde el punto de vista de las

reglas definidas en el Modelo de Conceptos de SNOMED CT. Para ello se ha hecho uso del Machine Readable Concept Model (MRCM), que representa estas reglas de forma que pueden ser leídas por ordenador y aplicadas para comprobar si se cumplen o no. Finalmente, si la restricción es semánticamente válida, se evalúa. Esto se consigue llevando a cabo un proceso de traducción de restricciones de expresiones de SNOMED CT a un lenguaje de consultas sobre la base de datos que contiene la terminología, en nuestro caso, el lenguaje de consultas Cypher Query Language. La consulta en lenguaje Cypher se ejecuta sobre el sustrato de SNOMED CT y retorna el subconjunto de conceptos definido por las restricciones especificadas (véase la Figura 1). De este modo, se consigue definir intensionalmente un subconjunto de conceptos de SNOMED CT que puede ser enlazado con los modelos de información, lo que constituye un paso necesario en el camino hacia la interoperabilidad semántica.



The screenshot shows the SNQuery interface with a query input field containing a Cypher query. Below the query, it indicates 'Matched: 8 concepts' and displays a table of results.

Id	Fully Specified Name
86299006	Tetralogy of Fallot (disorder)
204306007	Pentalogy of Fallot (disorder)
204351007	Fallot's trilogy (disorder)
253512000	Tetralogy of Fallot with pulmonary stenosis (disorder)
253513005	Tetralogy of Fallot with pulmonary atresia (disorder)
253514004	Dextraposition of aorta in Fallot's tetralogy (disorder)
253515003	Ventricular septal defect in Fallot's tetralogy (disorder)
399228007	Tetralogy of Fallot with absent pulmonary valve (disorder)

Figura 1. Vista parcial de SNQuery con una consulta y los conceptos obtenidos

El motor SNQuery está disponible en tres idiomas (español, inglés y valenciano). Permite elegir si solo queremos validar sintácticamente la restricción (opción fijada por defecto), si queremos validarla semánticamente y evaluarla (i.e. ejecutar la consulta y obtener el subconjunto de conceptos de SNOMED CT), si solo queremos validarla semánticamente (útil para validar expresiones postcoordinadas) o si solo queremos evaluarla. Es conveniente remarcar que si evaluamos una restricción sin validarla semánticamente, existe la posibilidad de que no retorne ningún resultado. Esto puede ser debido a que la restricción no sea válida semánticamente, aunque también existe la posibilidad de que sea válida semánticamente pero no retorne ningún concepto. Asimismo permite limitar el número de conceptos del subconjunto obtenido, ordenarlos según

ciertos parámetros y exportar los resultados a diversos formatos.

4. Trabajos futuros

En el futuro se prevé añadir la funcionalidad de comprobar si una expresión postcoordinada es “compatible” con cierta restricción de expresiones. Dicho de otra manera, si añadimos el concepto definido por la expresión postcoordinada al grafo de SNOMED CT y evaluamos la restricción de expresiones en cuestión, ¿el concepto definido por dicha expresión postcoordinada forma parte del subconjunto de conceptos definido por la restricción? Incluso es viable la creación de un grafo personalizado con nuestras propias expresiones postcoordinadas de SNOMED CT, y realizar nuestras consultas sobre dicho sustrato.

El objetivo final de la implementación del motor de ejecución de restricciones de expresiones de SNOMED CT, SNQuery, es su inclusión en la plataforma de normalización LinKEHR [6] para la edición avanzada de modelos de información de Historia Clínica Electrónica expresados como arquetipos. Cada arquetipo debe ser enlazado con códigos terminológicos que pasarán a ser la capa de descripción semántica de la estructura del arquetipo. Para dicho enlace terminológico se hará uso del lenguaje de especificación de restricciones de expresiones de SNOMED CT de IHTSDO. El siguiente paso será el enriquecimiento de la sección invariante de los arquetipos. La sección invariante en un arquetipo presenta afirmaciones que se refieren a la totalidad del arquetipo, y puede ser utilizada para definir restricciones que no son expresables dentro de la sección de definición del arquetipo. Actualmente esta sección está subutilizada. Son necesarios otros tipos de conocimiento, tales como conocimiento no-ontológico (contingente).

Referencias

- [1] Carnicero J, Fernández A. *Manual de Salud Electrónica para Directivos de Servicios y Sistemas de Salud*. Cap. XV Interoperabilidad (Selene Indarte), 2012.
- [2] International Health Terminology Standards Development Organisation (IHTSDO). *SNOMED CT Expression Constraint Language Specification and Guide*, v0.06, 2015.
- [3] International Health Terminology Standards Development Organisation (IHTSDO). *SNOMED CT Compositional Grammar Specification and Guide*, v2.02, 2015.
- [4] International Health Terminology Standards Development Organisation (IHTSDO). *SNOMED CT Starter Guide*, 2014.
- [5] International Health Terminology Standards Development Organisation (IHTSDO). *SNOMED CT Technical Implementation Guide*, 2015.
- [6] J. A. Maldonado, D. Moner, D. Bosca, J. T. Fernández-Breis, C. Angulo, and M. Robles, *LinKEHR-Ed: a multireference model archetype editor based on formal semantics*, Int. J. Med. Inform., vol. 78, no. 8, pp. 559–70, Aug. 2009.

Sistema de trazabilidad para embriones criopreservados (STEC): Pruebas preliminares de validación

J.C. Gómez-Blanco¹, J.B. Pagador¹, E. Matilla², N. Hernández², J. Mijares^{2,3}, I.S. Álvarez³, F.M. Sánchez-Margallo⁵

¹ Unidad de Bioingeniería y Tecnologías Sanitarias, Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres; España, {jcgomez, jbpagador} @ccmijesususon.com

² Unidad de Reproducción Asistida, centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España, {ematilla, nhernandez, jmijares} @ccmijesususon.com

³ Clínica Norba, Ginecología y Reproducción. Cáceres; España, {jmijares} @clinicanorba.com

⁴ Instituto Extremeño de Reproducción Asistida González Carrera. Badajoz; España, {ialvarez} @unex.es

⁵ Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España, {msanchez} @ccmijesususon.com

Resumen

La incorporación de tecnología de radiofrecuencia (RFiD) y de códigos de barras (CBR) como sistemas de trazabilidad para la localización de material biológico en almacenamiento puede suponer un cambio importante en la forma en la que se controlan y administran tanto los almacenes como las clínicas. Para poder desarrollar e incorporar esos sistemas de trazabilidad a una clínica de reproducción asistida la tecnología asociada debe ser capaz de operar de forma precisa y fiable en los ambientes a los que van a ser expuestos. Con ese fin se realizaron pruebas para comprobar el correcto funcionamiento de las etiquetas RFiD y CBR seleccionadas cuando son sometidas a temperaturas próximas a -200°C. Las pruebas consistieron en una recreación de los procesos de vitrificación (variación de temperatura de 37°C a -196°C en pocos segundos) y desvitrificación (variación de temperatura de -196°C a 37°C en pocos segundos) y de almacenamiento continuo (Temperatura de -196°C en largos intervalos de tiempo). Con esas condiciones, para 10 prototipos, se consiguieron unos ratios de lectura del 99.60% para la vitrificación-desvitrificación y del 100% para las diferentes mediciones en almacenamiento continuo. Con estos resultados se hace patente la posible utilización de esta tecnología a muy baja temperatura además de la necesidad de seguir investigando para conseguir obtener un sistema de trazabilidad óptimo para las clínicas.

1. Introducción

La correcta identificación de un producto en el seno de una industria es un hecho de gran relevancia en el correcto funcionamiento de cualquier empresa. La incorporación de sistemas de trazabilidad, “sistemas con capacidad para seguir la historia, aplicación o la localización de todo aquello que está bajo consideración” [1], ha permitido que esa identificación se realice de forma mucho más óptima que una manual, lo que ha llevado a un aumento de la calidad y la fiabilidad de los productos. Estos sistemas se basan en una serie de tecnologías muy diversificada y en constante evolución, las más populares son los códigos de barra (CBR) y los tags de radiofrecuencia (RFiD).

La evolución de la tecnología está llevando tanto al RFiD como al CBR a ser capaz de operar de forma fiable en condiciones cada vez más adversas. Investigadores de tecnología RFiD como Bettendorf et al [2] comprobaron cómo se comportaban ciertos chips electrónicos cuando

eran sometidos a temperaturas cercanas a -200°C obteniendo resultados muy satisfactorios y prometedores que han llevado a otros investigadores como Shapiro [3] y Cauchois [4] a realizar estudios de comportamiento mecánico y térmico mediante análisis numéricos, obteniendo las causas más frecuentes de fallo en esas condiciones extremas. Además del RFiD para realizar la trazabilidad de material biológico, Novo [5, 6] ha utilizado CBR microscópico, que mediante su implantación en la zona pelúcida de ciertas células, ha permitido realizar su localización e identificación un cierto material biológico.

La comprobación del correcto funcionamiento de tecnología de trazabilidad, bajo unas ciertas condiciones ambientales concretas a muy baja temperatura (cercanas a -200°C), proviene de la necesidad de almacenar y preservar materiales biológicos, que varían desde una simple muestra de sangre hasta embriones. Pero, a pesar de la evolución que ha sufrido el mundo de la medicina a lo largo de los últimos años, la identificación de ciertos materiales biológicos se sigue realizando en la mayoría de los casos de forma tradicional, utilizando pegatinas o escrito a mano.

Los laboratorios de reproducción asistida son unos de los laboratorios que tienen condiciones ambientales más extremas ya que para almacenar el material biológico normalmente utilizado (ovocitos, esperma,...) son necesarias temperaturas de -196°C (fase líquida del Nitrógeno). No obstante, y a pesar de que la identificación actual de ese material biológico se realiza mediante escritura directa en las pajuelas (recipientes de conservación) los fallos en esa identificación son muy poco frecuentes, ello es debido a los exhaustivos controles de las clínicas, aún así, existen casos, muy mediáticos, de fallos en la identificación [7], debidos principalmente a que de forma general no existe un sistema de control y trazabilidad que ayude a aumentar la seguridad, y como consecuencia la calidad, en las clínicas de reproducción asistida.

Con el fin de dar una primera solución a este problema se realizaron una serie de pruebas a estas dos tecnologías de identificación (CRB y RFiD) sometiéndolas a diferentes procesos y condiciones ambientales de un laboratorio de reproducción asistida.

2. Sistema teórico de trazabilidad

El desarrollo de este trabajo consiste en obtener un sistema de registro para reproducción asistida que lleva incorporado una etiqueta RfID para poder realizar la trazabilidad de cada material biológico además, de un método complementario, basado en tecnología CBR, que hace las funciones de sistema de seguridad en el caso de fallo por parte del principal (RfID)

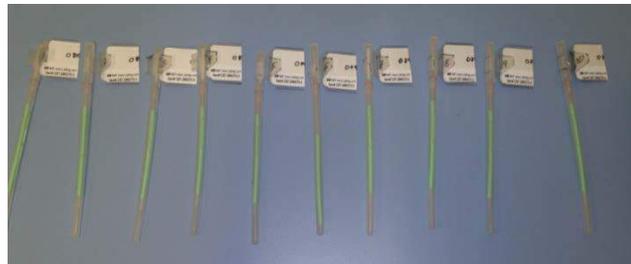


Figura 1. Prototipos realizados para las pruebas

3. Pruebas realizadas

El objetivo de las pruebas realizadas, usando el protocolo utilizado por Leung et al [8] con algunas modificaciones en los tiempos de exposición, es comprobar el comportamiento de cada elemento de nuestro prototipo en las condiciones que se dan en el almacenamiento de material biológico, en el caso de las clínicas de reproducción asistida pajuelas en tanques de nitrógeno líquido. Para ello se realizaron dos clases de pruebas diferentes; la primera, *pruebas de durabilidad* consistentes en recrear las condiciones a las que están sometidas las pajuelas durante su almacenamiento y la segunda, *ciclos de frío-calor* consistentes en recrear las condiciones de los procesos de vitrificación y desvitrificación.

3.1. Pruebas de durabilidad

Una vez comprobado el correcto funcionamiento de cada elemento del prototipo mediante su correspondiente lectura, se procedió al almacenamiento de diez prototipos en un tanque con Nitrógeno en fase líquida (a -196°C y 1 atm) durante 6 meses. Se realizaron lecturas de cada elemento, obteniendo mediciones a los 15 y 30 días y 2, 3 y 6 meses.

3.2. Ciclos de Frío-Calor

Realizadas las pruebas de comprobación iniciales, 10 prototipos diferentes se sometieron a unas pruebas de estrés térmico consistentes en recrear el proceso de desvitrificación, variación de la temperatura de -196°C a 37°C , y posteriormente el proceso contrario de vitrificación, variación de la temperatura de 37°C a -196°C , realizando antes de cada variación de temperatura una comprobación de la correcta lectura de cada elemento. Se comprobó de manera experimental que el tiempo mínimo necesario para que los prototipos alcanzaran las diferentes temperaturas es de 2 minutos. En adelante llamaremos Medida en Frío (MF) y Medida en Caliente (MC) a la recreación del proceso de desvitrificación y vitrificación con la lectura de cada elemento respectivamente. Así pues, los ciclos de Frío-Calor consistieron en 50 repeticiones de MF y MC para cada prototipo respetando el tiempo de atemperación, obteniendo un total de 100 mediciones para cada uno de ellos.

Se han realizado una serie de prototipos (figura 1) con las etiquetas RfID-UHF AT-0472, las etiquetas CBR CST-28NOT0.25 y CST-28NOT0.5 y pajuelas McGill Cryoleaf de Origio. Durante el transcurso de las diferentes pruebas se utilizaron los lectores CaenRfID R1260I y Seuic AUTOID6-U8 para comprobar las lecturas de cada etiqueta.

4. Nomenclatura

Se definirán varios conceptos fundamentales para poder detallar los resultados obtenidos:

- *Lectura directa (LD)* como aquella en la que el dispositivo se ha leído al primer o segundo intento de lectura. Los posibles valores son 0 (no lectura) ó 1 (lectura correcta).
- *Lectura indirecta (LI)* como aquella que se ha realizado entre el segundo y quinto intento de lectura. Los posibles valores son 0 (no lectura) ó 1 (lectura correcta).
- *No lectura (NL)* como aquella en la que no se ha podido obtener una lectura antes del quinto intento.
- *Identificación* como el hecho de que el material biológico esté identificado directa o indirectamente por el RfID o el CBR o ambos a la vez. En función de la definición del sistema deseado, el valor de Identificación se calculará como media ponderada de las lecturas directas (con valor 1) e indirectas (con valor 0.5) dando un peso de 3 a las lecturas de RfID y de 1 a las de CBR.

5. Resultados

Los resultados obtenidos se desglosarán en función de las diferentes pruebas siendo los datos de mayor relevancia los correspondientes a *Identificación* por su definición.

5.1. Lecturas de los Ciclos Frío-Calor

Los prototipos desarrollados presentan un alto grado de lecturas directas en los Ciclos Frío-Calor tanto para RfID como para CBR. Tal y como se muestra en las tablas 1 y 2.

RfID	MF	MC
Lecturas Directas	94,20%	96,60%
Lecturas Indirectas	4,20%	2,80%
No Lectura	1,60%	0,60%

Tabla 1. Lecturas directas Ciclos Frío-Calor para RfID

CBR	MF	MC
Lecturas Directas	89,00%	98,00%
Lecturas Indirectas	4,20%	0,80%
No Lectura	6,80%	1,20%

Tabla 2. Lecturas indirectas Ciclos Frío-Calor para CBR

Los fallos en las lecturas de CBR se deben a la formación de escarcha o hielo en la superficie del CBR debido al fuerte contraste térmico.

Al poner en común los datos de RfID y de CBR, se obtiene para MF un mayor número de lecturas directas de RfID que de CBR con la excepción del prototipo 1, así mismo el número de no lecturas en CBR es mucho mayor que RfID (Figura 2).

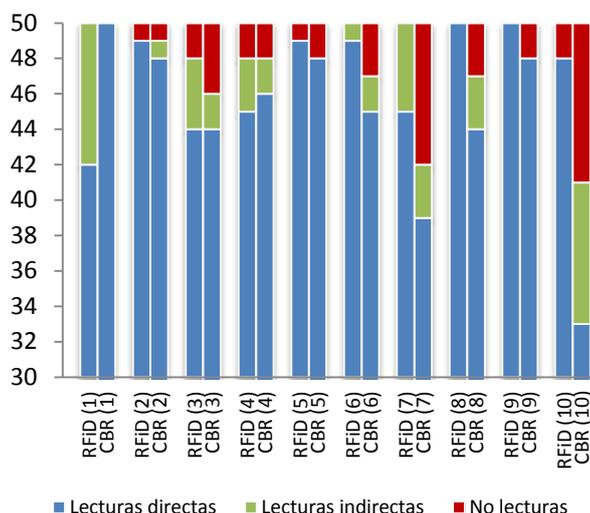


Figura 2. Comparación de lecturas RfID-CBR para las mediciones en frío (MF)

Al analizar los datos para MC se obtienen resultados opuestos, el mayor número de lecturas directas se realizan con el CBR salvo en el prototipo 10, en el CBR de ese mismo prototipo se acumulan las no lecturas (Figura 3).

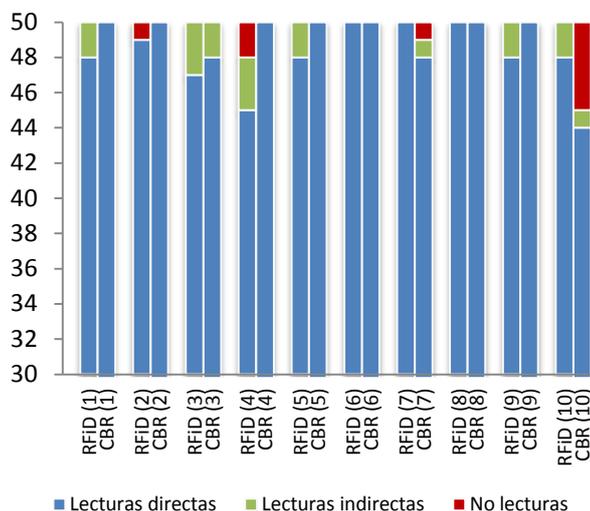


Figura 3. Comparación de lecturas RfID-CBR para las mediciones en caliente (MC)

Al aplicar los pesos utilizados en el cálculo de la *Identificación*, obtenemos que el sistema lee de forma directa en el 94,93% de los casos.

5.2. Lecturas de las pruebas de durabilidad

Los resultados de las pruebas de durabilidad arrojan un porcentaje de lectura directa del 100% en todas las medidas realizadas tanto en RfID como en CBR.

5.3. Identificación

Una vez realizados los cálculos correspondientes, los valores en porcentajes de la *Identificación* para los Ciclos Frío-Calor y las Pruebas de Durabilidad son 99,60% y 100% respectivamente.

5.4. Otros resultados

Al analizar detalladamente los datos obtenidos de *Identificación* en los Ciclos Frío-Calor se obtiene otro resultado relevante, la identificación en los 3 primeros ciclos es del 100%, hecho importante ya que cada pajueta será sometida sólo a un ciclo completo en su vida útil. Del mismo modo, se extrae que hay ciertos momentos en los que ha sido difícil o imposible identificar un determinado prototipo, siendo los siguientes:

- Prototipo 4-ciclo 25, RfID (LI), CBR (LI).
- Prototipo 5-ciclo 45, RfID (NL), CBR (NL).
- Prototipo 7-ciclo 29, RfID (LI), CBR (LI).
- Prototipo 7-ciclo 39, RfID (LI), CBR (NL).
- Prototipo 7-ciclo 43, RfID (LI), CBR (NL).
- Prototipo 10-ciclo 42, RfID (NL), CBR (NL).
- Prototipo 10-ciclo 44, RfID (NL), CBR (LI).

Todas estas excepciones de lectura se han producido a la hora de la lectura en frío.

6. Conclusiones

La posibilidad de identificar el material biológico en un laboratorio de reproducción asistida de una forma más automatizada, mediante el uso de sistemas de trazabilidad basados en RfID y CBR, abre un mundo totalmente nuevo a la gestión de las clínicas.

Durante el transcurso de las pruebas se dieron lugar ciertos sucesos que explican de forma detallada los distintos fallos de lecturas; los fallos correspondientes al RfID se deben en su mayoría por un deterioro de la antena debido al contraste térmico al que se le ha sometido o por una mala orientación de la antena receptora con respecto a la emisora. Los fallos del CBR se deben a un desgaste de la tinta (contrastes térmicos) o a la acumulación de escarcha o hielo sobre el código dificultando su lectura.

Los resultados de las pruebas preliminares realizadas en este estudio muestran un valor de *Identificación* del material biológico del 99,60% con un ratio de lectura directa del 94,93% cuando el sistema es sometido a pruebas de desgaste. Sin embargo, analizando detalladamente los resultados tenemos que los fallos más relevantes de identificación se producen a partir del ciclo 25, así como que la primera vez que se registró una lectura indirecta fue en la medición del RfID en frío del ciclo 4 en los prototipos 1 y 7. Teniendo en cuenta que una pajueta sólo se utiliza una vez y que el sistema prototipado ha leído de forma directa e identificado en el 100% de los casos hasta la medición del 4 ciclo podemos decir que el sistema tiene un

ratio de *Identificación* del 100% para el uso normal en una clínica

Así mismo, que la identificación se realice de forma directa sólo en el 94,93% de las ocasiones es un dato lo suficientemente esperanzador respecto a la supervivencia y funcionamiento, bajo esas condiciones, conocido hasta la fecha, aunque no lo suficientemente bueno para su uso clínico, la manipulación de nitrógeno líquido con los riesgos que conlleva hace necesario que el sistema sea preciso, fiable y simple, lo que nos indica que aún queda trabajo por realizar para conseguir el sistema de trazabilidad óptimo para una clínica de reproducción asistida.

Referencias

- [1] Norma UNE-EN ISO 9000:2005, Apartado 3.5.4
- [2] Bettendorf E, Malenfant C, Chabannon C, RFID Technology and Electronic Tags to Identify Cryopreserved Materials, *Cell Preservation Technology*, vol: 3 Sup 2: 2005, 3(2): 112-115. doi:10.1089/cpt.2005.3.112.
- [3] Shapiro A, Turdryn C, Schatzel D, Tseng S, Electronic packaging materials for extreme, low temperature, fatigue environments, *Advanced Packaging, IEEE Transactions*, vol: 33, Issue: 2, 2010, doi: 10.1109/TADVP.2010.2044504.
- [4] Cauchois R, Su Yin M, Gouantes A, Boddaert X. RFID tags for cryogenic applications: Experimental and numerical analysis of thermo-mechanical behaviour. *Microelectronics Reliability* 2013. DOI: 10.1016/j.microrel.2013.02.009.
- [5] Novo S, Nogués C, Penon O, Barrios L, Santaló J, Gómez-Martínez R, Esteve J, Errachid A, Plaza JA, Pérez-García L, Ibáñez E, Barcode tagging of human oocytes and embryos to prevent mix-ups in assisted reproduction technologies. *Human reproduction*, 2014. doi: 10.1093/humrep/det409.
- [6] Novo S, Mora-Espí I, Gómez-Martínez R, Barrios L, Ibáñez E, Such X, Duch M, Mora X, Plaza JA, Nogués C, Traceability of human sperm samples by direct tagging with polysilicon microbarcodes. *Reproductive biomedicine online*, 2015. doi: 10.1016/j.rbmo.2015.04.012.
- [7] Bender L. "To Err is Human". ART Mix-ups: A Labor-Based, Relational Proposal *Journal of Gender, Race and Justice* 2006 Spring; 9(3): 443-508.
- [8] Leung AA, Lou JJ, Mareninov S, Silver SS, Routbort MJ, Riben M, Andrechak G, Yong WH. Tolerance testing of passive radio frequency identification tags for solvent, temperature, and pressure conditions encountered in an anatomic pathology or biorepository setting. *J Pathol Inform.* 2010. doi: 10.4103/2153-3539.70710.

Validación de un dispositivo móvil para el control de recursos y evaluación de la calidad asistencial a personas dependientes

JF. Ortega Morán¹, JB. Pagador¹, JC. Gómez Blanco¹, JM Repilado Regodón¹, M. Guerrero Pérez², JN. Montero Jaramillo³, FM. Sánchez Margallo¹

¹ Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España,
{jfortega,jbpagador,jcgozmez,jmrepilado,msanchez}@ccmijesususon.com

² Servicios Auxiliares del Fresno, S.L.U., Ribera del Fresno, España, manuguerrero79@gmail.com

³ Cluster Sociosanitario de Extremadura, Cáceres, España, gerente@clustersalud.com

Resumen

La atención de personas dependientes supone un gran coste, tanto de recursos humanos como económico, para la administración y las empresas que emplean servicios para cumplir la Ley de Dependencia. Sin embargo, el control de esos recursos empleados, así como la valoración de la calidad de la asistencia prestada, no se lleva a cabo de manera íntegra. El uso de las TICs mediante tecnologías móviles y web abre un amplio abanico de posibilidades para tal fin. Sin embargo, a pesar de que en la actualidad existen proyectos y software dedicados a ello, no hay en el mercado ningún dispositivo que cubra ambas pretensiones. Como paso inicial, en el proyecto atenTIC se implementó un prototipo electrónico sobre el que se identificaron posibles mejoras en cuanto a funcionalidad y aspecto. Para subsanarlos, en este trabajo se ha desarrollado un sistema basado en tecnología móvil Smartphone con aplicación Android que realiza el fichaje e identificación de recursos, su localización, así como la evaluación de la calidad asistencial prestada. Se ha realizado la validación del sistema en condiciones reales con 100 usuarios dependientes, dando como resultados que el sistema realiza correctamente el 98% de los fichajes, el 85% de los geoposicionamientos y el 99% de las encuestas. El sistema funciona correctamente, mejorando la tecnología existente en cuanto a una mayor robustez en las técnicas de identificación y localización, así como un progreso en la estética, aprovechando las ventajas que ofrecen las nuevas tecnologías de teléfonos móviles y sus aplicaciones en la actualidad.

1. Introducción

La dependencia surge cuando, tras una enfermedad o accidente, el funcionamiento corporal comienza a ser deficitario, limitando con ello la actividad. Adaptando el entorno, esta limitación puede compensarse. Sin embargo, cuando esto no es posible, es necesaria la ayuda de personal para realizar las actividades de la vida cotidiana [1]. Surgen necesidades en las que se involucran las familias y los servicios sociales, lo que se traduce en costes de personal y económicos considerables que no se han cubierto suficientemente [2]. Para ello se promulgó la Ley 39/2006, de 14 de diciembre, de Promoción de la Autonomía Personal y Atención a las personas en situación de dependencia que publicó el BOE del 5 de diciembre de 2006 [3]. Existe una gran cantidad de servicios o recursos empleados por la administración y las empresas para cumplir con la Ley de Dependencia, como pueden ser la ayuda a domicilio, centros residenciales, centros de día y de noche, cuidadores y asistentes personales, etc. Sin embargo, no existe un control exhaustivo y transparente de la

prestación de estos servicios [4]. En este sentido, las Tecnologías de la Información y la Comunicación (TIC) pueden contribuir de manera satisfactoria para diseñar y crear sistemas de gestión y seguimiento de la calidad y prestación de los servicios y recursos de atención a las personas dependientes. Las TICs, mediante el uso de dispositivos móviles o tecnologías web de última generación, posibilitan la optimización de recursos y la transparencia necesaria en la presentación de la información de control del personal asistente en el cumplimiento de la Ley de Dependencia. En la actualidad existen proyectos y sistemas software dedicados a tal fin, como pueden ser PIACONTROL [5], SaaS2B [6] o GESAD PLUS [7].

Analizando el estado del arte del hardware y software aplicado actualmente en los Servicios de Atención Domiciliaria (SAD), no existe ningún dispositivo que permita realizar simultáneamente la trazabilidad de los recursos humanos empleados en realizar la asistencia a las personas dependientes y la evaluación de la calidad asistencial prestada. Por lo tanto, existe una oportunidad única de implementar un dispositivo que realice ambas tareas a la vez.

En el proyecto atenTIC (AE-11-0215-4) se diseñó y construyó un prototipo de un sistema cliente-servidor con comunicación bidireccional que cuenta con un dispositivo portátil (cliente) y un dispositivo central de control (servidor) que permite la evaluación de la calidad asistencial prestada, la medida de la hora de entrada y salida del trabajador, la presencia o localización del trabajador y la identificación de la persona (Figura 1).



Figura 1. Prototipo desarrollado en el proyecto atenTIC.

Todo ello se realiza de manera automática y asegurando que el dispositivo manda la información. El dispositivo cuenta con un lector de tarjetas RFID, una memoria SD o sistema de almacenamiento de datos, un microcontrolador o procesador, un módulo GSM/GPRS para el envío de datos, un módulo GPS, una fuente de alimentación, un display y botones.

A pesar del correcto funcionamiento del dispositivo, se han identificado posibles mejoras del mismo, como incorporar alguna tecnología alternativa de identificación para aumentar la fiabilidad de los fichajes, un sistema de posicionamiento más robusto, o una mayor capacidad de almacenamiento de datos del dispositivo. Por otro lado, se puede mejorar el tamaño y el peso, a pesar de que es un dispositivo portátil, así como la estética y la tecnología electrónica utilizada.

2. Metodología

Como alternativa al sistema existente, se ha optado por rediseñarlo e implementarlo utilizando la tecnología de teléfono móvil Smartphone con aplicación Android, ya que ofrece a disposición las características de mejora que se buscaban.

Se ha realizado una búsqueda de los dispositivos móviles que satisfacen las necesidades deseadas. De entre todos los encontrados, el dispositivo móvil seleccionado para hacer las pruebas de desarrollo es el Samsung Galaxy Core 2 G355HN (Figura 2).



Figura 2. Samsung Galaxy Core 2 G355HN.

Las funcionalidades más importantes que satisface el sistema desarrollado son el “timestamp” (marca temporal o registro horario de la entrada y salida de los recursos), la identificación de los recursos y su localización, así como el envío y recepción de los datos con un servidor. El dispositivo seleccionado es capaz de realizar todas estas funcionalidades y permitirá el correcto funcionamiento de la aplicación a realizar pudiendo obtener datos de GPS para el geoposicionamiento o localización, permitiendo el fichaje e identificación de recursos mediante las tecnologías NFC y QR (para ello utiliza la cámara y es necesario descargarse en el móvil la aplicación gratuita “Barcode Scanner” [8]). El “timestamp” se puede realizar mediante el reloj del dispositivo móvil y el envío de datos es posible por medio de las tecnologías GPRS, GSM o Wi-Fi. A todo ello hay que añadirle la característica de bajo coste, ya que es un dispositivo móvil barato en comparación con los de su gama que cumplen con las citadas funcionalidades.

2.1. Funcionamiento teórico del sistema

El funcionamiento del sistema se describe en la figura 3, donde el usuario es el trabajador que realiza la prestación de asistencia y cliente es la persona dependiente que recibe el servicio de atención domiciliaria.

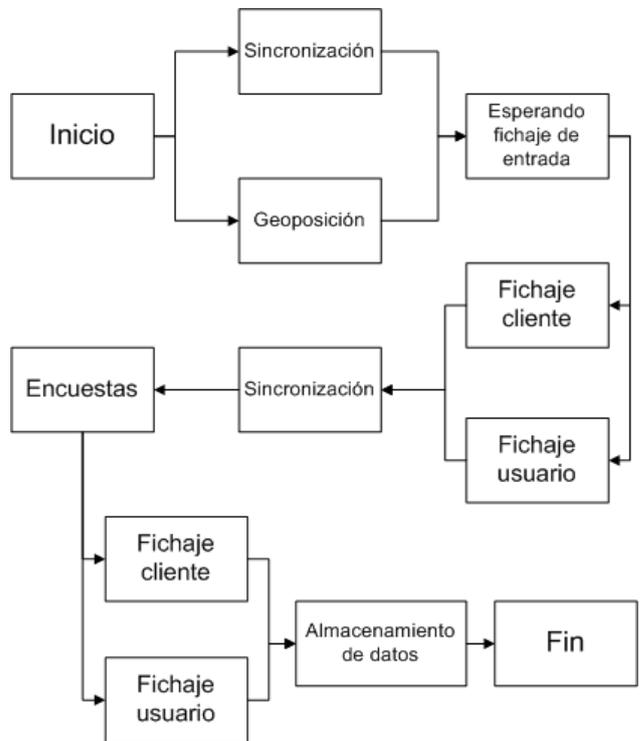


Figura 3. Funcionamiento teórico del sistema.

1. El usuario enciende el dispositivo e inicia la aplicación.
2. Se produce la sincronización de datos/configuración entre el dispositivo y el servidor, así como el proceso de geoposicionamiento de forma paralela.
3. Ficha el usuario (o el cliente) a la entrada.
4. Ficha el cliente (o el usuario) a la entrada.
5. Se produce la sincronización de datos entre el dispositivo y el servidor.
6. El dispositivo ofrece al cliente las encuestas de calidad asistencial.
7. Ficha el usuario (o el cliente) a la salida.
8. Ficha el cliente (o el usuario) a la salida.
9. Se almacenan los datos en memoria interna y se cierra la aplicación.
10. El usuario apaga el dispositivo.

2.2. Validación del sistema

Se realizó una serie de pruebas de campo en condiciones reales entre la población dependiente en Extremadura para verificar el correcto funcionamiento del sistema.

Según los datos del Sistema de Información del Sistema para la Autonomía y Atención a la Dependencia (SISAAD) [9], las personas vinculadas a la ayuda a domicilio en Extremadura a fecha de Enero de 2015 son 7.985. En base a este dato, y para un error del 10% y un nivel de significación del 95,45%, se obtiene una muestra de usuarios con los que hacer el estudio de aproximadamente 100 personas.

Por lo tanto, para realizar las pruebas se configuraron 100 clientes y 1 usuario, cada uno con su código QR y su etiqueta NFC de identificación. De los 100 clientes, 33 eran de tipo 1, 34 de tipo 2 y 33 de tipo 3, correspondientes con los tres grados de dependencia existentes [3].

Se confeccionaron 4 encuestas, donde la encuesta 1 está relacionada con la recomendación del servicio a otros clientes, la encuesta 2 valora el servicio prestado por la empresa, la encuesta 3 evalúa la atención prestada por el usuario, y la encuesta 4 valora atributos de la empresa. Dichas encuestas se asignaron a los clientes según el tipo de cliente. Al cliente de tipo 1 se le asignó las encuestas 1 y 4. Al cliente de tipo 2 se le asignó las encuestas 1 y 2. A los clientes de tipo 3 se les asignó las encuestas 1 y 3.

3. Resultados

Tras la realización de las pruebas y posterior revisión de los datos registrados en la base de datos, los resultados se muestran en las figuras 4-7.

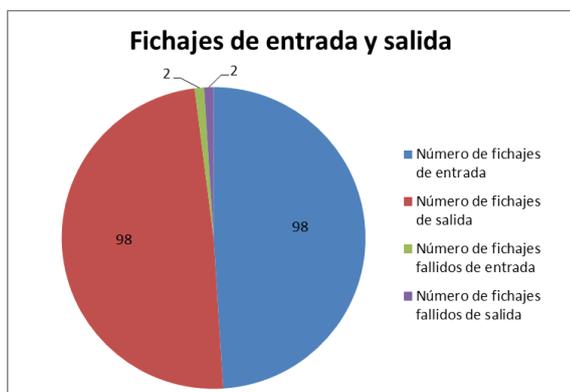


Figura 4. Fichajes de entrada y salida

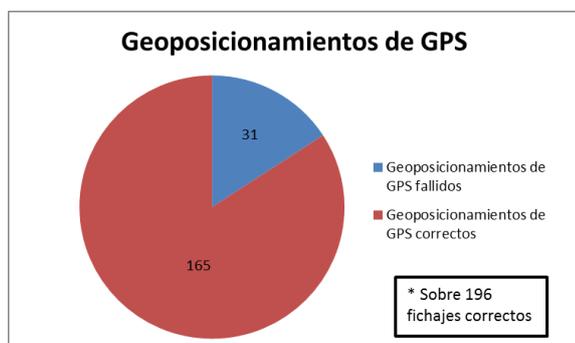


Figura 5. Geoposicionamiento de GPS



Figura 6. Geoposicionamientos fallidos a la entrada y a la salida

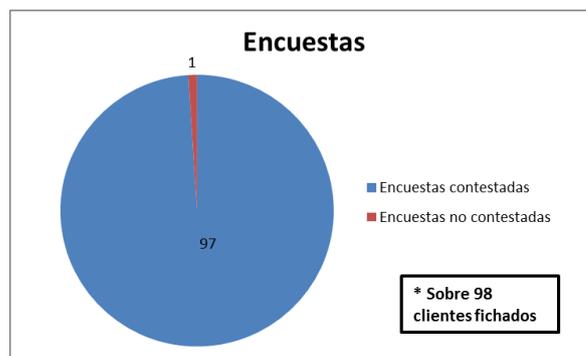


Figura 7. Encuestas

Según estos resultados, el sistema realiza correctamente el fichaje del 98% de los clientes, registrando en todos los casos la hora y fecha del fichaje. Respecto al geoposicionamiento de GPS, es correcto el 84,2% de los fichajes realizados. Dentro de los geoposicionamientos fallidos, lo hacen prácticamente en la misma proporción tanto los de entrada como los de salida, comprobándose que los que han fallado de salida se corresponden en la mayoría de los casos con los que han fallado a la entrada. En cuanto a las encuestas, se han realizado correctamente el 99%.

El resultado y la experiencia muestran que el sistema funciona correctamente, permitiendo el registro e identificación de clientes y usuarios tanto a la entrada como a la salida prácticamente en su totalidad, su geoposicionamiento en un alto porcentaje, así como ofrecerles la posibilidad de realizar encuestas de satisfacción para valorar la calidad asistencial prestada, cuyo funcionamiento al contestarlas ha sido adecuado en prácticamente todos los casos.

Además, se comprobó en el servidor MySQL que los datos de las pruebas fueron correctamente introducidos en la base de datos y se corresponden con las pruebas realizadas.

4. Conclusiones y trabajos futuros

Se ha logrado establecer un sistema para la trazabilidad de recursos y el control de la calidad del servicio de prestación SAD, que es capaz de realizar una evaluación basada en dos pilares fundamentales:

1. Una componente objetiva, materializada en un control de la puntualidad, del tiempo empleado y de seguimiento geográfico de la prestación, para garantizar una correcta atención domiciliaria.
2. Una componente subjetiva, materializada en una evaluación de la calidad del servicio, realizada por el receptor del mismo, a través de encuestas de satisfacción realizadas con el dispositivo.

Tras las pruebas de campo realizadas se concluye que el funcionamiento de la aplicación y el dispositivo es correcto, pero es necesario mejorar el sistema de geoposicionamiento para elevar el porcentaje de casos correctos a niveles cercanos a la totalidad de los mismos, así como conseguir la geoposición a la salida cuando no se ha conseguido tras el fichaje a la entrada.

Las mejoras detectadas que aporta el nuevo sistema implementado respecto al sistema existente en cuanto al hardware y al software son las siguientes:

- **Tamaño y peso:** Respecto al tamaño, es una ventaja considerable la reducción del mismo, ya que se ha pasado de un dispositivo con medidas 160x80x55mm a uno con medidas 130,3x68x9,8mm, mucho más capacitado para ser transportado a cualquier sitio, incluso en el bolsillo del pantalón. Además, su reducción de tamaño implica una mejor manejabilidad del dispositivo. Aparte del tamaño, también se ha visto reducido el peso del dispositivo.
- **Estética:** La estética del dispositivo lo hace más atractivo. La pantalla del móvil es mucho mayor que la utilizada con el sistema existente, que solo podía mostrar un número limitado de caracteres.
- **Tecnología de vanguardia:** El hecho de que se haya utilizado la tecnología de teléfono móvil Smartphone con aplicación Android lo hace estar a la vanguardia en cuanto a tecnología utilizada mayoritariamente por la sociedad, lo que facilita su uso y los usuarios lo encuentran más familiar e intuitivo. Se ha pasado de un sistema de componentes electrónicos a un sistema táctil más fiable y actual.

En cuanto a funcionalidad, las mejoras se exponen a continuación:

- **Identificación:** Aunque ambos sistemas incorporan tecnologías de identificación similares (RFID en la técnica anterior y NFC en el dispositivo actual), es más fácil incorporar nuevas técnicas de identificación en este nuevo sistema, siempre y cuando el móvil lo permita. De hecho, se ha añadido la tecnología de identificación mediante códigos QR solamente con la ayuda de una aplicación dedicada a ello y la cámara del móvil, algo que en el dispositivo anterior sería más difícil de implementar.
- **Geoposicionamiento:** El nuevo sistema incluye hasta 3 tecnologías para realizar el geoposicionamiento. Una es mediante la señal GPS, otra mediante la señal Wi-Fi y otra mediante la señal de datos móviles 3G/GPRS. Esto permite obtener de una manera más fiable los datos de geoposicionamiento, ya que dispone de tres tecnologías para conseguirlo.
- **Almacenamiento de datos en el dispositivo:** El dispositivo móvil tiene una mayor capacidad de almacenamiento interno que el implementado en el sistema existente, por lo tanto encuentra menos limitaciones a la hora de realizar muchas pruebas y almacenar los datos sin tener disponibles los medios de transmisión de los datos para la sincronización con el servidor.

A pesar de las mejoras que se han detallado y el correcto funcionamiento el sistema, existe una serie de posibles mejoras que se pueden efectuar al dispositivo y la aplicación software:

- Incluir otras tecnologías de identificación, como por ejemplo mediante tecnologías biométricas, que permiten una identificación más fiable y única.
- Añadir alguna aplicación o tecnología de geoposicionamiento al dispositivo que permita obtener datos de la posición en un porcentaje más elevado del conseguido con el dispositivo actual. A pesar de todo, es necesario aclarar que entra dentro de la normalidad

los fallos en el geoposicionamiento, ya que las tres tecnologías utilizadas tienen puntos débiles. El GPS puede fallar si se utiliza dentro de una vivienda o lugar interior, como ha sucedido en este caso. Además, la señal Wi-Fi no funciona si no existe tal red donde se estén realizando las pruebas, y la señal de datos móviles 3G/GPRS no se puede utilizar si no existe cobertura. Por lo tanto, son situaciones que, aunque suceda en los menores casos, son susceptibles de que ocurran, como se ha podido comprobar.

- Mejorar el sistema de geoposicionamiento a la salida, de manera que lo consiga si falla a la entrada.
- Incluir una sección exclusiva para el trabajador, de manera que cuando entre en ella pueda realizar acciones relacionadas con su trabajo, como incidencias, conocer las tareas pendientes, acceder a información personal, un histórico de los últimos usuarios atendidos, etc.
- Este dispositivo se podrá utilizar en el futuro para realizar estudios de la prestación SAD en Extremadura.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el Ministerio de Industria, Energía y Turismo (MINETUR), a través del Programa de ayudas para el apoyo a agrupaciones empresariales innovadoras (AEI-010500-2014-216).

Referencias

- [1] Andreu Periz L, Moreno Arroyo C, Julve Ibañez M. Valoración de pacientes tratados con hemodiálisis según la Ley de Promoción de la Autonomía Personal y Atención a las personas en situación de dependencia. *Revista de la Sociedad Española de Enfermería Nefrológica*, vol 13, sup 4, 2010, pp 252-257.
- [2] Rubio Herrera R. ¿Cuándo comienza la dependencia en el mayor?. *Geriatría: Revista Iberoamericana de Geriatría y Gerontología*, (monográfico: Dependencia en el anciano), 2003, pp 11-18.
- [3] Página web de la Ley de Dependencia del BOE. <https://www.boe.es/boe/dias/2006/12/15/pdfs/A44142-44156.pdf> (Consultada: Agosto 2015).
- [4] Casanovas GL. La Ley de autonomía y dependencia. Reflexiones y recomendaciones para su mejor desarrollo. *Gaceta sanitaria*, vol 25, 2011, pp 125-130.
- [5] Página web de PIACONTROL. <http://www.piacontrol.com/>. (Consultada: Agosto 2015).
- [6] Página web de Saas2B. <https://www.saas2b.eu/public/fr/accueil.html>. (Consultada: Agosto 2015).
- [7] Página web de GESAD PLUS. <http://gesad.trevenque.es/>. (Consultada: Agosto 2015).
- [8] Página web de descarga de la aplicación Barcode Scanner. <https://play.google.com/store/apps/details?id=com.google.zxing.client.android&hl=es>. (Consultada: Agosto 2015).
- [9] Página web del Sistema de Información del Sistema para la Autonomía y Atención a la Dependencia (SISAAD). <http://www.dependencia.imsero.es/InterPresent1/groups/imsero/documents/binario/estsisaad20150131.pdf>. (Consultada: Febrero 2015).

Utilización de XML Schemas para el diseño de medicamentos individualizados en dermatología

A. Alesanco¹, Y. Gilaberte², E. Abarca³, V. Mingote¹, S. Frago¹, J. García¹

¹ Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón, I3A. Universidad de Zaragoza, {alesanco,jogarmo}@unizar.es

² Servicio de Dermatología, Hospital San Jorge, Huesca, ygilaberte@salud.aragon.es

³ Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad San Jorge, Zaragoza, eabarca@usj.es

Resumen

Para que las aplicaciones de apoyo a la formulación (diseño) de medicamentos individualizados (FMI) sean realmente útiles a la comunidad de dermatólogos formuladores han de estar fundamentadas en un buen modelado de datos. El presente trabajo presenta una propuesta de modelado del proceso y los datos necesarios en el diseño de medicamentos individualizados para patologías dermatológicas. Se basa en XML Schema, para modelar los tipos de datos y el proceso de la formulación, Schematron para el modelado de las restricciones entre los datos de la fórmula y XSLT para obtener una visualización adecuada del resultado final. Se muestra, además, como el resultado de la propuesta es sencillo y puede servir como base a cualquier aplicación software destinada a la ayuda en la FMI, ofreciéndole un soporte de datos robusto y modular.

1. Introducción

Los medicamentos individualizados, también conocidos como fórmulas magistrales, son medicamentos destinados a pacientes concretos, preparadas por el farmacéutico para cumplir una prescripción facultativa elaborada por un médico de manera personalizada para las necesidades de dichos pacientes. Dentro de todas las especialidades médicas, es sin duda alguna la dermatología en la que más frecuentemente se recurre a la formulación, sobre todo cuando se pretende tratar ciertas patologías con medicamentos de uso tópico, es decir, aplicados directamente sobre nuestra piel. Es el dermatólogo formado en esta materia el que seleccionará y combinará, no solamente los principios activos (teniendo en cuenta las incompatibilidades que puedan presentar entre ellos), sino también los vehículos más adecuados para cada tratamiento.

A pesar de la flexibilidad que aportan para el tratamiento de determinadas patologías en dermatología, hoy en día la actividad formuladora es una práctica minoritaria. Esto es debido a que una gran parte de los casos clínicos pueden ser tratados con medicamentos desarrollados por la industria farmacéutica. Sin embargo, en aquellos casos en los que los medicamentos comercializados no se adaptan a las peculiaridades del paciente, pueden beneficiarse de un medicamento individualizado. Otro de los hándicaps que se le presenta al dermatólogo a la hora de diseñar una formulación es el proceso de prescripción

en si: mucho más complejo y costoso debido a que se tiene que realizar manualmente y se debe tener mucho cuidado con las combinaciones de principios activos, así como con sus respectivos rangos de dosis. Por lo que una automatización del proceso a través de una aplicación software ayudaría a los dermatólogos en la realización de las fórmulas y expandiría su uso. La principal dificultad que puede encontrar el desarrollo de estas aplicaciones es la facilidad de inclusión de nuevas patologías, producida en gran medida por un deficiente modelado de la información presente en la formulación. Por ello, un paso previo y fundamental al desarrollo de las aplicaciones es el correcto modelado de los datos (incluido el proceso de formulación) que intervienen en la FMI.

En este trabajo se presenta un soporte formal para el diseño de medicamentos individualizados en dermatología. Para ello, se propone el uso de tres tipos de modelos diferentes desarrollados con los siguientes lenguajes de modelado de datos: XML Schema [1], lenguaje con el que se modelarán el proceso de formulación y los datos referentes al paciente, médico prescriptor y contenido de la fórmula, Schematron [2] lenguaje utilizado para modelar las restricciones e incompatibilidades entre los distintos componentes de la fórmula así como las incompatibilidades con el paciente y XSLT (Extensible Stylesheet Language Transformations) [3] para modelar una transformación que permita pasar de una fórmula final en lenguaje XML a una representación más intuitiva en HTML. De esta forma, una formulación individualizada para un paciente queda representada por un fichero XML que contiene todo lo necesario para la elaboración de la misma. Una de las ventajas fundamentales de utilizar lenguajes de modelado de datos basados en XML es la facilidad de interpretación (parseado) por aplicaciones informáticas para su posterior uso en el desarrollo de software de ayuda a la formulación.

2. Medicamentos individualizados: proceso, datos, restricciones y visualización

Para la prescripción (o diseño) de un medicamento individualizado en dermatología se han organizado los datos que debe contener el medicamento en 5 secciones.

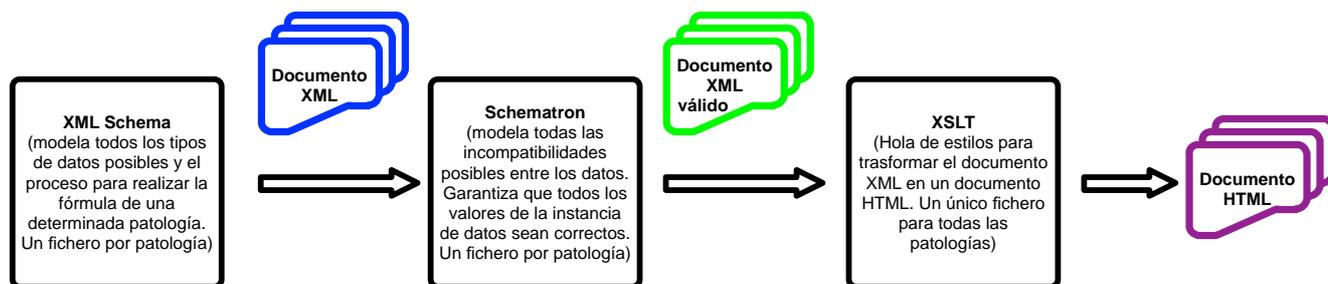


Figura 1. Flujo de trabajo en el modelado de datos.

- Datos del paciente/dermatólogo prescriptor.** Modelado de los datos más relevantes de los dos actores en el proceso de prescripción, paciente y dermatólogo.
- Localización de la lesión.** Modelado de los datos referentes a la localización de la lesión a tratar. Las posibles opciones dependerán de la patología modelada. Posibles opciones son: facial, tronco/extremidades, etc.
- Estadio de la lesión.** Modelado de los datos referentes al estado de la lesión, que dependen de la patología modelada. Posibles opciones son: seca, exudativa, etc.
- Vehículo idóneo.** Modelado de los posibles vehículos adecuados. En muchos casos los datos a modelar incluirán restricciones dependiendo de los datos seleccionados en los pasos 2 y 3. Posibles vehículos son: emulsión, gel, etc.
- Principios activos o Grupos.** Modelado de los datos referentes a los principios activos que componen la formulación. Pueden presentar incompatibilidades entre ellos, y en función de los datos seleccionados en los puntos 2, 3 y 4 (hecho que también se ha de modelar). Posibles principios activos son: aceite de borrajas, urea, etc.

En la Figura 1 se puede apreciar el proceso de trabajo para el modelado. Para cada una de las patologías que se desee modelar, habrá que definir los tipos de datos y las restricciones que pueden contener cada una de las últimas 4 secciones (la sección 1 es común para todas) y modelarlos mediante el uso de XML Schema (tipos de datos) y Schematron (restricciones). Una vez modelados, se utilizarán los esquemas correspondientes a una determinada patología para obtener el medicamento individualizado, que no es otra cosa que un documento XML. Es interesante notar cómo el proceso de modelado consiste en la definición de modelos de datos (esquemas) cuya instanciación (instancia del modelo de datos) produce el fichero XML con el medicamento individualizado para un determinado paciente. De esta manera, el medicamento cumple todas las características y restricciones de los modelos de datos definidos para cada patología dermatológica. El último paso de este proceso es la transformación del fichero XML que contiene la fórmula en un documento HTML más adecuado visualmente para ser interpretado por el farmacéutico que va a preparar la fórmula.

3. Modelado de datos con XML Schema

XML Schema es probablemente el lenguaje de validación XML más ampliamente utilizado, ya que permite especificar de manera sencilla pero muy precisa la estructura de los documentos XML, así como restringir su contenido. XML Schema define qué elementos pueden aparecer en un documento XML, en qué orden, cuántas veces, qué tipo de datos y restricciones debe cumplir el valor de cada elemento a nivel individual, etc.

Para facilitar la integración con las aplicaciones software que tomen como partida estos modelos de datos se decidió modelar los mismos utilizando XML Schema, de forma que la instancia de un medicamento individualizado quede representada por un documento XML. De esta forma, en esta primera fase se modela cada patología mediante un documento XSD (XML Schema Definition) que contiene las reglas sintácticas que ha de cumplir el documento XML (tags permitidos, multiplicidades, opciones, etc.) Todos los ficheros XSD, independientemente de la patología modelada, comparten una estructura común, dado que modelan los datos de cada patología de acuerdo a la estructura de secciones presentado en el apartado 2. En la Figura 2 se puede ver la estructura simplificada de un XSD desarrollado para la patología de psoriasis. Se puede apreciar cómo el documento sigue fielmente la estructura de 5 puntos, común a todas las fórmulas (recuadrado en la figura).

4. Modelado de restricciones con Schematron

Para modelar de manera sencilla las restricciones entre valores tomados por los datos en el documento XML se va a utilizar el lenguaje Schematron. Los documentos Schematron proporcionan validación de documentos XML basada en reglas mediante el uso de XPath. Schematron suele ser usado en conjunción con la tecnología XML Schema, ya que ambas se complementan: XML Schema define la estructura general del documento XML y proporciona validación avanzada para contenido simple, mientras que Schematron permite definir reglas que el documento XML debe satisfacer y, lo que es más importante, relaciones entre los valores de diferentes elementos del documento, es decir validaciones complejas de contenidos cruzados. En la Figura 3 se puede ver la estructura simplificada de Schematron definido para la patología de psoriasis. Dado que Schematron está menos extendido que XML Schema, se ofrece un par de apuntes para entender mejor la Figura 3.

```
<?xml version="1.0" encoding="utf-8" ?>
<!-- PATOLOGIA: PSORIASIS -->
<xs:schema elementFormDefault="qualified"
  xmlns:xs="http://www.w3.org/2001/XMLSchema">
  <xs:include schemaLocation=".\Datos.xsd" />
  <xs:simpleType name="Localizacion">
    <xs:restriction base="xs:string">
      <xs:enumeration value="Facial" />
      [...Más localizaciones ...]
    </xs:restriction>
  </xs:simpleType>
  <xs:simpleType name="EstadioLesion">
    <xs:restriction base="xs:string">
      <xs:enumeration value="HiperqueratosisLeve" />
      [... Más estadios de lesion ...]
    </xs:restriction>
  </xs:simpleType>
  <xs:simpleType name="Vehiculo">
    <xs:restriction base="xs:string">
      <xs:enumeration value="Emulsion W/O ligera(25% MG)" />
      [... Más vehiculos ...]
    </xs:restriction>
  </xs:simpleType>
  <xs:complexType name="Grupos">
    <xs:all>
      <xs:element name="HidratantesEmolientes"
        minOccurs="0"
        maxOccurs="1">
        <xs:complexType>
          <xs:all>
            <xs:element name="AceiteBorrajias"
              minOccurs="0"
              maxOccurs="1">
              <xs:simpleType>
                <xs:restriction base="xs:float">
                  <xs:minInclusive value="4" />
                  <xs:maxInclusive value="6" />
                </xs:restriction>
              </xs:simpleType>
            </xs:element>
            [... Más Hidratantes Emolientes ...]
          </xs:all>
        </xs:complexType>
      </xs:element>
      [... Más grupos ...]
    </xs:all>
  </xs:complexType>
  <xs:complexType name="Formula">
    <xs:sequence>
      <xs:element name="Datos"
        type="Datos" />
      <xs:element name="Localizacion"
        type="Localizacion" />
      <xs:element name="EstadioLesion"
        type="EstadioLesion" />
      <xs:element name="Vehiculo"
        type="Vehiculo" />
      <xs:element name="Grupos"
        type="Grupos" />
    </xs:sequence>
  </xs:complexType>
</xs:schema>
```

Figura 2. Contenido simplificado del fichero psoriasis.xsd.

- Elemento **sch:rule**. Contiene un conjunto de reglas que se evalúan sobre un contexto establecido en el atributo *context*.
- Elemento **sch:report**. Es una regla que contiene una expresión XPath en el atributo *test* y un mensaje. Si la expresión XPath evaluada sobre el contexto se cumple entonces se produce un error y se muestra el mensaje asociado.

5. Visualización con XSLT

XSLT es un lenguaje basado en XPath que permite transformar documentos XML a otros formatos o documentos. El flujo de trabajo desarrollado consiste en crear un documento XSLT para transformar el documento XML que contiene la fórmula en un documento HTML. Sólo se necesita un fichero XSLT para todas las

```
<sch:schema xmlns:sch="http://purl.oclc.org/dsdl/schematron"
  queryBinding="xslt2">
  <sch:pattern name="ReglasEstadioLesion">
    <sch:rule context="Formula">
      <sch:report test="(Localizacion='Facial' or
        Localizacion='TroncoExtremidades' or
        Localizacion='CuelloCabello' or
        Localizacion='PalmoPlantar')
        and (EstadioLesion!='HiperqueratosisLeve' and
        EstadioLesion!='HiperqueratosisIntensa')">
        Localizacion incompatible con EstadioLesion
      </sch:report>
    </sch:rule>
  </sch:pattern>
  <sch:pattern name="ReglasVehiculos">
    <sch:rule context="Formula">
      <sch:report test="Localizacion='Facial' and
        EstadioLesion='HiperqueratosisLeve' and
        Vehiculo!='Emulsion W/O ligera(25% MG)' and
        Vehiculo!='Emulsion O/W(cont.medio MG)' and
        Vehiculo!='Emulsion glucidica'">
        El vehiculo no es el idoneo, debería ser: Emulsion W/O
        ligera(25% MG), Emulsion O/W(cont.medio MG)
      </sch:report>
    </sch:rule>
  </sch:pattern>
</sch:schema>
```

Figura 3. Contenido simplificado del fichero psoriasis.sch.

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<xsl:stylesheet version="1.0"
  xmlns:xsl="http://www.w3.org/1999/XSL/Transform">
<xsl:template match="/">
<html>
<head>
  <meta charset="utf-8" />
  <title>Medicamento Individualizado</title>
  <style type="text/css">
  ...
  </style>
</head>
<body>
  <!-- Zona para los datos de la farmacia -->
  <div id="mainHeader">
    Farmacia: <span id="pharmacy"> datos de la farmacia </span>
  </div>
  MEDICAMENTO INDIVIDUALIZADO
  </div>
  <!-- Zona para los datos del paciente e info geneal de la fórmula-->
  <div class="superHeader bordered">DATOS DEL PACIENTE</div>
  <table>
    <tr class="normalHeader"><th colspan="5">INFO. PERSONAL</th></tr>
    <tr><th style="width:100%">NOMBRE</th>
    <th>EDAD</th><th>EMBARAZO</th>
    <th>ALERGIAS</th><th>INTOLERANCIA_EXCIPIENTES</th>
  </tr>
    <tr>
      <td><xsl:value-of select="/Enfermedad/DatosPaciente/Nombre"/></td>
      <td><xsl:value-of select="/Enfermedad/DatosPaciente/Edad"/></td>
      [...]
    </tr>
    <tr class="normalHeader"><th colspan="5">INFORMACIÓN RELATIVA
      A LA PATOLOGÍA</th></tr>
    <tr><th>LOCALIZACIÓN</th><th colspan="4">ESTADIO DE LA
      LESIÓN</th></tr>
    <tr>
      <td colspan="1"><xsl:value-of select=
        "/Enfermedad/Formula/Localizacion"/></td>
      <td colspan="4"><xsl:value-of select=
        "/Enfermedad/Formula/EstadioLesion"/></td>
    </tr>
  </table>
  [...]
</body>
</html>
</xsl:template>
</xsl:stylesheet>
```

Figura 4. Ejemplo simplificado de transformación XSLT.

patologías, dado que este se encarga de hacer una transformación de estilo, que nada tiene que ver con las patologías, con el fin de obtener un resultado final

visualmente atractivo. Un ejemplo de transformación XSLT utilizado en este trabajo se muestra en la Figura 4

Como se puede apreciar en el código de la Figura 4, mediante expresiones XPath se va seleccionando valores del documento XML al que se le aplica (en este caso el medicamento individualizado ya realizado) y se va formateando en HTML para su mejor visualización.

6. Resultados y Discusión

A lo largo de las secciones 3, 4 y 5 se han mostrado las tecnologías implicadas en la solución con ejemplos ilustrativos del uso de las mismas para desarrollar un modelo de datos para una patología en concreto: psoriasis. Para cada nueva patología modelada se debería generar un nuevo modelo en XSD y Schematron, teniendo en cuenta sus peculiaridades. En la Figura 5 se muestra un fichero XML que representa un ejemplo de medicamento individualizado ya desarrollado. Este documento XML cumple con las especificaciones del XSD y del Schematron desarrollados para la psoriasis. Como resultado final del proceso, la Figura 6 muestra el documento HTML donde se puede ver el resultado de la transformación XSLT aplicada al fichero XML.

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<Enfermedad>
  <DatosPaciente>
    <Nombre>Alvaro Alesanco</Nombre>
    <Edad>
      <Adultos>38</Adultos>
    </Edad>
    <Alergias>No</Alergias>
    <Embarazo>No</Embarazo>
    <IntoleranciaExcipientes>No</IntoleranciaExcipientes>
  </DatosPaciente>
  <Formula>
    <Localizacion>Facial</Localizacion>
    <EstadioLesion>HiperqueratosisIntensa</EstadioLesion>
    <Vehiculo>Emulsion O/W grasa</Vehiculo>
    <Grupos>
      <HidratantesEmolientes>
        <AceiteRosaMosqueta>5.18</AceiteRosaMosqueta>
      </HidratantesEmolientes>
      <Corticoides>
        <Hidrocortisona>1.6</Hidrocortisona>
      </Corticoides>
    </Grupos>
  </Formula>
</Enfermedad>
```

Figura 5. Ejemplo de medicamento individualizado para el tratamiento de psoriasis.

Gracias al modelado formal de los datos de patologías dermatológicas mediante el uso de Schemas, resulta sencillo que aplicaciones destinadas a facilitar el diseño de medicamentos individualizados tomen ventaja de ello. Estas aplicaciones deberían leer e interpretar los Schemas (proceso llamado parseado, sin dificultad en cualquier lenguaje de programación) para mostrar al usuario las opciones disponibles en el desarrollo de la fórmula así como su guiado utilizando formularios hasta la obtención del XML final que contiene los datos del medicamento. Para la obtención de un documento interpretable por el farmacéutico, esta aplicación debe utilizar la transformación XSLT, proceso también sencillo dado que existen módulos de programación que desarrollan dicha tarea de forma automática en la mayoría de los lenguajes de programación actuales. Del mismo modo, para crear nuevas patologías las aplicaciones podrían simplemente

pedir al dermatólogo los datos necesarios sobre ellas (vehículos, principios, incompatibilidades, etc.) pudiendo automatizar también el proceso de creación del XSD y el Schematron a partir de los datos proporcionados.

Farmacia: datos de la farmacia (dirección/teléfono/...) MEDICAMENTO INDIVIDUALIZADO

DATOS DEL PACIENTE			
INFORMACIÓN PERSONAL			
NOMBRE	EDAD	EMBARAZO	ALERGIAS
Alvaro Alesanco	38	No	No
INFORMACIÓN RELATIVA A LA PATOLOGÍA			
LOCALIZACIÓN	ESTADIO DE LA LESIÓN		
Facial	HiperqueratosisIntensa		
DATOS DE LA FÓRMULA			
VEHÍCULO			
Emulsion O/W grasa			
COMPOSICIÓN			
GRUPO - PRINCIPIO ACTIVO		RANGO DOSIFICACIÓN (%)	
HidratantesEmolientes-AceiteRosaMosqueta			5.18
Corticoides-Hidrocortisona			1.6
INFORMACIÓN ADICIONAL			
Facultativo prescriptor:			
Administración:			
Conservación:			
Caducidad:			
Comentarios:			
Firma			FECHA DÍA MES AÑO . . .

Figura 6. Medicamento individualizado en HTML visualizado en un navegador.

7. Conclusiones

La combinación de XML Schema + Schematron se demuestra como una buena opción de modelado capaz de captar todas las necesidades del proceso de diseño de un medicamento individualizado en dermatología. Además, gracias a la transformación XSLT, la visualización del resultado final de la fórmula, un fichero XML, puede ser visto e interpretado en un formato adecuado para el farmacéutico que desarrolla la fórmula. Actualmente se está trabajando en una aplicación móvil orientada a dermatólogos que, a partir de estos Schemas, facilite el proceso de diseño de medicamentos individualizados.

Agradecimientos

Este trabajo de investigación ha sido financiado por la Universidad de Zaragoza a través del proyecto JIUZ-2014-TEC-01 y por el Gobierno de Aragón (grupo T98) y European Social Fund (ESF).

Referencias

- [1] Xml schema part 0: Primer, W3C recommendation, W3C, 2004, <http://www.w3.org/TR/xmlschema-0/>
- [2] Information technology — document schema definition languages (dSDL) — part 3: Rule-based validation — schematron, Tech. report, ISO/IEC, 2006, <http://www.schematron.com/>
- [3] Clark, Xsl transformations (xslt), W3C recommendation, W3C, 1999, <http://www.w3.org/TR/xslt>

Competición alumnos GIB

Jueves 5 de Noviembre

Robotic development for blind people

M. Ruiz Maymó¹, M. Puig-Vidal¹

¹ Department of Electronics, Faculty of Physics, University of Barcelona, Barcelona, Spain, mruizmay7@alumnes.ub.edu, manel.puig@ub.edu

Abstract

Blind people have to face many problems during daily activities that could be solved or at least improved by the use of robotic technology. However, the vast majority of products do not have a successful future in the market. The contact with organizations for the blind has enabled the development of a prototype that integrates three important action modes: colour detection, price recognition and distance measurement. To make it easier to use, the communication between the program and the user is done by voice. A camera and an ultrasounds sensor are integrated in a handle that is placed, in addition to an electronic control board device and a tablet-PC, in a belt to make the device more portable. Although price detection has not been possible with the chosen camera due to its low resolution, the results for colour recognition and range finder have been very promising, as well as the integration of the application into the tablet-PC.

1. Motivation

Nowadays, blind people have to face many obstacles to perform some routinary activities. Although there are some commercialized products that try to solve these limitations, not all of them have successfully adapted to the needs of the market for a reason of price or product's drawbacks.

In a study of the field it has been possible to discover that each one of these commercial devices includes only one functionality and usually do not enter the target market or are rapidly taken away from it because of their limitations and their difficulty in use. Consequently, the motivation of this project has been the overcome of these disadvantages with the development of a device that integrates more than one functionality and that is user friendly to facilitate its use.

2. Introduction

2.1. State of the art

There are different types of products trying to gain a foothold within the blind community. The first ones are intelligent canes. Many companies have tried to add ultrasounds sensors to the common blind cane in order to warn the user in advance of the presence of some obstacles in the path. Some of these products are nowadays commercialized, although they are not extensively used [1,2].

Furthermore, there are simpler products such as colour detectors or applications for the mobile phone that enable the recognition of some colours or distances. Colorino [3]

and SwatchMatic [4] are examples of useful products. However, they only offer one functionality to the user.

Researcher community tries to overcome some of the blind's limitations with the creation of portable and integrated prototypes. Some examples are the Oxford University with the Smart Glasses [5] or the Massachusetts Institute of Technology (MIT) with the creation of EyeRing or FingerReader [6]. These prototypes can perform more than one action mode but are still not commercialized.

2.2. Objectives

The main aim of this project has been the development of an assistive device mainly thought for totally blind people. The prototype will enable the detection of different properties from objects such as their colour, the price of a tag and the distance to one specific point. Consequently, the device could also be used by partially and colour blind people that could take advantage of it to detect real colours.

The principal objectives pointed out to clarify the procedure are:

- Establishment of useful functionalities for the device by contacting blind people and organizations.
- Development of the programming for colour detection by understanding the colour spectrum.
- Development of the programming for price recognition by using an optical character recognition (OCR) environment.
- Development of the programming for distance measurement and addition of some proximity warnings.
- Integration of all the functionalities in one portable device with the use of a tablet-PC and a real time application.
- Creation of a voice interaction system with voice synthesis and speech recognition.

2.3. Methodology

The design and the detail engineering of the prototype will be first considered in order to understand the structure of the hardware and the software of the prototype. Then, a global view of the product will be done to see its implementation. Moreover, the experimental validation of the different functionalities of the device will be taken into account to finally discuss its viability and the future perspectives of the prototype.

3. Design and detail engineering

3.1. Hardware

The developed device has been named B-HelpR and consists mainly of three parts: a handle for the detection and extraction of information from the targeted object, an electronic control board device for the processing of the previously obtained data and a tablet-PC to execute the program and communicate with the user. All these elements will be placed in a belt in order to make the prototype more portable.

The hardware general architecture can be considered in the following diagram.



Figure 1. Diagram of the communication between the different elements of the prototype.

The user needs to press the push button located in the B-HelpR's handle to initiate one of the functionalities. This fact generates a signal change in one of the pinouts of the electronic control board device and the variation is then communicated to the tablet-PC that executes the program. Moreover, the user inputs the corresponding mode of action through speech recognition, which is done via a module installed on the tablet-PC. Finally, the tablet-PC gives the result to the user by voice. Consequently, communication between the different elements is constant during the execution of the program.

The handle is used to integrate different components for the extraction of information from objects. It contains the C270 USB camera from Logitech [7] with 3 Megapixels of resolution, the MB1010 ultrasounds sensor from MaxBotix [8] with a range of detection from 15 to 648 centimetres, and a push button with a simple pole-simple throw normally opened (SPST-NO) configuration. Therefore, to integrate these specific components, the handle has been designed with Solid Works [9] and printed with a 3D printer named CubeX [10].

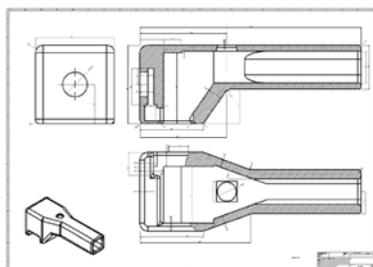


Figure 2. Drawing views of the handle's design.

The selected electronic control board device has been a MyRIO device from National Instruments [11]. It is an embedded device with two expansion port connectors for input and output ports. Proper connections have been made to the ultrasounds sensor and the push button. The webcam camera has been connected to the MyRIO device via USB.

The element used for the execution of the program has been the HP Stream 7 tablet-PC from Hewlett Packard [12]. The small dimensions of this tablet make it perfect for its implementation in this prototype.

3.2. Software

The main framework for the development of the program has been LabVIEW [13]. It is a very intuitive software that allows a proper integration of important modules. Some of the functionalities of the prototype, such as price recognition and the communication with the user by voice, need external modules to be executed. Microsoft's modules have been chosen in these cases for a matter of good inclusion within LabVIEW.

Optical character recognition used for price detection has been done with MODI Microsoft's module [14]. This module enables the extraction of different characters from an image. Moreover, voice interaction with the user needs another platform named Speech SDK [15] that allows speech synthesis and speech recognition. These modules have been installed on the tablet-PC for a good execution of the complete program.

For the configuration of the colour functionality, sixteen colours have been defined in the hue-saturation-brightness (HSB) model when the low colour sensitivity was chosen. Then, a specific format of tags has been considered for price detection. This format includes tags that have the Euro symbol (€) at the end of the price and numbers are of the same size and font.

Two applications have been created from the LabVIEW's project. One of them is installed on the MyRIO device and performs the extraction of information, as it contains the programs directly linked to the camera, the ultrasounds sensor and the push button. Furthermore, this data is sent to the other application located on the tablet-PC, where it is processed and finally, output to the user by voice and by the application's interface.



Figure 3. Tablet-PC application's interface.

3.3. Prototype

A belt is used to integrate all the components and facilitate the portability of the device.



Figure 4. Final B-HelpR prototype's appearance and demonstration of how to wear it.

The belt has three main spaces for the handle, the MyRIO device and the tablet-PC. The handle has to be firmly held in one hand and the push button is used to initiate a mode of action and to indicate the specific moment to acquire an image with the USB camera. The ultrasounds sensor is placed in the front part of the handle to point forwards and consider the free distance in front of the user and warn them when necessary. Moreover, headphones are recommended in order to avoid surrounding noise in speech recognition.

A detailed user guide of the device has been developed to specify all the steps that must be followed in order to use it properly.

4. Experimental validation

4.1. Colour detection

Colour detection has been tested for the sixteen colours defined in the colour spectrum. Different objects, materials, patterns and saturation of the colour have been considered and tested. All the results obtained from colour detection have been very promising as the program detected the image's colour every time except from the ones that were not defined in the program.

Moreover, colour detection is highly influenced by environmental light. Although light can modify the colour of the image obtained by the camera, the result of the program always corresponds to the one of the acquired image.

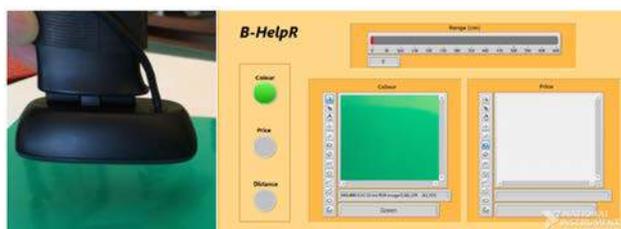


Figure 5. Test of the colour mode with a green coloured notebook.

4.2. Price recognition

Price detection was firstly tested with images obtained with the camera of an iPhone 5S device, which has a resolution of 8 Megapixels. Those images were firstly saved in the PC in TIFF format, the one needed by

MODI's module, and then, they were read by the program. Some part of the tags was successfully recognized and the price was perfectly detected despite being rotated or from different brands.

However, some of the tags were not well recognized or detected at all because of light and shadows. This effect was checked by painting a part of a price that was already detected by the program. The painting of some parts made more difficult the detection of the full price and as a consequence, the program only output the clear part of it.

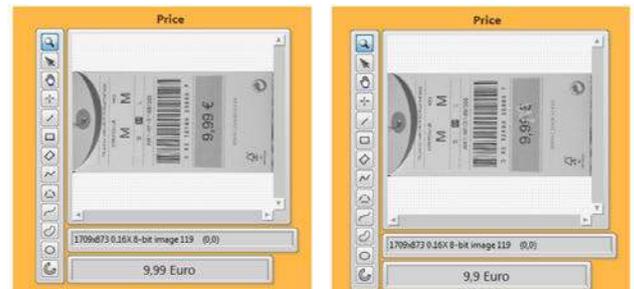


Figure 6. Demonstration of how the painting of some part of the price can affect to the detection.

Furthermore, price recognition was then tested by acquiring images with the USB camera used for the prototype. However, the resolution of this camera (3 Megapixels) is not high enough to perform OCR detection. Then, images were seen blurred and the price could not be recognized.

4.3. Distance measurement

The results obtained by the distance measurement mode have been successful. The sensor can perfectly detect objects within a range from 15 to 648 cm. Only large objects have been considered in the tests due to the objective of the application. Blind people want to know specific distances or if there is a big object in front of them and consequently, if they can walk straightforward or they must walk into another direction.

Moreover, the precision of the sensor is extremely high, corresponding the result exactly to the focused distance.

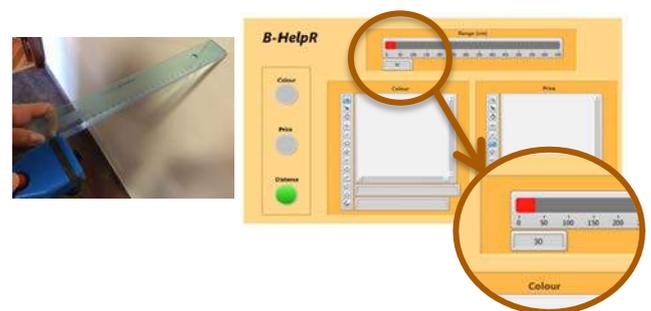


Figure 7. Test of the distance mode for a known distance of 30 cm.

5. Conclusions

It has been possible to contact organizations, such as ONCE, and a blind teenager to identify the main real daily problems. Consequently, the different useful functionalities for the prototype have been defined. The

modes of operation of the device are: colour detection, price recognition and distance measurement.

Colour detection has been successfully programmed and allows the detection of the sixteen defined colours. Although the colour sensitivity chosen for the definition of the colour spectrum has been the low one, a considerably high number of colours can be identified.

Furthermore, colour recognition is very precise and the output colour always corresponds to the colour shown in the acquired photography. The USB camera allows taking good and reliable images from objects for this purpose, as not much precision and resolution is needed for colour detection.

Moreover, price recognition has been programmed and identifies characters in images from different tags and with different rotations. However, the programming has been successful for images obtained with a high-resolution camera, such as the one of the iPhone 5S mobile phone that has 8 Megapixels, but not for images acquired by the USB camera (3 Megapixels).

Distance measurement has found to be very precise and the range detected is substantially large. Although the sensor cannot detect objects closer than 15 centimetres, this distance is not necessary to be identified because the user will notice the presence of an object being that close to him with his own hands.

It has also been possible to integrate all the functionalities in one device, which is relatively small and portable. A stand-alone application has been built in order to have the programming in a tablet-PC without the need of having LabVIEW installed on it. Having the application in the tablet-PC allows more mobility to the user without losing any functionality.

The handle has an ergonomic shape, comfortable and with the necessary space for each component. It has been possible to find a belt in which all the large components (tablet-PC, MyRIO and handle) could be placed securely. However, MyRIO needs to be constantly connected to the power supply, limiting the portability of the prototype.

In addition, the use of voice for the interaction with the user has been perfectly adapted to the programming and has created a friendly way of communication between the user and the application.

From these discussions it is possible to conclude that an investment from a company would be necessary in order to obtain a camera with higher resolution and a battery for the electronic control board device in order to make the prototype completely portable.

Finally, B-HelpR provides many advantages to the blind community, as it is an integrated device that perform three different functionalities and that has a friendly interaction with the user by voice, facilitating the use of the device and diminishing the time of adaptation needed by the user.

Acknowledgements

I would like to thank CASEIB for giving me the opportunity to present the work done during my Final Degree Project.

A special acknowledgement for the Faculty of Medicine of the University of Barcelona for giving me a scholarship to attend to CASEIB 2015.

Finally, I would also like to make a special acknowledgment for the Department of Electronics for all the support given during the Project.

References

- [1] Web page of the “Centro de Investigación, Desarrollo y Aplicación Tiflotécnica” (CIDAT from ONCE). <http://cidat.once.es> (Consulted: September 2015)
- [2] Web page of UltraCane. <http://www.ultracane.com> (Consulted: September 2015)
- [3] Web page of Caretec, manufacturer of Colorino. <http://www.caretec.at/Start.29.0.html> (Consulted: September 2015)
- [4] Web page of the Play Store-SwatchMatic Application <https://play.google.com/store/apps/details?id=com.appbaan.swatchmatic&hl=es> (Consulted: September 2015)
- [5] Web page of the Smart Glasses News in Oxford University. <http://www.ox.ac.uk/news/2014-06-17-smart-glasses-people-poor-vision-being-tested-oxford> (Consulted: September 2015)
- [6] Web page of the MIT Media Lab. <http://fluid.media.mit.edu> (Consulted: September 2015)
- [7] Web page of Logitech HD WebCam C270 <http://www.logitech.com/es-es/product/hd-webcam-c270> (Consulted: September 2015)
- [8] Web page of MB1010 Ultrasounds sensor http://www.maxbotix.com/Ultrasonic_Sensors/MB1010.htm (Consulted: September 2015)
- [9] Web page of SolidWorks <http://www.solidworks.es> (Consulted: September 2015)
- [10] Web page of CubeX from Cubify <http://cubify.com/Support/cubex/supplies> (Consulted: September 2015)
- [11] Web page of MyRIO Device <http://www.ni.com/myrio/esa/> (Consulted: September 2015)
- [12] Web page of HP Stream 7 Tablet <http://store.hp.com/us/en/pdp/tablets/hp-stream-7-tablet---5701> (Consulted: September 2015)
- [13] Web page of National Instruments LabVIEW Software <http://www.ni.com/labview/esa/> (Consulted: September 2015)
- [14] Web page of MODI Microsoft Module Download <https://support.microsoft.com/es-es/kb/982760/es-es> (Consulted: September 2015)
- [15] Web page of Speech SDK Microsoft Module Download <https://www.microsoft.com/en-us/download/details.aspx?id=10121> (Consulted: September 2015)

Determining the Tertiary Structure of an Olfactory Receptor

Y. Castillo Escario¹, A. Gutiérrez Gálvez^{1,2}

¹ Department of Electronics, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain ycasties7@alumnes.ub.edu, agutierrez@el.ub.es

² Artificial Olfaction Group, Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Barcelona, Spain

Abstract

Olfactory receptors (ORs) are transmembrane proteins that interact with odorant molecules, triggering the first step in the mechanism of olfaction. They also occupy a large part of mammalian genome and their dysfunction is involved in some degenerative diseases. Proteins structure is related to their function, but experimentally determining the three-dimensional structure of ORs is tricky. However, recent advances in bioinformatics have made it easier. The objectives of this project were to computationally model several ORs and to study their interactions with odorants. We carried out a comparative modelling process, using Chimera and Modeller programs as alignment, visualization and 3D reconstruction tools. After validating the models by several procedures, we performed docking experiments with DOCK. We predicted binding pockets location and studied which odorants bind which ORs, comparing our results with electrophysiological measures of olfactory neurons activity. At the end, we successfully built six mouse ORs models and tested them against 24 common odorants, obtaining a good correlation with previous studies and thus validating our protocol. Moreover, we reconstructed eight human ORs which had never been modelled before, though their predicted interactions with 63 odorants were not clearly correlated to previous experimental studies. In this way, we have shown the efficiency of these computational algorithms, which can contribute to the research about biological processes such as the mechanism of olfaction. With small improvements, they could be in an early future a suitable alternative to experimental approaches, leading to accurate protein models in a practical, faster and easier way.

1. Introduction

Proteins are the biomolecules with a widest variety of functions, developing roles ranging from structural components to cell signalling molecules. Proteins function is related to its amino acids sequence (primary structure) but also to their three-dimensional spatial distribution (tertiary structure). For this reason, tertiary structure prediction can be crucial to understand proteins roles in the organism. Olfactory receptors (ORs) are a superfamily of G protein-coupled receptors (GPCRs), located in the cell membranes of olfactory neurons. These proteins are formed by seven transmembrane domains, that is, they cross the cell membrane seven times. Thus, they have extracellular and intracellular parts. The function of ORs consist of, when detecting an odorant molecule that binds to them, initiating the signalling pathway that constitutes the first step of the mechanism of olfaction. Interactions between odours and ORs have been studied since many years ago, but they are still not clear, because several odours may activate a single OR and also more than one OR can be activated by the same odour.

Apart from being the first responsible for the sense of smell, ORs occupy a large part in the genome, which indicates a high physiological relevance. Furthermore, it has been shown that their dysfunction can be related to the development of degenerative diseases such as Parkinson, Alzheimer, HIV, schizophrenia or anorexia ^[1]. A method to determine the three-dimensional structure of ORs could contribute to the research into these diseases and to clarify the mechanism of olfaction.

Experimentally resolving the structure of ORs through nuclear magnetic resonance (NMR) or X-ray diffraction (as it has been done with other GPCRs) is not currently feasible. However, the exponential growth of bioinformatics technology has favoured the development and improvement of computational biology tools to predict protein structures at an atomic level with high resolution. Nevertheless, it is not an easy task since there are many degrees of freedom that have to be controlled. For this reason, only a few ORs have been successfully modelled. The first one was the rat OR 17, created from an electron diffraction structure of rhodopsin by Singer in 2000 ^[2]. Later, homology modelling programs such as Modeller were used for template-matching the ORs and then normalizing the structures ^[3]. In 2005, Lai *et al.* published the first simulation studies of ORs ^[4] using the first computational OR model (the one created by Singer) and ten odorant ligands. At the California Institute of Technology, Vaidehi, Floriano and other authors developed MembStruk ^[5] OR (and other GPCRs) creation-protocol, which uses a low resolution structure of rhodopsin. They also created Hierdock, a protocol to dock ligands in the binding pocket. In 2004, they used MembStruk to predict the three-dimensional structure of six mouse ORs (S6, S18, S19, S25, S46 and S50) and then they performed binding experiments with Hierdock with 24 odorant molecules, calculated the binding energies and compared their results with the experimental activation profiles, validating the predicted 3D structures and binding sites. They also screened a library of 89 additional molecules against the six ORs and found they had higher affinity for the compounds associated with the flavour in foods ^[6]. Chiquito J. Crasto reviewed the methodologies used in Computational Biology of Olfactory Receptors ^[1]. Then, his group developed a practical guide to perform comparative modelling experiments with ORs as targets and several GPCRs as templates, explaining the state-of-the-art techniques to obtain the 3D structures and perform dynamic ligand docking simulations in a realistic environment ^[7].

2. Objectives

As the three-dimensional structure of ORs can be a key piece to understand their function in physiological processes, we used bioinformatics simulation software tools to reconstruct it. Our objectives were to obtain the 3D structures of different mouse and human ORs, to be able to validate and optimize them and to compute docking experiments to simulate the ligand-receptor interactions and study which odorant molecules bind which ORs. In this process, we also pretended to identify which amino acid residues play a key role in the receptor function, being part of the binding pocket.

More specifically, our first goal was to model six mouse ORs (S6, S18, S19, S25, S46 and S50), which had been previously reconstructed by other computational methods, and to test them against a library of odorants, to compare our results with those of previous studies. This step would allow us assessing the validity of our protocol. Finally, our last goal was to determine the three-dimensional structure of a repertoire of human ORs and to perform docking simulations with a fixed list of 63 odorants, with the purpose of comparing our results with experimental data that had already been published. This approach had never been done before and it would allow us to test the performance of these computational biology algorithms and, also, to obtain and to study the structure of new ORs.

3. Materials and Methods

This project consisted of two main parts: 3D reconstruction of ORs and docking simulations, where we tested the models against a library of odorants. **Figure 1** is a general scheme of the used methodology, containing the main steps that were carried out and the programs we used: UCSF Chimera and Modeller (alignment and 3D building) and DOCK (ligand docking).

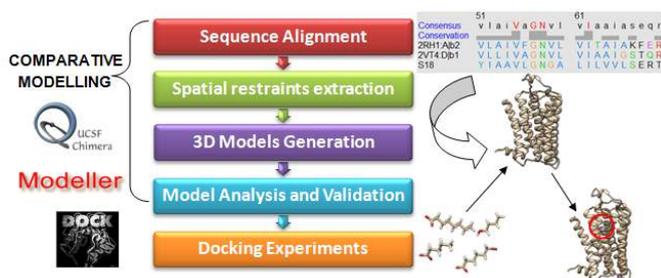


Figure 1. Methodology of the project: a comparative modelling process to build the 3D models and the docking simulations, where the interactions between ORs and ligands are studied.

The part of reconstruction of the ORs was a comparative or homology modelling process. It consists of building the structure of a target protein based on its similarities with other proteins, called templates, whose structures are known. To do that, the first step was to identify possible templates, scanning a database looking for proteins with a certain degree of sequence similarity to our target. Once the templates were selected, their sequences were aligned with the sequence of the target. Sequence alignment is a way to position different sequences in order to identify the most similar parts. Alignment is a critical step in homology modelling, since all the subsequent steps will

depend on it. We aligned sequences both in Chimera (through Needleman-Wunsch algorithm and BLOSUM-62 matrix) and directly in Modeller.

After that, Modeller was used, as a homology modelling program, to calculate spatial restraints (measures about distances and angles, and also energy restraints based on molecular mechanics force fields) and combine them into an objective function that would then be optimized. Thereby, the 3D models were selected and generated. Then, they were optimized and validated using different approaches. They were visually inspected in Chimera, and several parameters to test models' accuracy were calculated to reject bad models, select the best ones or refine them before proceeding to further steps. Analysis tools included modelling scores derived from statistical potentials (mainly GA341, DOPE and zDOPE), Ramachandran plots and hydrophility profiles.

The second part of the project consisted of studying which ORs responded to which odorants. This part is called docking, and lies on testing the receptors against a library of odorants, to calculate their binding energies (and hence the affinity they have) and predict their positions and orientations inside the receptor, thus finding its binding pocket. We performed these experiments using DOCK 6.0. Spheres were generated around the receptor molecular surface, to simulate the cavities that could correspond to the binding pocket, and also around the ligand surface. Then, a grid was used to reduce the high computational cost of testing all the possible conformations of the ligand in the entire space. Finally, what is properly the docking part was performed, through a flexible docking protocol, to allow molecular conformational changes. To do that, we used different DOCK subroutines, considering different physico-chemical interactions (mainly, electrical and Van der Waals forces and hydrogen bonds), to predict the best possible conformation of the ligand inside the receptor cavity (the one that maximized their contact surface). We evaluated the conformations through a grid energy score, to select the lowest one, thus keeping a close to real conformation corresponding to the complex energy minimum. Results were also analyzed using the ViewDock tool of Chimera and the binding pocket was identified for each receptor, choosing the residues that were located at less than 5 Å of the odorants. Results validation included its comparison with previous computational and experimental studies ([6], [8] and [9]).

4. Results and Discussion

4.1. Building the 3D Models

We have predicted the structures of six mouse ORs (S6, S18, S19, S25, S46 and S50) and eight human ORs that had never been modelled before (OR2W1, OR1A1, OR51E1, OR51E2, OR2J2, OR5P3, OR2C1 and OR2M7). We obtained better results when working directly with Modeller than in Chimera interface, because Modeller takes into account structural information from the templates structures and the errors in the alignment step are greatly reduced.

All the structures were evaluated through GA341 and zDOPE modelling scores. We selected only the models with GA341 values higher than 0.7, indicating a probability of 95% or higher of having found the correct fold, and negative (or, failing this, very low) zDOPE.

Human adenosine A2a and β 2 adrenergic receptors were found to be the best templates, allowing reconstructing most of the ORs. These GPCRs were used both alone or combined in a multiple sequence alignment and lead to nice results.

The residues where each structural domain (transmembrane helix or loop) started and ended were predicted and they are shown in **Figure 2** (for the case of mouse ORs). This result was compared with the work of Floriano and his colleagues [6], obtaining a good correlation. The regions are not exactly the same, but they differ only in a few amino acids at the start or the end of each domain. This is a good indicator of the performance of the protocol and the validity of the models.

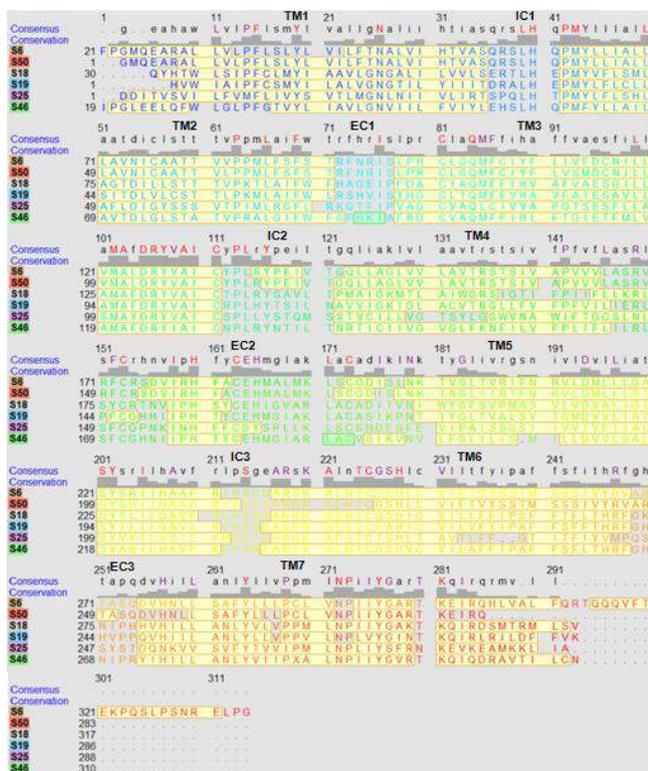


Figure 2. Alignment of the 6 mouse ORs, built in Chimera, showing the predicted regions: transmembrane helices (TM) bold in yellow and intracellular (IC) and extracellular (EC) loops green or not marked. Some helices are split, since they are not well modelled due to alignment problems that yielded to small loops in these parts. Colours correspond to Figure 3.

By visually inspecting all the models, the structures seemed to be correct in general terms: they presented the normal regions of GPCRs structures and there were not many entwined loops. However, small loops in some helices appeared in several models, because of problems in the alignment that could not be solved, in which no part of the templates sequences was assigned to a part of the targets sequence. These parts are probably not well-modelled, but since they are not close to the binding

pocket, in principle they should not affect to the predictions of the docking process.

4.2. Docking Experiments

In this part, we tested the obtained OR models against libraries of common odorants. The region of the binding site was identified for each receptor. It was found to be between helices 3 and 6 (concretely, in the space formed by H3, H5, H6 and EC2). This was as expected, because it is in agreement with previous studies and it is known that all GPCRs have its binding pocket around this region. All the odorants were docked inside this binding pocket (**Figure 3**). We compared their location with the position of the natural ligand of one of the templates (**Figure 3C**). Its location is also inside the binding pocket and it is similar to the one of the odorants, because both belong to GPCRs family. Some of the amino acids around the binding pockets are highly conserved for this reason.

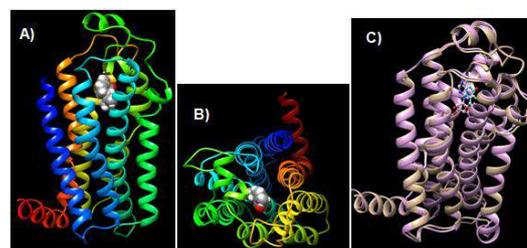


Figure 3. A) and B) Human OR1A1 with (-)-Carvone docked (side and top views, respectively). A rainbow representation is used for the receptor, from H1 (dark blue) to H7 (dark orange-red). The odorant is shown in sphere representation. Hydrogen atoms are shown in white, carbon atoms in gray and oxygen atoms in red. C) OR1A1 (brown) superimposed to human adenosine A2a receptor (pink). Their ligands are (-)-Carvone, in blue, and NEC, in pink. They occupy similar locations and the binding pockets are in the same region.

Mouse ORs were tested against a library of 24 common odorants from 4 chemical classes. The calculated binding energies of S50 are shown in **Figure 4**. They were calculated for all ORs and compared with previous computational and experimental studies ([6] and [8]). We have to take into account that our energies are not in the same order of magnitude, since our protocols were different, and our energies were calculated as a grid score which is different from the one that they used. Even so, the same tendencies can be observed, except for the diacids group and S25. In general, ligands that present experimental response have more favourable binding energies in our study. However, though differences in grid score values allow separating chemical classes, they are not sufficient to predict exactly which odorants will elicit experimental response. We have to note that favourable binding energies are a necessary but not sufficient condition for activating the receptor, because a substance may bind to the receptor and not activate it [6].

Energy profiles also allow differentiating two families of ORs: one formed by S6 and S50 (with strong response to diacids) and the other by the rest of ORs. This classification can also be seen in **Figure 2**, where S6 and S50 show a high sequence similarity.

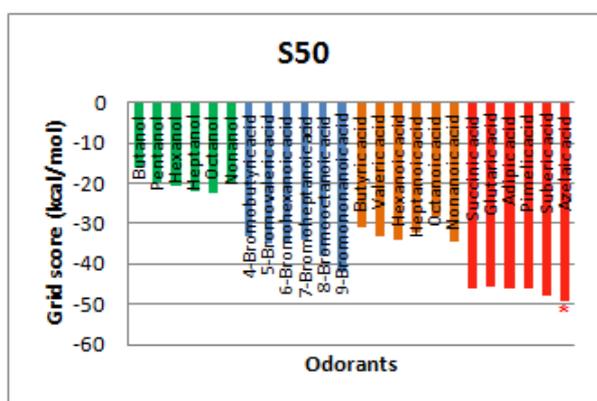


Figure 4. Calculated grid score profile for mouse OR S50. Chemical classes are shown in different colours: alcohols (green), bromo-acids (blue), acids (orange) and diacids (red). Most negative energies indicate better binding. Red asterisks mark the odorants found to elicit experimental response^[8].

These results allowed us validating our protocol, and then we repeated it with human ORs. We tested them against a library of 63 common substances and calculated their binding energies. Though the models were apparently correct and the docking protocol was the same, the results were not the expected ones. The region of the binding pocket was identified and the odorants were docked inside it, but the grid scores were in poor correlation with previous experimental studies^[8]. These experiments were in vitro and not in vivo, and that could affect, apart from the differences in our protocols and the variable parameters of the docking procedure in DOCK, but anyway they differed a lot. Furthermore, to test the degree of correlation between the responses of each pair of ORs, the Pearson correlation coefficients were calculated. They all were very high values, what is not a good indicator, since each OR should respond to certain substances, different from the ones of other ORs. That is the principle of the mechanism of smell.

5. Conclusions

As protein structure is closely related to its function, and thus predicting the structures of ORs could help to study their role in physiological processes, we aimed to develop a methodology to determine the tertiary structure of ORs. Our objectives were to determine the three-dimensional structure of different ORs and to perform docking experiments to test them against a library of odorants and study their responses, thus predicting their affinities and the location of the binding pocket. These objectives were reached, since at the end we obtained accurate models of 6 mouse ORs (S6, S18, S19, S25, S46 and S50) and 8 human ORs that had never been modelled before (OR2W1, OR1A1, OR51E1, OR51E2, OR2J2, OR5P3, OR2C1 and OR2M7). Moreover, we compared the docking results with previously published computational experimental studies, in order to estimate the accuracy of this computational method, and we obtained a good correlation when working with mouse ORs. In this way, we validated our protocol with real electrophysiological measures of olfactory neurons activity. However, docking results with our repertoire human ORs were not so good and no clear tendency was evidenced when comparing

with experimental studies. This indicates that these results were not enough to predict exactly the response of these receptors to the odorants. Anyway, the location of the binding pocket and the position and orientation of the odorants inside it could be deduced, apart from having precise computational models of these human ORs.

We can conclude that the computational methodology we developed, based on a comparative modelling approach that was applied through freeware, has shown to be efficient to determine the tertiary structure of mammal ORs. The docking procedure allowed predicting the region of the binding pocket and the location and orientation of the odorants, though persistent uncertainties in the algorithms of the programs led to certain limitations when calculating the binding energies. Moreover, an exhaustive technical and economic analysis of this project showed it was feasible and worthwhile. Their costs were very low and it could be an important step forward in molecular modelling by bioinformatics. Therefore, we have contributed to show that engineering methods, in this case in the field of bioinformatics, can be extremely valuable to study biological entities. Actually, they could help to the research about the mechanism of the sense of smell and the role of ORs in physiological and pathological processes. Computational techniques could be in an early future a suitable alternative to experimental approaches, enabling to obtain accurate models of different proteins in a practical, faster and easier way.

Acknowledgments

We would like to thank the organizers of CASEIB 2015 and the University of Barcelona (UB), especially to Daniel Navajas, for the opportunity to take place on such prestigious Biomedical Engineering Congress.

References

- [1] Crasto CJ. Computational Biology of Olfactory Receptors. *Curr Bioinform.* 2009; 4(1):8-15
- [2] Singer MS. Analysis of the molecular basis for octanal interactions in the expressed rat 17 olfactory receptor. *Chem Senses.* 2000; 25(2):155-65.
- [3] Sali A, Blundell TL. Comparative protein modelling by satisfaction of spatial restraints. *J Mol Biol.* 1993; 234(3):779-815.
- [4] Lai PC, Singer MS, Crasto CJ. Structural activation pathways from dynamic olfactory receptor-odorant interactions. *Chem Senses.* 2005; 30(9):781-92.
- [5] Vaidehi N, Floriano WB, Trabanino R, et al. Prediction of structure and function of G protein-coupled receptors. *Prot Natl Acad Sci USA.* 2002; 99(20):12622-7.
- [6] Floriano WB, Vaidehi N, et al. Making Sense of Olfaction through Predictions of the 3-D Structure and Function of Olfactory Receptors. *Chem Senses.* 2004; 29:269-290
- [7] Charlier L, Topin J, et al. Molecular Modelling of Odorant/Olfactory Receptor Complexes. *Methods Mol Biol.* 2013; 1003:53-65.
- [8] Malnic B., Hirono J. et al., Combinatorial Receptor Codes for Odors, *Cell*, Vol. 96, 713-723, March 5, 1999
- [9] Saito H., Chi Q. et al., Odor Coding by a Mammalian Receptor Repertoire. *Sci Signal* 2009 Nov 6; 2(60): ra9.

Effects of Cell Culture Flexible Substrate on Cardiomyocytes

L. Gómez-Cid¹, L. Fuentes¹, I. Hernández-Romero¹, M.S. Guillem², M.E. Fernández-Santos¹, F. Atienza¹, F. Fernández-Avilés¹, A.M. Climent¹

¹ Servicio de Cardiología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

² Instituto ITACA, Universitat Politècnica de Valencia, Valencia, España

Abstract

Major considerations in the design of engineered cardiac patches are the regenerative and electrophysiological properties of cardiac cells. The objective of this study is to compare key cardiomyocyte functional properties for cardiac repair such as proliferation, migration and displacement, and conduction velocity of atrial murine cells (HL-1-myocytes) in two different substrates: (1) rigid Petri dishes and (2) flexible PDMS (polydimethylsiloxane) wells. Results from this study confirm that the use of flexible substrates induces a more similar cardiac phenotype to that shown in vivo, especially characterized by higher conduction velocities. This result was supported by a higher expression of genes involved in action potential generation and propagation. Flexible membranes will allow further studying the effect of simultaneous mechanical and electrical stimulation on cardiac properties in vitro.

1. Introduction

Cardiovascular diseases are the first leading cause of death worldwide, being ischemic heart disease and myocardial infarction the most common [1]. If cardiomyocyte depletion occurs, it can cause further heart failure, as remodelling occurs with heterogeneous tissue. This tissue presents lower conduction velocities that provoke asynchronous electric conduction, thus increasing the risk of future re-entries that can lead to cardiac arrhythmias [2].

Engineered cardiac patches seem a promising tool to solve this problem. Furthermore, they allow adequate simulation of cardiac tissue dynamics *in vitro* to obtain models and realistic responses of pharmacological agents and therapies. To serve those purposes, cardiac patches must have optimal structural, mechanical and electrophysiological properties, and to populate them, cell proliferation, migration and displacement are also important. Myocardial tissue has complex architecture and cell interconnections, and to mimic the Extra Cellular Matrix (ECM) environment is one of the main challenges of tissue engineering, as it is crucial to obtain *in vivo* like phenotypes, such as higher conduction velocities and more efficient and synchronous contractions [3].

The purpose of this work is to study and quantify the effect of using flexible membranes as substrate on different properties that play a key role in cardiac patches development and functioning. The flexible membranes employed are PDMS (polydimethylsiloxane) wells. Its

flexibility is closer to that of the ECM in contrast to conventional Petri dishes, providing a more *in vivo*-like environment. The use of these membranes will also offer the possibility of studying the impact of mechanical and electrical stimulation during cell culture, which may result in further enhancement of these desired properties.

2. Methods

2.1. Cell culture

HL-1 cells were maintained, grown and proliferated according to the standard protocol established by Claycomb et al. [4].

2.2. Proliferation assay

To study proliferation of HL-1 cells, alamarBlue® (oxidation-reduction colorimetric indicator) was used. Cells were seeded in three p35s (Petri dishes) and three PDMS wells at an initial concentration of 35000 cells/cm² on day 1 and cultured with 208µL of medium/cm². From day 2 to day 5, equal amount of media was changed at 5 pm and incubated overnight. In the following morning, alamarBlue® was added at 9 am in a concentration of 1 µL/10 µL of medium and left in the incubator for 4 hours. After this time, 300 µL of each sample (medium + alamarBlue®) were loaded into 96-well plates (100 µL/well, 3 replicates). Absorbance for each well was measured using EMax® Plus Microplate Reader from bioNova científica. In order to obtain the percentage of reduction (marker of proliferation) from absorbance at two different wavelengths, the formula in the product specifications was applied.

2.3. Migration and displacement

Migration and displacement properties of HL-1 cells were measured by quantifying the time needed by the cells to close an injury. Specifically, a linear wound was generated after reaching full confluence by scratching with the tip of a pipette in three p35s and three PDMS wells. After wound induction, cell migration and displacement were recorded using time-lapse equipment (Lumascope 400 iVue, etaluma) by taking an image every 5 minutes during 60 hours. To process those images, custom software in MATLAB (The MathWorks) was developed to obtain graphs of confluence over time in the wound area and displacement velocity values.

2.4. Conduction velocity

Four confluent samples of HL-1 on each substrate were employed to measure electrophysiological conduction velocity. Specifically, calcium transients were recorded using optical mapping technique, and results were further analysed by custom software developed in MATLAB to obtain impulse propagation velocity measurements.

For calcium transient imaging, each HL-1 sample was incubated for 30 minutes in 1.5 mL of Tyrode solution, 8 μ L of Probenecid and 5 μ L of rhod-2 dye. After several washes, in order to excite rhod-2, cell cultures were illuminated with two filtered green LED light sources (CBT-90-G, peak output 58W, peak wavelength 524nm; Luminus Devices, Billerica, USA), with a plano-convex lens (LA1951; focal length=25.4mm, Thorlabs, New Jersey, USA). The green excitation filter used was D540/25X (Chroma Technology, Bellows Falls, USA). Fluorescence emitted was recorded using an EMCCD camera (Evolve-128: 128x128, 24x24 μ m-square pixels, 16 bit; Photometrics, Tucson, AZ, USA), with a custom emission filter (ET585/50-800/200M; Chroma Technology) in front of a high-speed camera lens (DO-2595; Navitar Inc., Rochester, USA).

Once electrical activity was confirmed, lines were made in the cell culture by scratching in order to allow electric conduction to happen only in a certain direction. This simplifies the electric activity and eases future measurements. Moreover, cells were stimulated by bipolar point stimulation with two electrodes in order to produce a linear propagation over the cell culture.

The movies were further processed in custom software developed in MATLAB. In order to obtain conduction velocity values, two pixels are selected and their two fluorescence signals along time are correlated. With a calibration distance (spatial information) previously indicated and the electric impulse correlation distance (temporal information), conduction velocity is calculated. This process can be observed in Figure 1.

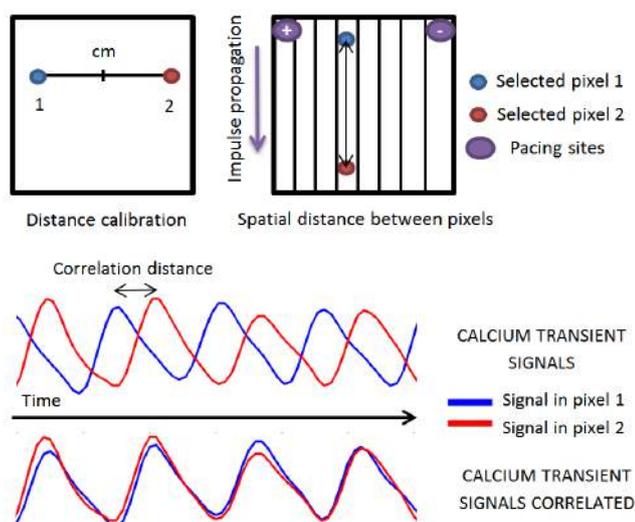


Figure 1. Process for calculating conduction velocity. (1) Calibration. (2) Pixel selection. (3) Correlation of fluorescence signal in time of pixel 1 and pixel 2 (4) Conduction velocity obtaining as Spatial distance (cm)/Correlation distance (s).

2.5. Gene expression analysis

In order to evaluate the effects of the cell culture substrate on main ion channels gene expression, RNA from three samples in each substrate was isolated using Tri-reagent (Sigma). Transcripts were quantified in a two-step RT-PCR. First strand cDNA was synthesized using High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems). The samples were later run using SYBR Green oligonucleotides and the CFX Real Time PCR detection Systems (Bio Rad). Analysis was performed with two technical replicates for each sample. Gene expression values were normalized to two standard housekeeping genes (36b4 and Cyclophillin) as internal controls, and expressed as relative mRNA levels (relative expression). Primer sequences are shown in Table 1.

Gene	Protein	Forward Primer (5'->3')	Reverse Primer (5'->3')
SCN5A	Nav 1.5	CACCTTCACCGCCAT CTACA	AAGGTGCGTAAGGC TGAGAC
CACNA1C	Cav 1.2	CCTCGAAGCTGGGA GAACAG	TGTGTGGGAGTCAA TGGAGC
KCNJ2	Kir 2.1	GACGCCTTCATCATT GGTGC	CCGGACATGAGCTTC CACAA
GJA5	Con 40	ATACCATTACAGCTG GTTGC	GGTGGGCCTCTTTA GCTTTC
GJA1	Con 43	GGACTGCTTCTCTC ACGTC	CAGCTTGACCCAGG AGGAG
GJA7	Con 45	TTTGTGTGCAACACA GAGCA	GGTCCTCTCCGTTT CTTCC
36B4		GCGACCTGGAAGTC CAACTA	ATCTGCTGCATCTGC TTGG
CYCLOPHYLIN		ACAGGTCCTGGCATC TTGTC	CATGGCTCCACAAT GTTCA

Table 1. Primers used for reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR).

3. Results

3.1. Proliferation

HL-1 cells were able to grow, attach and keep spontaneous contraction over both substrates. In fact, proliferation was high because of the cell tumorous origin [4], as 100% of reduction was achieved within 6 days. Although not significant differences were observed, in Petri highest proliferation rates occurred at early stages of the cell culture, whereas in PDMS at late stages. Moreover, in Petri dishes a more reproducible response was observed, as in PDMS wells standard deviation between the three samples was considerably greater.

3.2. Migration and displacement

The ability of HL-1 cells to close induced wounds was demonstrated to be limited over both substrates, as it is characteristic of adult cardiomyocytes. After 60 hours, none of the injuries were completely closed in any of the materials (Figure 2). The analysis of maximum displacement velocities (i.e. 0.40 μ m/min in PDMS and 0.25 μ m/min in Petri) demonstrated the reduced ability of these adult cardiomyocytes to migrate, suggesting that these cells colonize only by proliferation.

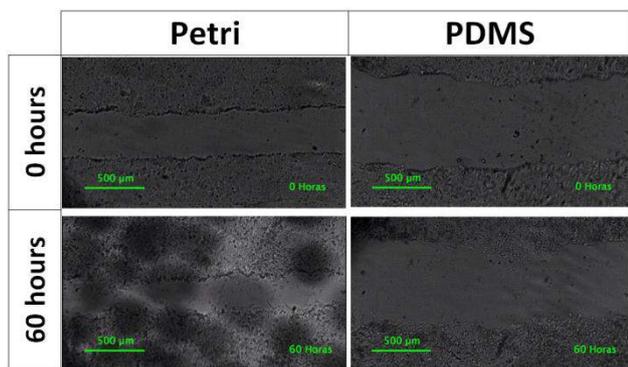


Figure 2. Wound test images in both substrates at two different times.

3.3. Conduction velocity

A representative example of isochrones maps for Petri and PDMS generated from the optical mapping movies data is shown in Figure 3. Uniform impulse propagation can be observed in both bands, confirming that the cells were confluent and that conduction followed a straight path. Notice that the time impulse takes to reach the end of the band in the PDMS well is shorter than in the Petri dish, suggesting faster conduction velocities.

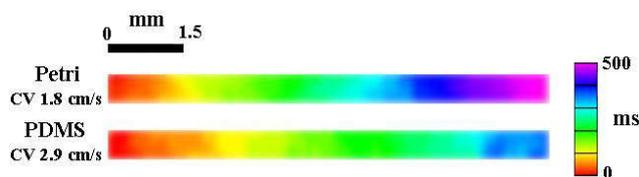


Figure 3. Isochrones maps of a significant band in each substrate.

Average conduction velocity values of HL-1 cells grown in Petri and PDMS can be observed in Figure 4. Impulse propagated significantly faster when cells were grown in flexible membranes as the conduction velocity was 156% greater in PDMS wells (2.4 cm/s) than in Petri dishes (1.5 cm/s).

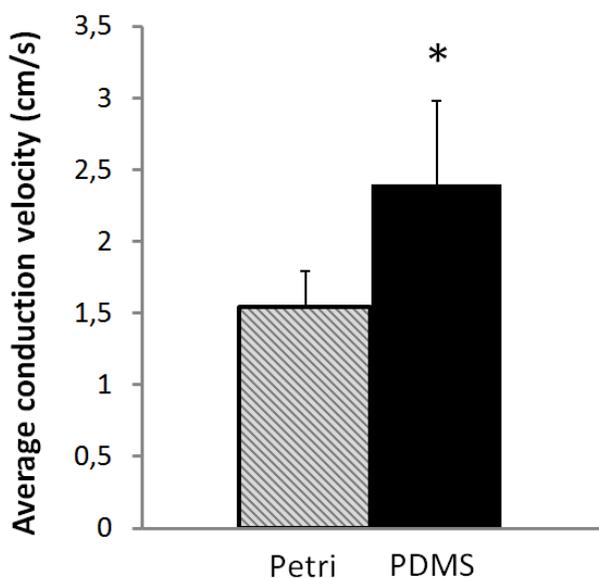


Figure 4. Average conduction velocity for each substrate. Differences are statistically significant when $p < 0.05$ (*) (TTest).

3.4. Gene expression analysis

The gene expression analysis supported what was observed at a functional level, as genes analysed codifying for proteins involved in action potential generation and propagation were higher expressed in cells grown over PDMS wells (Figure 5).

A higher expression of genes codifying for molecular components of sodium, calcium and potassium channels (SCN5A, CACNA1C and KCNJ2) and of genes codifying for connexins forming part of gap junctions (GJA5, GJA1, GJA7), may indicate a greater presence of these proteins in HL-1 cells. These results confirm the influence of the flexible substrate on the gene expression corresponding to proteins related to electrophysiological cardiomyocytic properties.

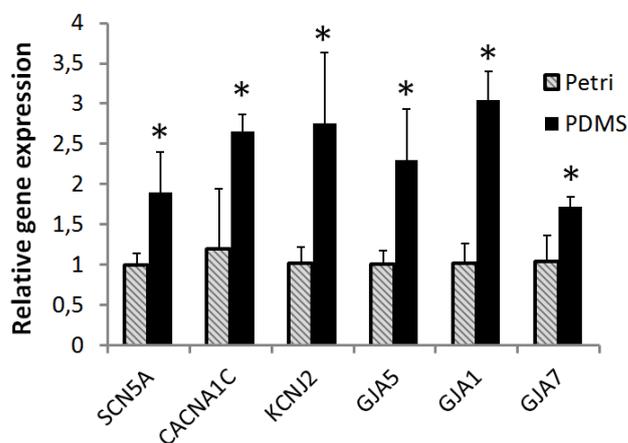


Figure 5. Expression levels of ion channels in HL-1 cells grown in PDMS versus Petri substrates. SCN5A, CACNA1C and KCNJ2 genes codify for proteins which are subunits of ion channels associated to I_{Na} , I_{CaL} and I_{K1} respectively. GJA5, GJA1, GJA7 genes codify for components of the gap junctions: connexin 40, connexin 43 and connexin 45 respectively. Differences are statistically significant when $p < 0.05$ (*) (TTest).

4. Discussion

4.1. Main contributions

The results of this study demonstrate that the culture of cardiac cells on flexible membranes has an impact on their phenotype. This impact has shown to be especially significant in electrophysiological properties, as conduction velocity has increased considerably. The similar flexibility of PDMS with that of the ECM may be the reason behind the gene expression profile more characteristic of adult cardiomyocytes. These changes in gene expression may have led to a higher presence of gap junctions and ion channels that ease impulse generation and propagation.

Proliferation, migration and displacement have not shown relevant differences between both substrates. Proliferation was in general elevated because of the nature of HL-1 cells, while migratory capacity and displacement were nearly absent in both substrates as it is characteristic of adult cardiomyocytes. From the data obtained, it could be concluded that HL-1 cells colonize merely by

proliferation. This low ability to repair wounds may pose further problems for the population of cardiac patches.

The use of flexible membranes opens new insights into cardiac patches for cardiac regeneration, as obtaining higher conduction velocities while maintaining other general cell properties is possible. As impulses propagate faster, the possibility of future re-entries will diminish and the patch will integrate better within healthy tissue. Flexible membranes also allow future studies of electrophysiological properties during cell culture under simultaneous mechanical and electrical stimulation, which is otherwise impossible with rigid Petri dishes. These conditions may improve characteristic cardiomyocyte properties even further, leading to better quality patches.

4.2. Comparison with previous studies

Conduction velocities in rat ventricular myocyte monolayers are close to 25 cm/s, but *in vitro* growing of cardiac cell lines and iPSCs (induced Pluripotent Stem Cells) has shown very inferior speeds (1-2.5 cm/s). The use of flexible membranes had already been suggested to have an impact on impulse propagation, as maximum conduction velocity obtained *in vitro* has been 21 cm/s using genetically purified human cardiac myocytes and flexible membranes together [5]. However, the impact of flexible membranes alone on electrophysiological properties was carried out through this systematic study.

4.3. Applications

The generation of cardiac patches that mimic *in vivo* properties have two main applications: (1) as therapy for cardiac regeneration of scar tissue after an infarct and (2) as models of cardiac tissue for *in vitro* drug and therapy testing.

In order to serve as therapy, one of the main limitations of current cardiac patches is their low conduction velocity values. In addition to that, cells which present high proliferation and migration capacity are required in order to populate the patches effectively. To obtain considerable migration capacity, immature cardiomyocytes such as cardiopoietic cells or iPSCs not terminally differentiated into cardiomyocytes should be contemplated. To reach higher conduction velocity values these immature cells should be further differentiated.

The use of these patches as realistic models of *in vivo* behaviour offers many advantages. First, they may reduce the number of animals and the time required. Secondly, they ease procedures and present better simulation of cardiac tissue dynamics, as conduction velocities of HL-1 cells grown over flexible membranes are closer to *in vivo* values. Low migration capacity observed also mimicks accurately adult cardiomyocyte behaviour.

4.4. Limitations

The results obtained for conduction velocity measurements, although significantly higher for flexible membranes, are still far from *in vivo* impulse propagation

velocities. This may be due to the limited number of cells interconnected in monolayers. The use three dimensional *in vitro* structures such as decellularized matrices could contribute to the improvement of cardiomyocytic properties, as it provides an ideal environment for cells to grow [6].

With the objective of clarifying if a higher expression of the studied genes has led to a higher presence of proteins related to unique cardiomyocyte properties it will be convenient to use direct protein detection techniques. This is necessary to confirm that this higher protein presence is the responsible of the higher conduction velocity values.

5. Conclusions

The use of flexible membranes has shown to play a role in cardiac cell phenotype, especially inducing faster impulse propagation. At the molecular level, expression of genes codifying for proteins involved in ion channels and gap junctions were also more expressed in cells grown over flexible membranes, suggesting that this may be the cause behind the higher conduction velocity measurements.

These results open new insights into cardiac patches, as its use allows further research on the impact of simultaneous electrical and mechanical stimulation during cell culture, mimicking even better the *in vivo* environment of cardiac cells.

Acknowledgements

Supported in part by grants from the *Instituto de Salud Carlos III* and Ministry of Economy and Competitiveness of Spain: PI13-01882, PI13-00903 and TEC2013-50391-EXP, by the *Red de Investigación Cardiovascular* (RIC) and *Red de Terapia Celular*, and by *Becas Santander de Prácticas en PYMES*.

References

- [1] Gaziano T, Reddy KS, Paccaud F, et al. Cardiovascular Disease. Disease Control Priorities in Developing Countries. 2nd ed. Washington (DC): World Bank; 2006.
- [2] Rubio Guivernau JL, Ledesma Carbayo MJ, Arenal Maíz Á, et al. Do the spatial characteristics of myocardial scar tissue determine the risk of ventricular arrhythmias? *Cardiovasc Res.* 2012 Mar 1;94(10.1093/cvr/cvs113):324–32.
- [3] Wang B, Borazjani A, Tahai M, et al. Fabrication of cardiac patch with decellularized porcine myocardial scaffold and bone marrow mononuclear cells. *J Biomed Mater Res A.* 2010 Sep 15;94(4):1100–10.
- [4] Claycomb WC, Lanson NA, Stallworth BS, et al. HL-1 cells: a cardiac muscle cell line that contracts and retains phenotypic characteristics of the adult cardiomyocyte. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Mar 17;95(6):2979–84.
- [5] Lee P, Klos M, Bollensdorff C, et al. Simultaneous voltage and calcium mapping of genetically purified human induced pluripotent stem cell-derived cardiac myocyte monolayers. *Circ Res.* 2012 Jun 8;110(12):1556–63.
- [6] Sánchez PL, Fernández-Santos ME, Costanza S, et al. Acellular human heart matrix: A critical step toward whole heart grafts. *Biomaterials.* 2015 Aug;61:279–89.

Characterization of the effect of a biopolymer in wound healing

I. Casado-Losada¹, A. Civantos², E. Martínez-Campos³, A. Santos-Coquillat³, JL. López Lacomba³, A. Concheiro Nine⁴, C. Álvarez Lorenzo⁴, S. Guerrero- Aspizua⁵, V. Ramos³.

¹ Department of Bioengineering, Carlos III University (UC3M), Madrid, Spain, {isacalo@hotmail.com}

²Science and Polymer Technology Institute (ICTP – CSIC), Madrid, Spain.

³Institute of Biofunctional Studies, Complutense University (UCM), Madrid, Spain.

⁴Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Santiago de Compostela University (USC), Santiago de Compostela, Spain.

⁵Department of Bioengineering, Carlos III University (UC3M), Foundation Jiménez Díaz Healthcare Research Institute (IIS FJD), Madrid, Spain.

Abstract

The primary function of the skin is to serve as a protective barrier against the environment. Loss of integrity of large portions of the skin as a result of injury or illness may lead to major disability, loss of function or even death. Wound healing is a dynamic and interactive process that requires the efforts of many different cell types. Because of their biocompatibility, biodegradability and similarity to macromolecules recognized by the human body, some natural polymers such as polysaccharides (alginates, chitin, chitosan, heparin), are extensively used in wounds and burns management, with therapeutic purposes.

Chitosan, as a cationic polymer, has been widely used as a topical dressing in wound management. The aim of the present study was to evaluate chitosan oligomers as wound-healing promoters in different topical cream pharmaceutical formulations, incorporating some other natural polymers such as hyaluronic acid, and different natural oils to enhance and accelerate the process.

1. Objectives and design

The objective of this work is to develop a topical cream incorporating a natural polymer (chitosan oligomer) and different types of oils, whose properties in skin wound-healing were assessed through: *in vitro* and diffusion assays, and rheological studies.

2. Introduction

The skin is the largest organ in the body and it acts as a barrier to pathogens, water loss and mechanical injury [1]. It is composed of two main layers: epidermis and dermis. Both layers contain different cellular types. The most abundant cells in the dermis, are fibroblasts, which synthesize collagen and elastin fibers [2]. On the contrary, epidermis, which is divided into four strata, is formed mainly by keratinocytes.

Disruption of the skin by injury is a breakdown of the protecting barrier of the body. Because of the potential problems that could appear, the body prevents blood loss and further exposure to pathogens by forming a fibrin-rich clot. This clot is the first stage in the wound healing

cascade. It is formed by four sequential but overlapping processes: inflammatory response, re-epithalization, granulation tissue formation, and remodeling of the healed wound.

Additionally, skin can also be injured through burns that may result in serious damage because of the higher susceptibility of the burned surface [3].

The most conventional treatments for burns are skin grafts. However, they reported several problems as immunogenicity, recovery time, infections, etc. Hence, those problems have prompted the research towards regenerative medicine, an alternative that would be widely available, with properties closer to natural skin.

The field of biomaterials can be combined with different branches of knowledge, as pharmacy, in order to develop pharmaceutical compositions that provide a solution for treating skin injuries. Normally, this pharmaceutical compositions range in different types and forms: foams, gels, creams, etc. Their objective is to work as a wound dressing, whose main characteristics are listed in Table 1. Creams offer the indicated properties and they also allow the incorporation of antimicrobial agents. They are less occlusive, less messy and the best option for moist lesions.

Characteristics of an ideal wound dressing

High moisture vapor permeability
Non adherent
High capacity for absorption
Provide barrier to external contaminants
Prevents capillary loops penetrating into dressing material
Capable of being sterilized
Good adhesion to surrounding skin
Hypoallergenic
Comfortable to wear
Cost effective

Table 1. Characteristics of an ideal wound dressing [4].

The field of biomaterials is increasing the attention on a natural polymer called chitosan (CS). CS is a natural nontoxic and cationic biopolymer produced by the deacetylation of chitin, a major component of the shells of crustaceans (Figure 1).

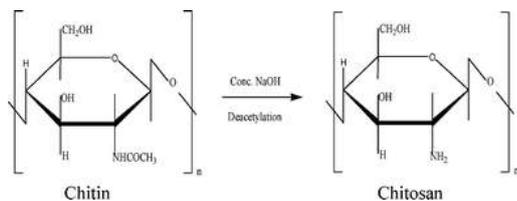


Figure 1. Deacetylation of chitin, which produces CS.

In common with many cationic polymers, CS has pronounced antimicrobial effects due to destabilization of the outer membrane of Gram-negative bacteria and permeabilization of the microbial plasma membrane [5]. CS is well-known to stop the activities that involve a wound infection, and several factors affect its antimicrobial properties, such as: degree of deacetylation, ionic strength, pH of the dissolving medium and the molecular weight.

Furthermore, CS derivatives, named as chitosan oligomers (COs) have been reported to accelerate wound healing, participating at different stages of this process, through the activation of fibroblasts, cytokine production, cell migration, promotion of granulation tissue formation and collagen VII synthesis.

The present work is focused on the wound healing effect of COs. The evaluation of wound healing activity of COs is accomplished through their incorporation to a pharmaceutical semisolid composition (cream). It should be noted, that in order to develop a cream, at least three components are needed: oil, water and a surfactant. Nevertheless, the formulation developed along this work incorporates also several components that provide stability, consistency and viscosity.

Other components are commonly used in these kind of medical products. Hyaluronic acid is the active ingredient of the topical cream. It is a linear polymer synthesized in the cellular plasma membrane and it is found mainly in skin tissue [6]. Moreover, different types of oils were incorporated to the topical cream such as: Argan and Rosehip seed oil. Both of them have repairing, healing, and revitalizing effects on the skin when they are applied.

Information of surfactant and the quality of the emulsion produced is obtained evaluating the rheological properties of creams. A rheometric measurement normally consists of a strain or a stress analysis at a constant frequency (normally 1Hz) combined with a frequency analysis. The strain sweep gives information of the elastic or storage modulus G' , and the viscous or loss modulus G'' .

3. Results and discussion

3.1. CS characterization and COs production.

CS was characterized by its most important properties: molecular weight, degree of deacetylation, water and ash content. The molecular weight was determined as a

function of the intrinsic viscosity. The degree of deacetylation was measured by NMR spectroscopy. Finally, the water and ash content were obtained using gravimetric techniques.

COs were obtained from the previously characterized CS by a heating treatment in a rotatory microwave. Then, they were filtered at low pressure, precipitated by ethanol and filtered with water (Figure 2). Once COs were produced and characterized they were incorporated to the topical cream developed.

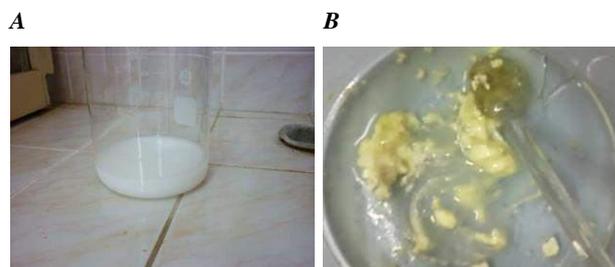


Figure 2. CO preparation. (A) Macroscopic view of the precipitation of COS with ethanol, and (B) water dilution of COS.

3.2. Test creams

First of all, a control cream, water into oil (W/O) emulsion, was developed. The water phase contains distilled water, CO, hyaluronic acid, and a solution of sorbitol, which acts as surfactant. On the other hand, the oil phase is formed by a commercial wax, glycerin, and polyethylene glycol (PEG). Both phases were mixed using a special homogenizer whose maximum velocity is 20,000 rpm.

The initial concentrations of the control cream were readjusted in order to include the rest of the components: Argan and Rosehip seed oils. Then, different modifications were carried out to obtain a similar product to the commercial one, but incorporating CO and oils, which could reinforce the wound-healing effects. Figure 3 shows the differences between the control cream and the first and last modifications performed along the process.

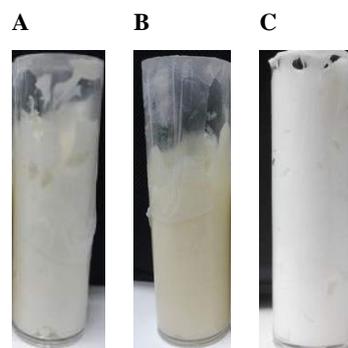


Figure 3. Modifications of test creams performed along the process. (A) Control cream, (B) first modification, (C) final test cream.

Finally, the physicochemical properties of three final formulations, with 3 different concentration of oils, were evaluated.

3.3. In vitro assays

The first step to study the quality and the efficacy of the developed cream was to perform an *in vitro* assay. For that, the action of the active ingredients of the creams was tested, on a fibroblast cell line (SWISS- 3T3: fibroblast, mouse, CCL 92). Experimental cell cultures were performed on 12-well plates.

Firstly, a standardization protocol to establish the correct number of cells was arranged, setting that number in 20,000 cells/cm². After 48 hours of seeding, a scratch was performed in each well, to measure the closing in a mimicked wound. Figure 4 shows the cell culture of fibroblast cell line at day 2 of seeding and the scratch performed on the bottom of the plate.

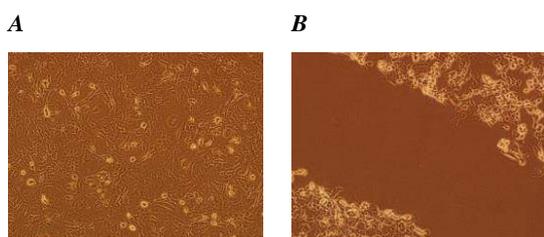


Figure 4. Light microscope photographs (x10) of (A) cell culture taken directly over the cell plate at day 2 of seeding and (B) scratch.

The action of each ingredient tested on the cell growth, was assessed by adding them to the culture medium. All active components were tested with the same concentrations as they appear in the topical cream. Moreover, the components were sterilized by filtering through a sterile 0.22 μ m filter, inside the laminar flow cabinet. Several assays were performed following the same procedure. In these experiments, cell migration and proliferation was assessed at different times (from 2 to 12 hours) in order to evaluate the wound regeneration effect of each ingredient. In Figure 5, it can be seen the differences between the control well, which only contains cells, and the plates with the active ingredients after 12 h of their addition.

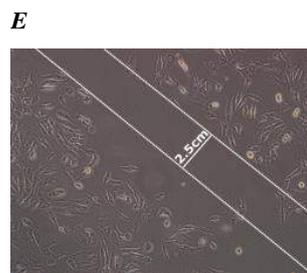
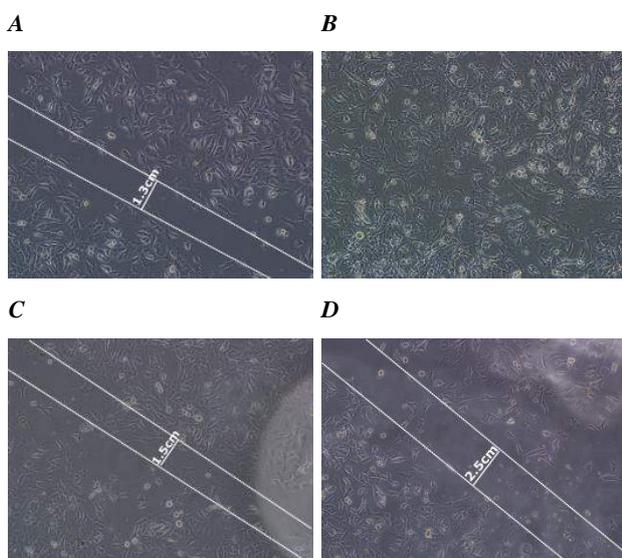


Figure 5. Light microscope photographs (x10) taken directly over the cell culture plate. (A) Control well; (B) hyaluronic acid; (C) Rosehip seed oil; (D) Argan oil; (E) CO.

The results demonstrate that the active ingredients of the cream produce a faster proliferation rate and non-toxic effects in this fibroblast cell line. Hyaluronic acid seems to be the most effective component since it induces a faster migration. CO produce a slower migration but still do not elicit any toxic effect, and cells can migrate to close the wound. Additionally, oils produce a faster migration than CO, but slower than hyaluronic acid, and they do not produce any toxic reaction neither.

3.4. Diffusion studies

Diffusibility gives some quantitative measurements regarding the amount of cream that can be diffused through the skin tissue when a wound has occurred. The procedure was to make a hole in the center of a gel with nutritive Agar medium, and apply the cream. Moreover, a pH indicator was added to the medium, to produce a colorimetry effect. Three different formulations were tested (Figure 6). The yellow halo that appears around the area of the hole indicates the diffusion of the cream through the medium.



Figure 6. Diffusion assay in 35 mm Petri dishes after 1 hour of incorporation of the cream.

3.5. Rheological studies.

The rheological properties of four formulations were tested: two controls, and the formulations with the two highest concentrations of oils.

Three different types of experiments were performed: oscillatory shear experiments, flow measurements and syringeability experiments. In the oscillatory shear experiments, the sample was subjected to an oscillatory stress, and the elastic and viscous modulus were obtained. In flow assays, the viscosity is recorded continuously increasing the shear rate. Finally, the syringeability is the work required for passing the cream through a syringe.

Both the oscillatory and flow assays were performed in a rheometer at two different temperatures: 20°C and 37°C.

Figure 7 shows the result for the experiments performed at 20°C.

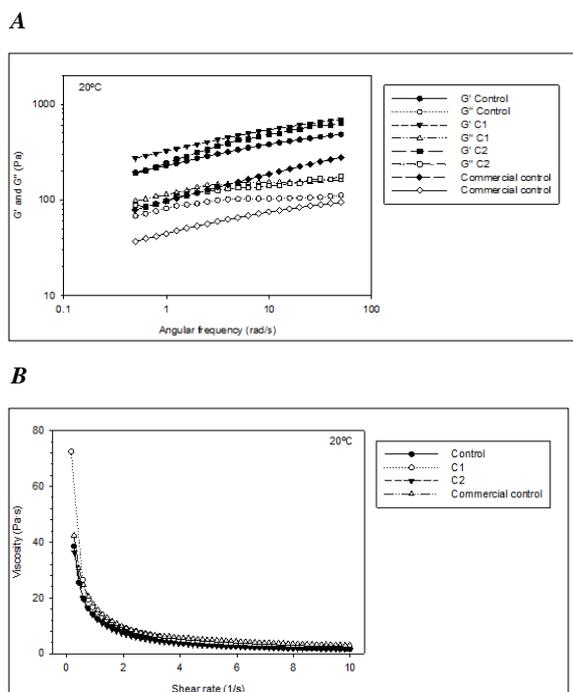


Figure 7. Rheological studies performed at 20°C. (A) Oscillatory shear experiment and (B) flow assay.

It can be observed that G' and G'' are greater for the formulations developed than for the commercial base, which refers to a more highly interconnected network. On the other hand, flow measurements show that the viscosity of the formulations produced is similar to the commercial control and between them.

Regarding syringeability the results show a syringeability of 6.40 (N·s) for the commercial base, while for the developed formulations was: 4.99, 5.60 and 7.19 for the control, and the two formulations with highest concentration of oils, respectively. Therefore, the formulations performed as the commercial base and were easily deliverable through the syringe applying a minor force.

4. Conclusions

CS was characterized and COs were produced and incorporated to a formulation. Three different compositions were obtained changing the concentration of oils. The action of these oils, together with the rest of the active ingredients, was evaluated in *in vitro* experiments, showing a good bioactivity and promoting cell migration towards a wound. Regarding the physicochemical properties, this cream showed a slower diffusion time, due to the presence of more oily components.

Finally, the rheological properties demonstrate an enhancement in the interconnection of the components, obtaining a better emulsion than the commercial base.

These results open a new branch to study wound healing improvement through the use of biologically active natural products and for that reason, it appears as a new alternative for research and therapeutics.

Acknowledgements

This work was supported by Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO) (CONSOLIDER project CSD2009-00088) and Noricum S.L.

References

- [1] Barry, B. W. (1983). Dermatological Formulations: Percutaneous Absorption. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73, p. p.480 (ISSN: 1520-6017) .
- [2] Venus, M., Waterman, J., & McNab, I. (2010). Basic physiology of the skin. *Surgery (Oxford)*, pp. 469 - 472.
- [3] Foroutan, S. M., Ettehadi, H. -A., & Torabi, H. R. (2002, July). Formulation and In vitro evaluation of Silver Sulfadiazine Spray. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, pp. 47 - 49 (ISSN: 2333-9721).
- [4] Sarabahi, S. (2012, May - August). Recent advances in topical wound care. *Indian Journal of Plastic Surgery*, 45, pp. 379 - 387 (ISSN: 1998-376X).
- [5] Lipsky, B., & Hoey, C. (2009). Topical Antimicrobial Therapy for Treating Chronic Wounds. *Clinical Infectious Disease vol. 49*, pp. 1541 - 1549 (ISSN: 1537-6591).
- [6] Fraser, J., Laurent, T., & Laurent, U. (1997, July). Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *Journal of Internal Medicine*, 242, pp. 27-33 (ISSN: 1365-2796).

Diseño e implementación de un sistema de medida del movimiento respiratorio para pacientes de otorrinolaringología

L. De Miguel Larequi¹, B. Barbés Fernández²

¹ Tecnun, U. de Navarra, San Sebastián, Guipúzcoa, España, a903480@alumni.tecnun.es

² Servicio de Radiofísica, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona, España, bbarbes@unav.es

Resumen

Actualmente no existen sistemas buenos para el control de la respiración. En este trabajo se propone un nuevo sistema que suple las desventajas de los actuales y supone un gran avance para el diagnóstico de problemas fonatorios y respiratorios.

Inspirándonos en un sistema de localización de puntos en el espacio a través de imágenes, desarrollado por un grupo de investigación de la Clínica Universidad de Navarra, diseñamos un dispositivo novedoso y totalmente diferente a todos los métodos actuales de análisis de la respiración. Éste consiste en el cálculo de los desplazamientos relativos de los puntos de la superficie de la caja torácica, con el fin de estudiar el ciclo respiratorio de los pacientes. Para ello ha sido necesario realizar la construcción del prototipo, implementar el método de localización de puntos para cuatro cámaras, desarrollar un sistema de búsqueda inteligente de puntos, adaptar el método de calibración del equipo y crear herramientas de análisis de resultados.

Con los resultados del estudio que presentamos, el sistema ha demostrado ser una solución sencilla, precisa y económica para el análisis de la respiración y fonación de pacientes. Por sus dimensiones y facilidad de uso, se puede instalar fácilmente en una consulta médica

1. Introducción

La voz es el producto de la dinámica del tracto vocal, en el que tiene un papel fundamental el sistema respiratorio o elemento efector formado por la caja torácica, los pulmones, la musculatura intercostal, el diafragma, etc. Desde el punto de vista de la fisiología y fisiopatología de los procesos fonatorios, resulta relevante conocer también la cinemática de la pared torácica durante la respiración tranquila y durante la fonación, y su correlación con los volúmenes y flujos respiratorios y fonatorios. Este tipo de valoración se realiza habitualmente de manera visual, con todas las limitaciones de precisión y exactitud y el grado de subjetivismo que conlleva.

Se han desarrollado diversos sistemas que emplean múltiples métodos de medida: ecográfico, eléctrico, magnético... Todos ellos presentan sus inconvenientes por lo que se sigue buscando una solución eficaz que los supla y que sea aplicable de manera rutinaria a la hora de valorar los problemas fonatorios [1]. El que más se ha utilizado es la pletismografía de inductancia [2]: aunque es eficaz para estudios polisomnográficos u otro tipo de monitorizaciones respiratorias, no permite registros lo suficientemente precisos y exactos para valorar los fenómenos fonorespiratorios.

El análisis de los movimientos respiratorios al inicio, durante y al finalizar la fonación y su correlación con el

volumen corriente y de la capacidad vital, son datos muy relevantes. La representación visual de los patrones de la cinemática torácica y respiratoria durante la fonación, la conversación, el canto, etc. pueden aportar datos significativos para el diagnóstico y la orientación terapéutica de los trastornos fonatorios.

Un método que permita la valoración y el análisis de la cinemática respiratoria de manera sencilla, aplicable en una consulta, que no resulte molesto para el paciente, que permita la fonación en todas sus formas y en condiciones fisiológicas y que sea compatible con el registro simultáneo de los parámetros acústicos, aerodinámicos, electroglotográficos y endoscópicos fonatorios supone, sin duda alguna, una gran aportación, para el estudio de la fonación.

En este trabajo se propone el empleo de un sistema de tracking óptico, similar a los empleados para otras aplicaciones médicas [3–5]. Este sistema tiene varias ventajas: es económico, de implementación rápida y flexible, de uso sencillo, fácilmente instalable en una consulta médica. Además, por no emplear ningún aparato con contacto o próximo al paciente, facilita que la respiración de éste sea más natural.

2. Material y métodos

2.1. Materiales

El sistema requiere 4 cámaras de vídeo, una *frame grabber* de 4 entradas de vídeo (Bus PCI express y resolución máxima de PAL: 768x576 at 25 fps), un maniquí de calibración, y un ordenador. Se emplearon cámaras de vídeo vigilancia, de resolución 752 x 582 pixels y tamaño de matriz lectora 0.25". El programa se desarrolló en Matlab (Math Works, v. 2014b). El maniquí de calibración fue construido en madera. Para señalar los puntos de la superficie del paciente, se empleó una camiseta ceñida, con un número de puntos negros impresos sobre su superficie en la zona a analizar: en el presente estudio, 15 puntos en la parte delantera y 15 en la trasera, formando matrices de 5x3 (como en la Figura 1).

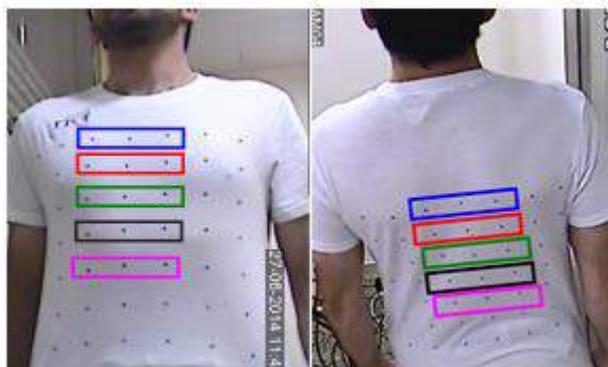


Figura 1. Localización de los puntos que se analizaron.

2.2. Implementación

Se partió de un sistema elaborado por un grupo de investigación de la Clínica Universidad de Navarra para obtener la trayectoria de varios puntos de la superficie de un objeto en movimiento, a través de las imágenes de dos cámaras de vídeo [6]. Las predicciones son fiables con precisión de ± 0.2 mm.

Empleando el algoritmo, se diseñó un sistema para trabajar con cuatro imágenes simultáneas, puesto que para el estudio de la respiración, el nuevo sistema debía estudiar el movimiento de dos zonas del paciente (delantera y trasera), que no podían ser captadas a la vez por un solo par de cámaras.

Para obtener los parámetros de transformación de las coordenadas 2D en las imágenes a las coordenadas 3D en el espacio, el sistema necesita un maniquí con puntos de coordenadas conocidas. Para la presente aplicación, se diseñó y construyó un maniquí que permitiera realizar la calibración de dos caras diferentes con un sistema de coordenadas común. Mediante un método iterativo, se determinó la posición de los puntos de calibración del maniquí con un error < 0.2 mm.

El sistema de localización precisa de los puntos (con error subpixel) en los vídeos, requiere una estimación inicial de la posición de éstos sobre la primera de las imágenes. Tener que proporcionar manualmente al sistema esa aproximación resultaba inviable porque el número de puntos a analizar era elevado. Para realizar este proceso automáticamente hubo que diseñar un algoritmo original que localizara los puntos marcando únicamente los 4 de las esquinas en cada cámara (pueden ser matrices de cualquier tamaño) y estimara las posiciones de los puntos intermedios en función de la deformación que detecta de los cuatro puntos extremos.

Hubo que estudiar también la posición espacial óptima de las cámaras, y construir los soportes. La incertidumbre de posicionamiento de los puntos se minimiza cuando las líneas que unen las cámaras con el punto a medir forman un ángulo de 90° . Para instalar el sistema en dos paredes de una consulta separadas 3 m, las cámaras se situarían enfrentadas dos a dos (sobre unos raíles en la pared). Si el rango de estatura de los paciente es de 1.30 a 1.90 m, las cámaras inferiores se situarían a 0.5 m del suelo y las superiores a 2.10 m de éste (como se muestra en la Figura 2). Se diseñó un sistema que permitiera reubicar

fácilmente las cámaras, para asegurar que todos los puntos del paciente sean visibles en las cámaras.



Figura 2. Montaje experimental del sistema en el laboratorio.

La primera versión del sistema se hizo con una capturadora de vídeo. Ésta introducía retrasos temporales en las grabaciones de las cámaras que eran corregidos por software y exigía exportar los vídeos al ordenador, lo que complicaba la operación. Por este motivo se adaptó el sistema a una *frame grabber*, que no introduce desfases entre las cámaras y permite analizar los vídeos sin necesidad de exportarlos, lo que resulta más rápido y sencillo.

3. Resultados

Se realizaron pruebas con maniquí, para asegurar que las características del sistema eran las esperadas: cálculo de desplazamientos con precisión < 0.3 mm en cada una de las tres direcciones del espacio, detección de movimientos periódicos de amplitud < 0.5 mm, estabilidad en el posicionamiento de un punto fijo durante diez minutos < 0.3 mm. Se constató además que el sistema es capaz de seguir los puntos correctamente en condiciones de luminancia muy diversas: entre 10 y 530 lx.

Se realizó una prueba preliminar con un paciente sano, al que se filmó cuatro veces: 1. realizando respiración de tipo torácico, 2. respirando con movimiento abdominal, 3. realizando respiraciones irregulares, hablando, alzando la voz, y tosiendo; y 4. realizando movimientos del tronco en sentido antero posterior y lateral. El sistema fue siempre capaz de seguir la trayectoria de todos los puntos.

Como ejemplo, se analizaron los movimientos de cinco franjas del tórax de un voluntario (Figura 1). Se calculó la distancia de cada punto delantero a su correspondiente en la parte trasera y se realizó la media de las distancias por filas. De esta forma se corrigen errores de cálculo por el desplazamiento de la camiseta a la derecha y a la izquierda. En la Figura 3 se representan esas diferencias, respirando el voluntario primero en modo torácico y segundo en modo abdominal.

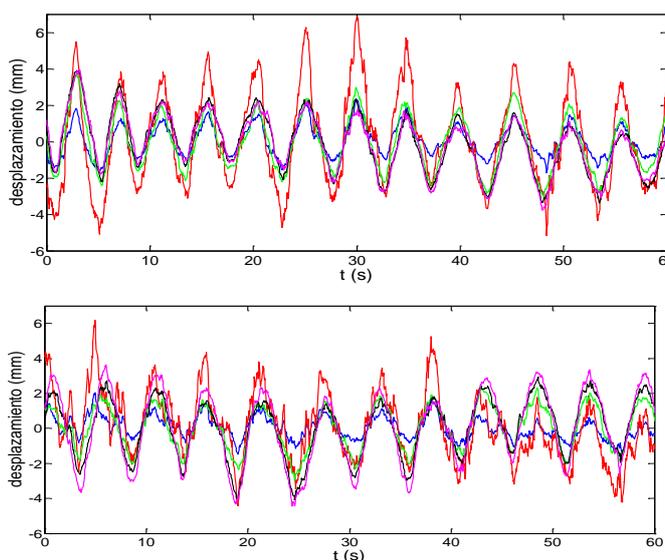


Figura 3. Desplazamientos de los puntos marcados en la Figura 1, para los casos de respiración torácica (arriba) y abdominal (abajo). Los colores corresponden a los de los recuadros de la Figura.1.

Estos resultados podían variar notablemente en función de la orientación de la camiseta. Por este motivo, se creó un sistema de análisis que consiste en calcular la distancia de los puntos de la parte delantera a un plano trasero común. Calculamos ese plano por mínimos cuadrados, haciendo uso de una función de Matlab de código abierto [7] y luego promediamos las distancias al plano por filas.

En la Figura 4 podemos observar el plano trasero y los puntos de la parte delantera de la camiseta para un instante de tiempo, en este caso una matriz de 5x3 puntos.

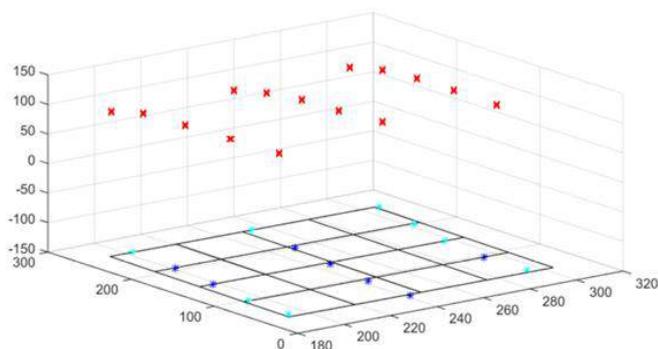


Figura 4. Plano trasero definido por mínimos cuadrados y matriz de puntos de la parte delantera.

Finalmente obtenemos el siguiente gráfico (Figura 5) donde se grafican las distancias de los puntos delanteros agrupados por filas al plano trasero, en rojo se representa la respiración abdominal y en azul la torácica. Para obtener una visión global del proceso respiratorio o fonatorio se puede generar un vídeo con todos los fotogramas para ver la evolución en el tiempo.

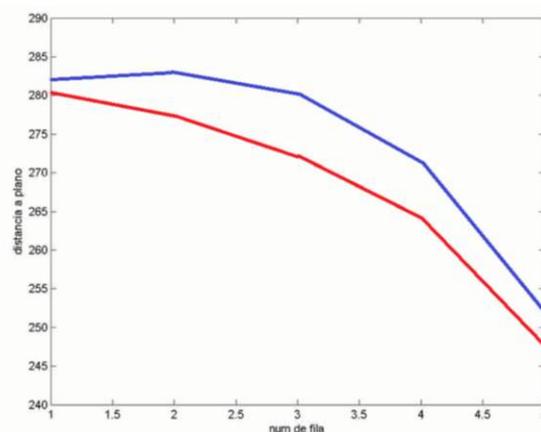


Figura 5. Distancias puntos delanteros a plano trasero para un instante de tiempo.

Por otra parte, el algoritmo de posicionamiento alcanza siempre dos soluciones redundantes, y una diferencia significativa entre ellas alerta de la presencia de algún error en el sistema, que habitualmente se corrige con una nueva calibración. Esta característica añade seguridad a la medida.

4. Conclusión

En este trabajo se ha adecuado un algoritmo de seguimiento de puntos, ampliándolo para que se pueda emplear para localizar puntos en superficies opuestas. Se ha comprobado que el sistema experimental tiene la precisión geométrica que se esperaba, y detecta con exactitud movimientos en el rango de unos centímetros.

Por otra parte, se ha desarrollado un algoritmo de localización de una matriz de puntos sobre una superficie deformada que funciona correctamente en un conjunto de casos.

En resumen, se ha construido un prototipo para analizar la respiración, del que se puede extraer mucha información diferente para estudios de fonación y del ciclo respiratorio.

El sistema tiene las ventajas que se esperaban debido a que supone un método: cómodo para el paciente, solo es necesario colocarse una camiseta; no restringe ningún tipo de movimiento y permite la respiración natural; no es invasivo; es flexible ya que analiza un número variable de puntos en función del estudio que se desee; aporta información muy precisa, el error en el cálculo de distancias es <0.3 mm y por último, es económico ya que su coste es inferior a 1.000 €.

Finalmente, este sistema ha de ser instalado en una consulta para realizar un estudio exhaustivo con voluntarios, antes de emplearlo en la práctica clínica.

Referencias

[1] Llisterri, J., Aguilar, L., Garrido, J. M., Machuca, M. J., Marín, R., De la Mota, C., & Ríos, A. (1999). Fonética y tecnologías del habla. Filología e Informática. Nuevas tecnologías en los estudios filológicos, 449-479.

- [2] A. B. DuBois, S. Y. Botelho and J. H. Comroe Jr. “A new method for measuring airway resistance in man using a body plethysmograph: values in normal subjects and in patients with respiratory disease”. *J Clin Invest*, 1956, 35(3); 327.
- [3] F.J. Bova, J.M. Buatti, W.A. Friedman, W.M. Mendenhall, C.C. Yang, C. Liu. “The University of Florida frameless high-precision stereotactic radiotherapy system”. *Int J Radiat Oncol*, 1997, 38(4), 875–882.
- [4] J. Schaller, J. Penne and J. Hornegger. “Time-of-flight sensor for respiratory motion gating”. *Med. Phys.* 2008, 35(7): 3090–3093.
- [5] J. L. Peng, D. Kahler, J. G. Li, S. Samant, G. Yan, R. Amdur, and C. Liu. “Characterization of a real-time surface image-guided stereotactic positioning system”. *Med Phys*, 2010, 37(10): 5421–5433.
- [6] Barbés B; Azcona JD; Prieto E; Foronda JM; García M; Burguete J. 2015. Development and clinical evaluation of a simple optical method to detect and measure patient external motion, *J Appl Clin Med Phys*, Vol. 16, No. 5, 2015
- [7] Página web de Matlab Central. <http://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/12395-orthogonal-linearregression-in-3d-space-by-using-principal-components-analysis> (Consultada: Abril 2015).

Diseño e implementación de un sistema automatizado para la detección de endotoxinas *in situ*

M. Arrúe Gabaráin*, L.V. Valcárcel García*, L. Lorenzo Conde*, P.G. Salaverria Izaguirre, A. Toledo Silva, M. Mujika Garmendia, S. Arana Alonso

Microelectronics and Microsystems Department, CEIT and Tecnun (University of Navarra), Manuel de Lardizabal 15, 20018 San Sebastian, Spain, www.tecnun.es

Resumen

Los pirógenos son moléculas presentes en la mayoría de las bacterias que pueden producir fiebres en pequeñas cantidades o fallos multiorgánicos si están en mayores cantidades. Dada su prevalencia y virulencia, las endotoxinas son el pirógeno más importante. Por estas razones sus consecuencias en la fisionomía humana, se ha convertido en un problema no sólo sanitario, sino industrial y comercial, la detección de dichas endotoxinas.

Gracias a la implementación de biosensores especializados para su detección, es posible detectar las endotoxinas en un proceso eficaz, rápido, barato, fiable y con capacidad de ser replicado, en contraposición al test LAL, que es el único disponible actualmente en el mercado y que necesita de usar miles de cangrejos herradura para extraer sus sangre. De desarrollarse una plataforma que automatice el proceso de funcionalización de los chips, es posible comercializar dichos biosensores para que se realicen análisis en los propios laboratorios de las empresas, revolucionando un mercado cerrado y obsoleto y permitiendo a las empresas ahorrar millones de dólares y miles de horas de trabajo.

1. Introducción

Los pirógenos son moléculas presentes en la mayoría de las bacterias y que actúan, en cantidades mínimas (fentogramos), como toxinas inductoras de fiebre o, en cantidades mayores (microgramos), desencadenando choques sépticos que pueden desembocar en un fallo multiorgánico y la muerte. Ello es debido a la exquisita sensibilidad de los receptores del sistema inmunológico innato, que se encargan de disparar la alarma ante estas moléculas: reacciona frente a las infecciones desencadenando en primer lugar una respuesta inflamatoria que implica muchos mediadores celulares y plasmáticos y se manifiesta en signos clínicos como la fiebre, taquicardia, aumento en la tasa respiratoria y otros síntomas sistémicos. Todos los síntomas descritos se pueden inducir en pocas horas tras la inyección intraperitoneal o intravenosa de una cantidad suficiente de endotoxina. Por ello, es necesario asegurar que los fármacos y muchos otros productos empleados en sanidad humana o animal no superan una determinada concentración de pirógenos. En general para productos administrados por vía parenteral, el límite está en 5 EU/kg (1 EU= endotoxin unit, equivalente a 100 pg de endotoxina) por hora y de 0,2 EU/kg por hora para productos administrados por vía intraespinal. Debido a su prevalencia y toxicidad, el pirógeno más importante es el

lipopolisacárido (LPS, endotoxina) de las bacterias gram-negativas.

Por las razones descritas, agencias como la FDA (Food and Drug Administration) y EMEA (Agencia europea del medicamento) son extraordinariamente exigentes con las empresas a la hora de garantizar que los medicamentos están libres de endotoxinas. Este aspecto regulatorio favorece la aparición de nuevos métodos que mejoren los métodos actuales de detección de endotoxinas.

1.1. Estado del arte

Actualmente, a nivel global sólo existe un método para la detección de endotoxinas: el test LAL[2, 3]. Los principales proveedores ofrecen kits que no son más que pequeñas modificaciones de este método.

En la década de los cincuenta y los sesenta, investigadores americanos descubrieron que las endotoxinas producen una coagulación de la hemolinfa del cangrejo herradura americano (*Limulus polyphemus*) [2, 3]. Más tarde se descubrió que la coagulación es parte de una respuesta enzimática en cadena en los amebocitos, presentes en la hemolinfa azul de los cangrejos herraduras. Por lo tanto, el reactivo LAL base de la inmensa mayoría de los tipos de análisis de pirógenos realizados en la actualidad es un extracto acuoso de los amebocitos, compuesto por una cascada de enzimas serino proteasas tipo tripsina capaz de reaccionar frente a pequeñas cantidades de endotoxinas.



Figura 1. Izquierda: Extracción de compuestos para la realización del test LAL. Derecha: *Limulus polyphemus*

Prácticamente la totalidad de los métodos actuales basan su funcionamiento en los fluidos extraídos al cangrejo. El principal problema de esta metodología es que la respuesta enzimática en cascada es a la vez la principal fuente de problemas de estabilidad del proceso.

La propuesta que se realiza pasa del empleo de la reacción en cascada enzimática basada en el LAL a emplear unos biosensores que mediante un protocolo diseñado a tal efecto es capaz de identificar de manera selectiva y sensible las sustancias pirógenas en productos inyectables. La combinación de los biosensores y el protocolo de captura con un equipo que automatice los procesos de preparativa de muestras supondrán una clara alternativa y un salto cualitativo en la forma de realizar los test descritos en el futuro.

Desventajas LAL	Ventajas del empleo de los biosensores
Laborioso y largo de realizar	Sencillo de realizar en poco tiempo
No permite monitorización en tiempo real	Adaptable a flujo continuo y/o conexión a línea de producción, lo que permitiría la monitorización en tiempo real
Variaciones lote a lote	La mayor simplicidad del proceso de detección debería reducir la variabilidad
No portátil	Apto para su empleo en sistemas portátiles
Cuantificación relativa	Las moléculas de captura empleadas se unen con afinidad similar a distintos LPSs
Interferencias	Su naturaleza cíclica y su pequeño peso molecular hacen de los compuestos de captura unas moléculas estables en condiciones fisicoquímicas variadas. Se espera que la unión polimixina-LPS o péptido-LPS no se vea afectada por determinados compuestos que interfieren con los componentes de la cascada del test LAL. Aunque se requiere más experimentación, el sensor se podría emplear para determinar endotoxina en sangre pues se ha descrito que la PMB mantiene su actividad en suero [Cooperstock, 1974].
Elevado precio	Más económico en su fase de producción en serie

Tabla 1. Tabla comparativa del método de detección LAL y el propuesto en esta memoria

El nuevo método propuesto mejora numerosos aspectos, tal y como se recoge en la Tabla 1. A continuación se describen los aspectos principales de la propuesta alternativa.

En primer lugar la detección no se realiza en placas de pocillos (o similares) mediante técnicas colorimétricas sino que se emplean sensores basados en película delgada para la realización de medidas electroquímicas [Su, 2011]. Dichos sensores se han fabricado mediante técnicas de microelectrónica y presentan una configuración geométrica en la que se integran los tres electrodos necesarios para la medida: electrodo de trabajo de oro, contraelectrodo de platino y electrodo de pseudo-referencia plata. La inmovilización del ligando y, por tanto, los eventos de detección de endotoxina tienen lugar únicamente sobre el electrodo de trabajo.

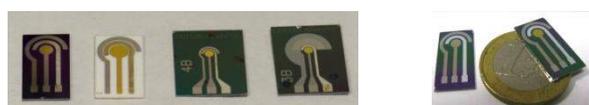


Figura 2. Familia de biosensores trielectrodo fabricados siguiendo procesos de fabricación estándar en microelectrónica.

La segunda diferencia radica en la preparación de las superficies donde tendrá lugar la reacción biológica. En el caso del test LAL esta fase pasa por una serie de etapas de calentamiento y pipeteo fuertemente dependientes tanto de la estabilidad de la temperatura como de la velocidad de suministro de reactivos. La inmovilización propuesta no requiere de etapas de calentamiento de reactivos ya que tiene lugar enteramente a temperatura ambiente y tampoco le influye la velocidad de pipeteo [1]. Consta de una etapa de pulido electroquímico superficial del electrodo de trabajo, seguido de una funcionalización química previa a la inmovilización del ligando, que será la molécula que posibilitará la detección específica de las endotoxinas. De esta manera, la detección no requiere de ninguna reacción enzimática en cascada sino que se lleva a cabo a través de uniones biológicas entre moléculas con una elevada afinidad entre sí, lo que confiere estabilidad y especificidad a la medida.

2. Métodos y materiales

Para el desarrollo de un prototipo de automatización del proceso, es necesario implementar el protocolo de funcionalización del sensor desarrollado en el CEIT [4]. Dicho protocolo es explicado brevemente en la Figura 3, aunque gran parte de los reactivos y tiempos no se pueden especificar al ser un protocolo pendiente de patente.

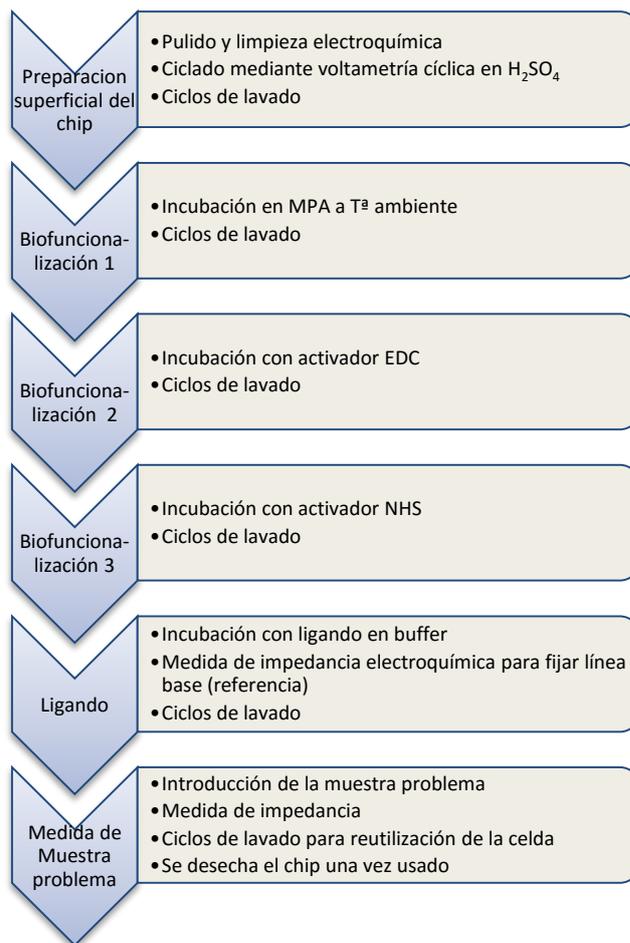


Figura 3. Diagrama de flujo de los pasos que hay que seguir para la realización de la medida de endotoxinas con el método propuesto en [4]

Como se puede ver en la Figura 3, es necesario realizar varios periodos de incubación y ciclos de limpieza, siendo necesario un dispositivo que automatice este proceso.

Para la creación de un sistema automatizado para la detección de endotoxinas *in situ*, hemos dividido el trabajo a realizar en cuatro secciones:

- Interfaz con el usuario.
- Circuito de microfluídica y selección de componentes del mercado.
- Etapa de potencia para alimentar el sistema.
- Diseño de unas celdas reutilizables y fáciles de usar.

2.1. Interfaz

Para la interfaz se ha decidido usar un Arduino Mega, que presenta las siguientes características.

Microcontroller	ATmega1280
Operating Voltage	5V
Input Voltage (nominal)	7-12V
Digital I/O Pins	54 (of which 15 provide PWM output)
Analog Input Pins	16
Clock Speed	16 MHz

Tabla 2. Características del Arduino Mega

Como se puede ver en la Tabla 2, el Arduino Mega presenta suficiente capacidad de cálculo para controlar todo el circuito de microfluídica. Además hemos decidido usar una interfaz táctil con el usuario: la pantalla μ LCD-43PT de 4D SYSTEMS, una pantalla de 4.3" TFT táctil resistiva.

2.2. Circuito microfluídico

Dentro de esta fase de desarrollo tenemos que calcular realizar un diseño conceptual de los depósitos de reactivos, de desechos y circuitos de alimentación de las celdas.

Para el cálculo de tiempo necesario para cada bomba, hemos calculado el tiempo midiendo el caudal desplazado por la bomba de cada reactivo en un determinado periodo de tiempo, determinando así la velocidad de avance por los microtubos y el tiempo de llenado de las celdas conociendo la longitud total de circuito. Para la determinación de tiempos hemos usado la configuración experimental mostrada en la Figura 4.

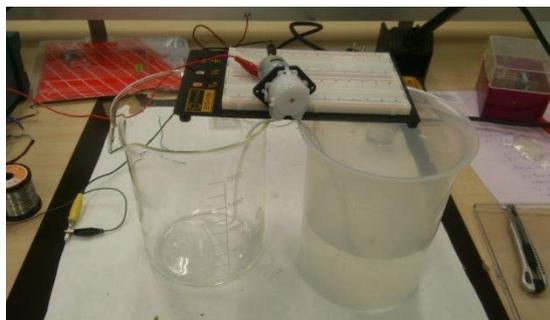


Figura 4. Configuración para calcular tiempos de funcionamiento de las bombas

Además hemos implementado un sistema para medir el nivel de depósitos de los reactivos, de forma que el procesador pueda impedir el comienzo del protocolo si no dispone de suficientes reactivos para completar la medida. El principio de este sistema está representado en la Figura 5, donde la activación del LED está activado siempre y cuando ambos electrodos estén en contacto con el líquido. Si el líquido baja de cierto nivel el LED se apaga. En nuestro caso al interfaz dará un mensaje de alerta e impedirá el comienzo del protocolo.

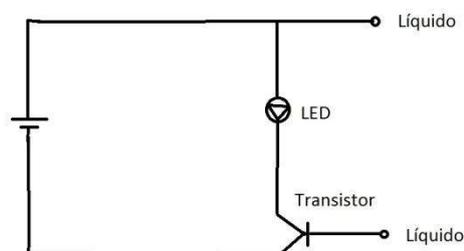


Figura 5. Diseño de un sensor de llenado

2.3. Celdas

Las celdas tienen que tener las siguientes características:

- Fáciles de manejar, que permitan sustituir los chips sin interferir en la disposición electrónica
- Resistentes a los líquidos que se van a usar, es decir, que aguanten desde ácidos a bases, pasando por sustancias orgánicas.
- Volumen de incubación de 40 μ l, siendo hermético y lo más cercano al vacío posible para evitar fugas.
- Diseño que permita que varias cámaras se puedan abrir y cerrar de manera independiente.

El prototipo actual es de metacrilato con unos cierres magnéticos, pero estamos trabajando en la búsqueda de materiales alternativos y diseños que ofrezcan las características mencionadas anteriormente.

3. Resultados

En este apartado vamos a explicar los resultados obtenidos hasta el momento, siendo necesario un ensamblaje final para poder empezar con pruebas experimentales de medidas reales.

3.1. Interfaz

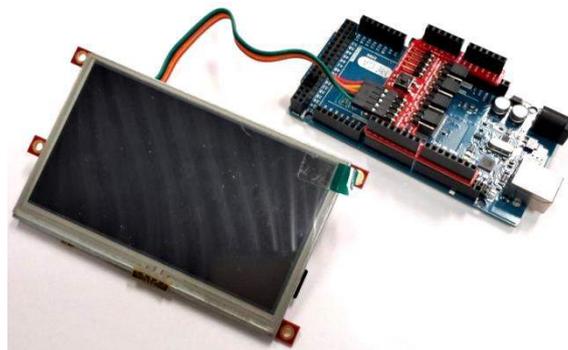


Figura 6. Arduino Mega con 4D-SYSTEMS μ LCD-43PT

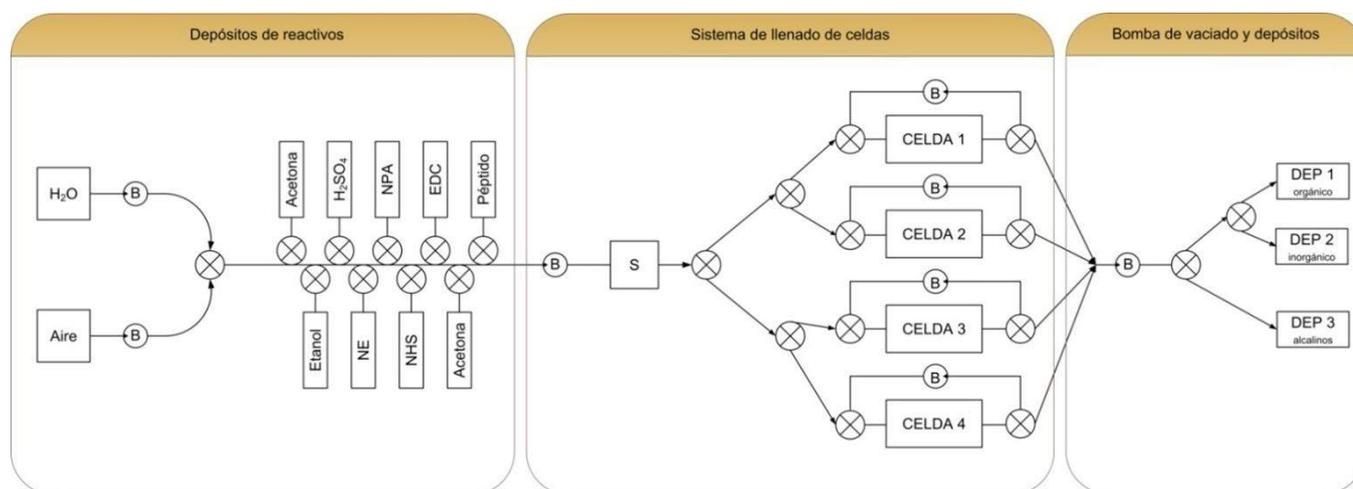


Figura 7. Diagrama conceptual del circuito de microfluídica

Usando el Arduino Mega con la pantalla 4D-SYSTEMS μ LCD-43PT hemos desarrollado una interfaz táctil que le informa al usuario de los distintos pasos que tiene que realizar y sirve para controlar todo el dispositivo. A la vez le permite visualizar el progreso de cada incubación y le ofrece distintas opciones como paradas de emergencia. A su vez la interfaz va a ofrecer las medidas obtenidas en las celdas.

3.2. Circuito microfluídico

En la Figura 7 podemos distinguir los cuatro módulos principales que se han implementado para la distribución de reactivos. Para realizar los circuitos hemos decidido usar electroválvulas de 2x1 (2 salidas x 1 entrada), comprando siempre el mismo modelo con el fin de rebajar costes de fabricación.

Componente	Compañía	Modelo
Bombas	Kamoer Fluid Tech (shanghai) Co.	KPP-S01DH KPP-S04DH

Tabla 3. Componentes escogidos para el proyecto

3.3. Celdas

El diseño actual de las celdas está pendiente de patente, por lo que no nos es posible publicar esta parte de los resultados.

4. Conclusiones y líneas futuras

Como hemos visto en la parte de resultados, a pesar del trabajo realizado por el club Tecnun BioSpeech aún es necesario terminar de montar y ajustar todos los módulos por separado, con el fin de juntarlos en un solo prototipo. En un plazo de 6 meses planeamos tener un prototipo funcional para poder empezar a realizar medidas experimentales.

Dicho esto, hay varios aspectos que queremos mejorar para presentar el prototipo final:

- Implementar un detector de fugas a lo largo del circuito de microfluídica, para poder parar el proceso en caso de que algún reactivo fugue. Esto es de gran importancia dada la toxicidad de algunos de los activadores usados en el protocolo de activación, con el fin de cumplir las normativas de sanidad.
- Desarrollar un sistema para refrigerar los reactivos, con el fin de poder almacenar los reactivos en la máquina durante varios días sin deterioro de sus propiedades.
- Implementar un sensor de llenado que no necesiten unos electrodos sumergidos en el líquido.

Agradecimientos

Quisiéramos agradecer a TECNUN y al CEIT la oportunidad emprender el club BioSpeech, pudiendo llevara a cabo este proyecto en colaboración con varias empresas.

Por último agradecer a los anteriores comités organizadores del CASEIB por brindarnos a los estudiantes la oportunidad de participar en la conferencia.

Referencias

- [1] Ansorena, P. 2012. : *Desarrollo, optimización e implementación de un protocolo biológico de reconocimiento del Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF α) mediante técnicas de resonancia plasmónica superficial*. TECNUN, Universidad de Navarra.
- [2] Bang, F. 1956. A bacterial disease of *Limulus polyphemus*. *Bulletin of the Johns Hopkins Hospital*. 98, 5 (1956), 325–351.
- [3] Mujika, M. et al. 2014. Screening and selection of synthetic peptides for a novel and optimized endotoxin detection method. *Journal of biotechnology*. 186, (2014), 162–168.
- [4] Zuzuarregui, A. 2013. *Desarrollo de un sistema de detección de endotoxinas basado en la optimización e implementación de un protocolo de biofuncionalización sobre un biosensor electroquímico de diseño específico*. TECNUN, Universidad de Navarra.

Medidas Lineales y No Lineales para la Detección de Somnolencia Diurna a partir de la Variabilidad del Ritmo Cardíaco

A. Palomar^{1,2,3}, R. Caro^{1,2,3}, U. Melia^{1,2,3}, M. Guaita⁴, P. Caminal^{1,2,3}, I. Vilaseca⁴, J.M. Montserrat⁴, C. Gaig⁴, M. Salamero⁴, J. Santamaría⁴, M. Vallverdu^{1,2,3}

¹Depto. ESAII, Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Industrial de Barcelona (EUETIB-UPC)

²Centre for Biomedical Engineering Research (CREB-UPC)

³CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Barcelona, España.

⁴Unidad Multidisciplinaria de Desordenes del Sueño, Hospital Clínico, Barcelona, España.

Resumen

La somnolencia diurna excesiva (EDS) es un trastorno que puede ser indicativo de varias formas de afectación de la salud de las personas, y que puede llegar a tener un impacto negativo muy importante en sus vidas diarias. El objetivo de este estudio es analizar la actividad del sistema nervioso autónomo a través de la variabilidad del ritmo cardíaco (VRC) mediante métodos de la dinámica lineal y no lineal. Aunque se han propuesto diversos métodos para analizar este trastorno, aún se encuentran dificultades en el proceso de diagnóstico para discriminar entre un grupo de sujetos con somnolencia diurna (EDS) y, otro, de sujetos sin somnolencia (WDS). En el presente estudio, se realiza el análisis de una base de datos, resultante del registro del electrocardiograma (ECG) de un grupo de 20 sujetos con Síndrome de Apneas e Hipoapneas del Sueño (SAHS), 10 de ellos con somnolencia y, el resto, sin, a lo largo de 5 pruebas MSLT (Multiple Sleep Latency Test) y 5 pruebas MWT (Maintenance of Wakefulness Test).

1. Introducción

El Síndrome de Apneas e Hipoapneas del Sueño (SAHS) es un trastorno común [1], cuyo síntoma más importante es la somnolencia diurna excesiva (EDS), que se ha relacionado con un aumento de los accidentes de conducción, la morbilidad psicosocial y la mala calidad de vida [2-4]. En la práctica clínica, la prueba de latencia múltiple del sueño (MSLT) [5] y la prueba de mantenimiento de la vigilia (MWT) [6], son aceptadas como pruebas estándar de referencia para evaluar objetivamente la EDS, basadas principalmente en el análisis clínico del electroencefalograma (EEG). Sin embargo, éste requiere un técnico especializado en registros EEG, lo que conlleva que el uso de señales como las electrocardiográficas (ECG) resulte prometedor por su simplicidad y por la información implícita de la actividad del sistema nervioso autónomo (SNA), monitorizada mediante la variabilidad del ritmo cardíaco (VRC) [7].

Es sabido que los métodos no lineales permiten describir las fluctuaciones no lineales de la VRC e informar acerca de su regularidad [8]. Por este motivo, en el presente estudio se han aplicado tanto métodos lineales como no

lineales para cuantificar la VRC y detectar pacientes SAHS con y sin EDS.

2. Metodología

2.1. Base de datos analizada

La base de datos pertenece a la Unidad Multidisciplinaria de Desórdenes del Sueño del Hospital Clínico de Barcelona. Ésta incluye registros ECG de 20 pacientes, 15 hombres y 5 mujeres, que sufren SAHS, 10 de ellos con EDS y, el resto WDS, siendo la edad media de cada grupo (52,7±9,9) y (60,8±5,9) años, respectivamente.

Los ECG fueron registrados durante 5 pruebas de MWT y 5 pruebas de MSLT, alternadas a lo largo del día, iniciándose unas dos horas después de que los sujetos se despertaran por la mañana.

Por un lado, en el test MSLT, se mide lo propenso que es el sujeto a quedarse dormido en una situación cómoda, tumbado en una cama en una habitación oscura y tranquila, con el permiso de poder quedarse dormido. Por otro lado, en el test MWT, lo que se mide es la resistencia del sujeto a dormirse, estando sentado con una inclinación de 45°, bajo la instrucción explícita de mantenerse despierto tanto tiempo como le sea posible.

En este experimento, para diferenciar el grupo EDS y el grupo WDS, los tiempos medidos en las pruebas deben cumplir: MWT<20 min y MSLT<8 min, y, MWT>20 min y MSLT>8 min, respectivamente. Además, sujetos con latencias del sueño menores a 2 minutos o señales ECG con artefactos se excluyeron del análisis.

Este estudio fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Clínico de Barcelona (CEIC) y obtuvo el consentimiento por escrito de todos los participantes.

2.2. Preprocesado de la señal

Las series RR, intervalos entre latidos consecutivos, fueron obtenidas de señales ECG registradas con una frecuencia de muestreo de 256 Hz. Después de eliminarse los artefactos y latidos ectópicos, las series RR fueron remuestreadas a {1, 2, 4} Hz. Las series RR fueron

filtradas, si su valor muestra a muestra difería más de un 15% de la media de los valores de las cinco muestras anteriores. Ese valor es remplazado por el valor medio.

El análisis se realiza en el fragmento de señal que incluye el periodo de tiempo comprendido entre el inicio y el final de cada test.

2.3. Análisis en el dominio del tiempo y la frecuencia

Las medidas en el dominio del tiempo seleccionadas para el análisis de las series RR han sido la desviación estándar de los intervalos NN (SDNN), la media de los intervalos RR (MeanNN) y la raíz cuadrada de la media de las diferencias cuadráticas entre intervalos NN consecutivos (RMSSD).

El análisis en el dominio de la frecuencia permite evaluar los patrones que presenta la modulación del sistema nervioso autónomo [9]. Concretamente, se analiza la densidad espectral de potencia en tres bandas principales de frecuencia [7]: Banda de muy baja frecuencia (VLF), <0,04 Hz; Banda de baja frecuencia (LF), ≥0,04 Hz y <0,15 Hz; Banda de alta frecuencia (HF), ≥0,15 Hz y <0,4 Hz. Se aplicó una ventana Blackman-Harris de 4º orden a lo largo de la señal cada 5 minutos. Además, siguiendo las recomendaciones de [7], se consideraron: el ratio LF/HF; LF normalizada (LFn = LF/(PotenciaTotal-VLF)); HF normalizada (HF_n = HF/PotenciaTotal-VLF); VLF normalizada (VLF_n = VLF/PotenciaTotal).

2.4. Dinámica no lineal: Análisis de fluctuaciones sin tendencias

Se emplea el algoritmo de análisis de fluctuaciones sin tendencias (DFA) que consta de las siguientes fases [10]:

- Se realiza la suma acumulada de la diferencia entre la serie RR y su media aritmética (1).

$$y(k) = \sum_{i=1}^k (x(i) - \bar{x}) \quad k = 1, \dots, N \quad (1)$$

donde *N*, representa el tamaño de *x(k)*

- La señal integrada resultante se divide en ventanas de tamaño variable *n*, sin superposición. Se determina la tendencia lineal local para cada uno de los fragmentos mediante la regresión lineal, *y_n(k)*.
- Se calcula la media cuadrática de la serie lineal sin tendencia (2).

$$F(n) = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N (y(k) - y_n(k))^2} \quad (2)$$

- Finalmente, se representa *F_n* en función de *n*, utilizando escala logarítmica (3).

$$\log[F_n] \text{ vs. } \log[n] \quad (3)$$

Cuando los datos analizados presentan dependencia a largo alcance, se cumple la expresión *F(n) ~ n^α*, donde *α* es el exponente de escala que aporta la información sobre las características de la correlación de la señal estudiada.

En el análisis de las series RR, la DFA presenta dos rangos de invariancia de escala de esta serie, que pueden cuantificarse mediante dos exponentes de escala

diferentes, *α1* y *α2*, indicando las correlaciones a escalas cortas y largas, respectivamente. Siendo *n* el tamaño de cada ventana, *α1* se calcula para el rango *n=4-16*, y, *α2*, para el rango *n=16-64* [8].

2.5. Análisis estadístico

Los niveles de significancia de los índices obtenidos, tanto en el análisis de la dinámica lineal como no lineal, se realiza mediante la prueba de Mann-Whitney, al comparar el grupo EDS vs. WDS. Además, se analiza MSLT vs. MWT en cada grupo de sujetos mediante la prueba de Wilcoxon, por tratarse de muestras relacionadas. De esta manera se pretende distinguir diferencias debidas a la posición corporal.

Finalmente, para aquellos índices con mejor nivel de significancia estadística (*p-valor*<0,05) se construye una función lineal discriminante entre los grupos analizados, EDS vs. WDS. El método de validación utilizado es el leave-one-out cross-validation, conjuntamente con los indicadores estadísticos de sensibilidad (*Sen*), especificidad (*Esp*) y el área bajo la curva *AUC* de ROC (Receiver Operating Characteristic).

3. Resultados

Para seleccionar la frecuencia de muestreo más adecuada a utilizar, se analizan diferentes umbrales de la *AUC* obtenidos al clasificar los sujetos en los grupos *EDS* vs. *WDS* según los diferentes índices de la dinámica lineal y no lineal.

AUC	Número de índices		
≥ Umbral	fs=1 Hz	fs=2 Hz	fs=4 Hz
Umbral			
0,6	11	19	16
0,65	8	13	12
0,7	4	7	6
0,75	2	2	2

Tabla 1. Número de índices de los métodos lineales y no lineales con *AUC* ≥ *Umbral*.

Tal como se observa en la Tabla 1, con una frecuencia de muestreo de 2 Hz se obtienen más medidas con *AUC* ≥ 0,6, por lo que se trata de la frecuencia que proporciona un mayor número de índices para discriminar entre EDS y WDS en, como mínimo, el 60% de los casos.

En la Figura 1 se presentan las tendencias de los índices temporales al comparar EDS y WDS. Se observa que el índice con mayor valor discriminante es *MeanNN*, obteniendo una mejor clasificación EDS vs. WDS (*p-valor*=0,002, *Sen*=60%, *Esp*=64% y *AUC*=0,682). Se observa que los índices temporales presentan valores más elevados en los sujetos con somnolencia. Tendencia que también se observaba en [11], donde se concluía que valores más elevados en los índices *SDNN* y *RMSSD* reflejaban un incremento de la VRC en pacientes con desórdenes respiratorios.

La Figura 2 presenta la evolución de los índices espectrales *LF_n* y *HF_n*, además del ratio *LF/HF* y *VLF*.

En la medida LFn , representada en la Figura 2a, se observa un ligero aumento a medida que se van realizando las distintas pruebas. En este caso, MSLT2 y MSLT4 son las pruebas que permiten discriminar los sujetos con somnolencia diurna de los que no padecen dicho trastorno.

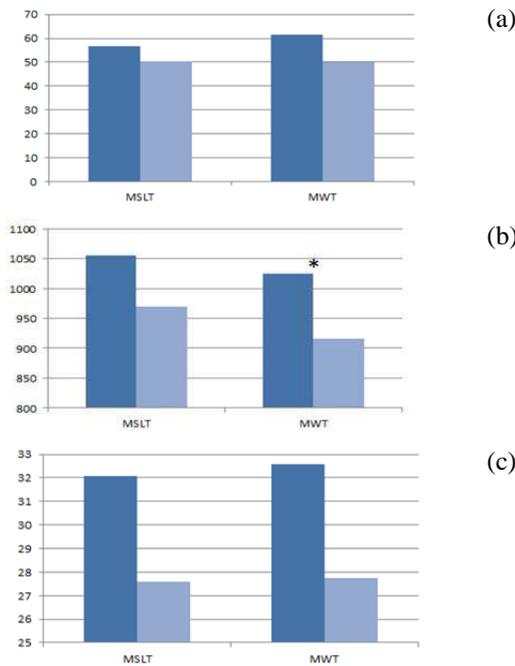


Figura 1. Análisis EDS (azul oscuro) vs. WDS (azul claro) en el dominio temporal: (a) SDNN (ms); (b) MeanNN (ms); (c) RMSSD (ms); * p -valor $<0,05$, Sen $\geq 60\%$, Esp $\geq 60\%$ y AUC $\geq 0,60$.

La potencia en la banda de alta frecuencia (HF_n) representada en la Figura 2b, resulta ser la que proporciona una mejor clasificación EDS vs. WDS, ya que muestra diferencias estadísticamente significativas en 8 de los 10 test realizados. Concretamente, los sujetos con somnolencia tienden a presentar valores más elevados, como se describió en [12], donde se relacionaba el estado de alerta con una menor actividad del sistema vagal.

En cuanto al ratio LF/HF representado en la Figura 2c se observa un aumento de su valor a lo largo de ambos test. El valor de este ratio tiende a ser superior en el grupo de sujetos WDS. Además, para tres de las pruebas MSLT, esta medida permite discriminar correctamente EDS vs. WDS, con un mejor resultado en MSLT1 (p -valor $<0,0005$, Sen=70%, Esp=70% y AUC=0,70). El grupo WDS presenta valores mayores en las pruebas MWT que en las pruebas MSLT, como se observaba también en LFn .

En la Figura 2d se observa que VLF presenta valores más elevados en el grupo de sujetos WDS, para todas las pruebas realizadas tanto en MWT como en MSLT, a excepción de la prueba MWT1. Además, esta medida permite discriminar entre EDS y WDS en las pruebas MWT2 y MWT4, siendo ésta última la de mayor poder discriminatorio (p -valor $<0,005$, Sen=70%, Esp=70% y AUC=0,79).

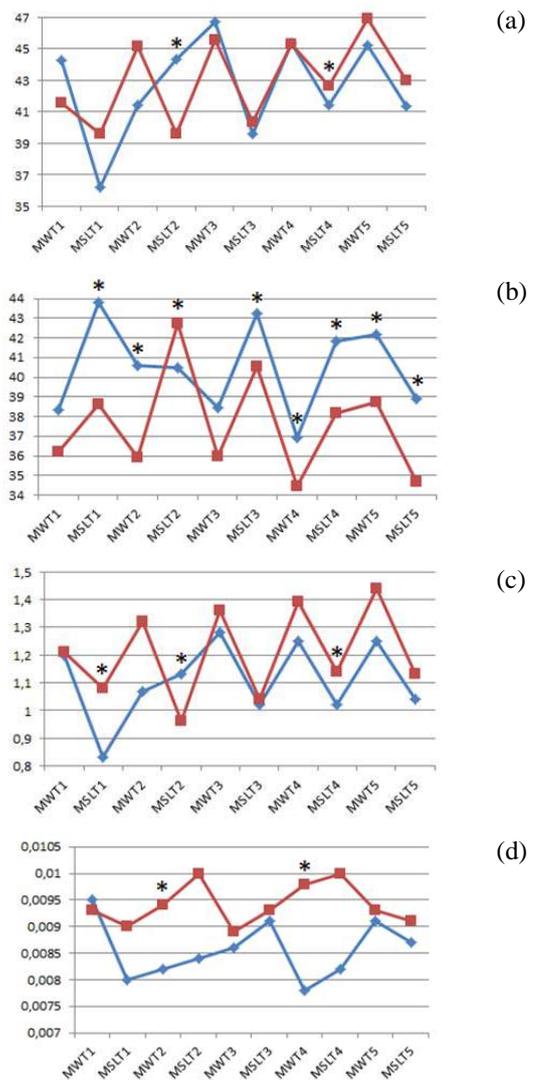


Figura 2. Análisis EDS (azul) vs. WDS (rojo) en el dominio de la frecuencia: (a) LFn (%); (b) HF_n (%); (c) LF/HF (u.n.); (d) VLF (s^2); * p -valor $<0,05$, Sen $\geq 60\%$, Esp $\geq 60\%$ y AUC $\geq 0,6$.

Los resultados de aplicar DFA en el análisis de los sujetos EDS y sujetos WDS están resumidos en la Figura 3. Los valores obtenidos para α_1 (Figura 3a) muestran una tendencia similar hasta la prueba MSLT3 que corresponde al periodo anterior a la ingesta. A partir de esta prueba el valor de α_1 disminuye en el grupo EDS, tanto para MSLT como para MWT, indicando una pérdida de correlación fractal de las series VRC. Los valores de α_2 (Figura 3b) tienden a ser mayores en los sujetos WDS que en los sujetos EDS, al comparar ambos en cada prueba MSLT y MWT, independientemente.

Además, en general, se aprecia que α_1 es ligeramente superior en MWT que en MSLT, probablemente debido al mayor ángulo de inclinación corporal. Sin embargo, la influencia de la postura corporal no ha sido observada en el exponente α_2 . Esta tendencia se aprecia también en HF_n con diferencias estadísticamente significativas entre MSLT y MWT, tanto en el grupo de sujetos EDS, como en el grupo WDS. En la Figura 4 puede observarse como la potencia en la banda de las altas frecuencias es superior en MSLT, tanto en sujetos EDS como en sujetos WDS.

Estos resultados también se observaron en [13], para un ángulo de inclinación corporal superior a 30°, y en [14].

El análisis estadístico aplicado a cada test antes de la ingesta versus después de la ingesta tanto para el estudio lineal como para el no lineal, no ha presentado diferencias estadísticamente significativas.

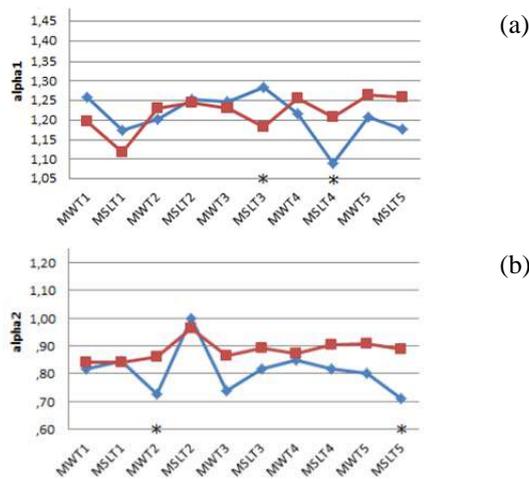


Figura 3. Análisis EDS (azul) vs. WDS (rojo) mediante DFA; * p -valor <0.05 , Sen $\geq 60\%$, Esp $\geq 60\%$ y AUC $\geq 0,6$

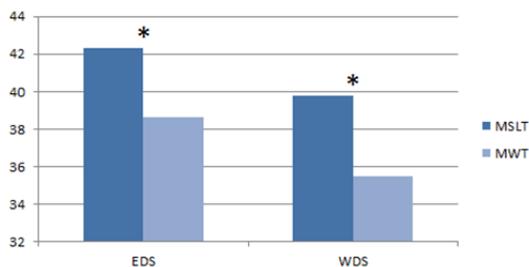


Figura 4. Diferencias estadísticas MSLT vs. MWT en el grupo EDS y en el grupo WDS al analizar HFn. * p -valor $<0,05$, Sen $\geq 60\%$, Esp $\geq 60\%$ y AUC $\geq 0,6$.

4. Conclusiones

El análisis lineal en el dominio del tiempo y en el dominio de la frecuencia así como el análisis no lineal mediante la DFA de la VRC ha permitido diferenciar sujetos con somnolencia diurna excesiva (EDS) y sin somnolencia (WDS). Concretamente, se ha obtenido un aumento de la frecuencia cardiaca y un balance simpático-vagal mayor en los sujetos WDS en comparación con los sujetos EDS. Además, se ha demostrado que los valores de $\alpha 2$ tienden a ser mayores en los sujetos WDS que en los sujetos EDS, y a partir de la ingesta, $\alpha 1$ disminuye también en el grupo EDS, tanto para MSLT como para MWT, mostrando una pérdida de correlación fractal.

Por otro lado, a partir del análisis de MWT vs. MSLT, en cada grupo de sujetos, se ha observado que los índices presentan diferentes tendencias debidas a la postura corporal, con mayor afectación en el grupo WDS.

Finalmente, el procesado y análisis de la VRC parece aportar información relevante para el diagnóstico clínico. Además, aporta una alternativa válida al análisis del

electroencefalograma, ya que éste requiere un procesado más complejo, y, además, una adquisición y registro más incómodos para el paciente.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el MINECO (TEC2013-44666-R y TEC2014-603337-R), y por un FIS PI07/0318. CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina es una iniciativa de ISCIII.

Referencias

- [1] Peppard PE, Young T, Barnet JH, et al. Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults. *Am J Epidemiol*, 2013, vol. 177, pp. 1006-1014.
- [2] Sassani A, Findley LJ, Kryger M, et al. Reducing motor-vehicle collisions, costs, and fatalities by treating obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep*, 2004, vol. 27, pp. 453-458.
- [3] Gonçalves MA, Paiva T, Ramos E, et al. Obstructive sleep apnea syndrome, sleepiness, and quality of life. *Chest*, 2004, vol. 125, pp. 2091-2096.
- [4] Baldwin CM, Griffith KA, Nieto FJ, et al. The association of sleep-disordered breathing and sleep symptoms with quality of life in the Sleep Heart Health Study. *Sleep*, 2001, vol. 24, pp. 96-105.
- [5] Carskadon MA, Dement WC, Mitler MM, et al. Multiple sleep latency test (MSLT): a standard measure of sleepiness. *Sleep*, 1986, vol. 5, pp. 519-524.
- [6] Doghramji K, Mitler MM, Sangal RB, et al. A normative study of the maintenance of wakefulness test (MWT). *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1997, vol. 103, pp. 554-562.
- [7] Task Force. Heart Rate Variability. Standards of Measurement, Physiological Interpretation, and Clinical Use. *European Heart J.*, 1996, vol. 17, n. 3, pp. 354-381.
- [8] Voss A, Heitmann A, Schroeder R, et al. Short-Term Heart Rate Variability—age Dependence in Healthy Subjects. *Physiological Measurement* 2012, vol. 33, n. 8, pp. 1289-1311.
- [9] Seely AJE, and Macklem PT. Complex Systems and the Technology of Variability Analysis. *Critical Care*, 2004, vol. 8, n. 6, pp. R367-R384.
- [10] Baumert M, Javorka M, Seeck A, et al. Multiscale Entropy and Detrended Fluctuation Analysis of QT Interval and Heart Rate Variability during Normal Pregnancy. *Computers in Biology and Medicine*, 2012, vol. 42, n. 3, pp. 347-352.
- [11] Sforza E, Pichot V, Cervena K, et al. Cardiac Variability and Heart-Rate Increment as a Marker of Sleep. Fragmentation in Patients with a Sleep Disorder: A Preliminary Study. *Sleep*, 2007, vol. 30, n. 1, pp. 43-51.
- [12] Montemurro LT, Floras JS, Picton P, et al. Relationship of Heart Rate Variability to Sleepiness in Patients with Obstructive Sleep Apnea with and without Heart Failure. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 2014, vol. 10, n. 3, pp. 271-276.
- [13] Porta A, Bari V, Badilini F, et al. Frequency Domain Assessment of the Coupling Strength between Ventricular Repolarization Duration and Heart Period during Graded Head-up Tilt. *Journal of Electrocardiology*, 2011, vol. 44, n. 6, pp. 662-668.
- [14] Watanabe N, Reece J, and Polus BI. Effects of Body Position on Autonomic Regulation of Cardiovascular Function in Young, Healthy Adults. *Chiropractic & Osteopathy*, 2007, vol. 15, n.19, pp. 1-8.

Estudio de la actividad cortical espontánea en ratones transgénicos con Alzheimer

E. Montaña Ortiz¹, J. F. Alonso López^{1,2}, M. A. Mañanas Villanueva^{1,2}, M. V. Sánchez Vives³

¹ Departamento de Ingeniería de Sistemas, Automática e Informática (ESAI), Universidad Politécnica de Cataluña (UPC), Barcelona, España, ernest.montana@estudiant.upc.edu, {joan.francesc.alonso, [miguel.angel.mananas](mailto:miguel.angel.mananas@upc.edu)}@upc.edu

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

³ Lab, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, España.

Resumen

Las señales corticales del cerebro permiten una visión más clara de la actividad neuronal que el estudio clásico de las señales registradas en el cuero cabelludo y son de gran interés en el estudio de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer. Con las señales adquiridas sobre el córtex prefrontal y somatosensorial de ratones con la mutación 3xTg-AD, se han estudiado los estados espontáneos UP y DOWN de las oscilaciones lentas del cerebro anestesiado. En primer lugar, se han aplicado técnicas de filtrado para eliminar interferencias y seleccionar la banda de interés entre 0.1 y 200 Hz, en la cual se aplicaron medidas de análisis espectral. Tras un filtrado adicional entre 30 y 100 Hz para seleccionar la banda gamma asociada a la actividad UP y DOWN, se calcularon variables de conectividad. Entre los resultados obtenidos, se escogieron aquellas variables que presentaban una mayor significación estadística mediante las pruebas T-Student y Wilcoxon. Finalmente, con estas variables se diseñaron dos procedimientos de clasificación por análisis de discriminante lineal (Stepwise y Leave-one-out) que consiguen diferenciar entre sujetos enfermos de Alzheimer y sujetos control con un 88% y un 82% de precisión, respectivamente.

1. Introducción

El sistema nervioso central (SNC), situado principalmente en el encéfalo y la médula espinal, se encarga de controlar las funciones cerebrales superiores, como por ejemplo el procesado de estímulos, el control del comportamiento, la memoria, los sentimientos o los procesos de aprendizaje. Cada una de estas funciones se encuentra situada en una región diferente de la corteza cerebral, la capa externa del cerebro, muy rica en neuronas y está al mismo tiempo dividida en varias subcapas. Las dos regiones analizadas en este estudio son la corteza prefrontal (memoria, orientación espacial, la conducta) y la corteza somatosensorial (sentidos y funciones motoras).

El cerebro del ratón es menos complejo que el humano, sin embargo, permite a los científicos adaptar el modelo a organismos más complejos debido a que la mayor parte de los mamíferos comparten la mayoría de las características de los campos corticales. La enfermedad de Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa crónica cuyo síntoma principal es una demencia que empeora con el tiempo, además de los cambios de comportamiento, problemas de lenguaje y la pérdida de las funciones corporales. Afecta sobre todo a las personas mayores de 60 años, pero puede

aparecer tan temprano como a los 40 años de edad. La causa exacta de la aparición de la enfermedad no ha sido descubierta todavía y por el momento se cree que es causada por una compleja combinación de factores genéticos, ambientales y de edad. El Alzheimer destruye las neuronas formando dos estructuras proteínicas diferenciadas, placas y ovillos neurofibrilares. La primera forma racimos de β -amiloide hasta que bloquean la conexión sináptica entre neuronas y se desencadena una reacción autoinmune. Los ovillos, por otra parte, se forman hebras curvas de proteína Tau y dañan el suministro vital de la neurona, haciendo que se mueran por falta de nutrientes. Los estudios indican que las mujeres son más propensas a sufrirla que los hombres [1] y que en 2006, 5 millones de mujeres y 2,3 millones de hombres la padecen en Europa.

2. Estados UP y DOWN

El método usado para registrar las señales del cerebro en este estudio se llama Electroencefalograma Intracraneal, que inserta los electrodos sobre la superficie del cerebro a través de una incisión quirúrgica en el cráneo obteniendo un registro más claro de las señales que el que se consigue con los EEG superficiales comunes. Las señales registradas son llamadas potenciales de campo locales (LFP) y se generan en las capas profundas de la corteza cerebral cuando un pequeño volumen de neuronas cercanas se activan de forma coordinada.

Cuando los ratones son sedados, su cerebro produce dos estados, llamados UP y DOWN. Esta actividad es totalmente espontánea y presenta dos patrones rítmicos, uno lento, que aparece durante la alternancia entre estados (<1 Hz) y ritmos más rápidos en la banda beta (10-30 Hz) y la banda gamma (30-100 Hz) [2].

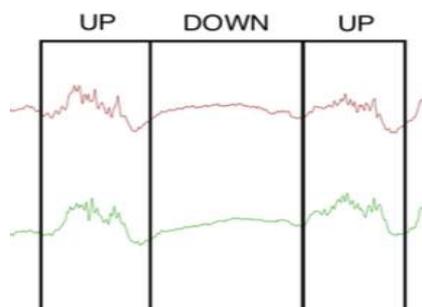


Figura 1. Estados UP y DOWN de las señales

Las oscilaciones de alta frecuencia en los estados de las redes corticales están asociados a los procedimientos cognitivos, perceptivos, y a la sincronización neuronal. En otras palabras, los estados UP son cortos períodos donde el cerebro "despierta" de su sueño y recupera una funcionalidad similar a su actividad espontánea, generando potenciales de acción mayores. Estos aparecen como mesetas de gran amplitud con una duración que varía entre 0,4 y 1 segundo, en contraposición a los estados DOWN, más estables y de menor amplitud, también llaman estados "silenciosos", debido a la baja actividad cerebral y que están compuestos mayormente de ruido.

3. Base de datos y registro

Las señales se registraron en el Sánchez-Vives Lab, dando lugar a una base de datos formada por 17 ratones, 8 sanos y 9 ratones enfermos. Los ratones enfermos son una variante genéticamente modificada llamada SAMP8 que contiene el gen mutante 3xTg-AD, haciendo que los desarrollen síntomas similares a la demencia y que su cerebro envejezca más deprisa de lo normal con el fin de emular los síntomas de las fases tardías de la enfermedad.

Los sensores elegidos para registrar la actividad cortical son electrodos de tungsteno de 50 micras de diámetro y una impedancia de $3M\Omega$, que ofrecen un alto ratio de señal a ruido y registros estables. La señal se muestreó utilizando una tarjeta de adquisición CED (Cambridge Electronic Design) y el software Spike2 a una velocidad de muestreo de 20 KHz. El sistema multicanal filtra la señal con un sistema digital filtro de banda entre 0,01 Hz y 2,5 KHz. A continuación la grabación se remuestrea a 5 KHz. Se registraron dos canales, asociado al hemisferio derecho e izquierdo respectivamente (canales 1 y 2), en 2 regiones de la corteza, la prefrontal y la somatosensorial. Con el fin de ser capaz de procesar la señal con MATLAB se desarrolló un programa que convierte archivos de Spike2 en archivos compatibles.

4. Preprocesado de la señal

Antes del análisis de la señal, el registro debe ser tratado con el fin de eliminar las interferencias, obtener la banda de interés y separar los estados UP y DOWN.

4.1 Eliminación de la interferencia eléctrica

La interferencia de la línea eléctrica puede corromper el registro en la banda de 50 Hz y sus armónicos. Teniendo en cuenta que la banda de interés de este estudio abarca desde 0,1 Hz a 200 Hz y de 30 Hz a 100 Hz para los estados UP y DOWN, es absolutamente necesario eliminar tal interferencia. Un filtro ranura no es la solución adecuada para este caso, debido a que la eliminación total de la frecuencia 50 Hz significa la eliminación de información en la banda de interés. A fin de resolver el problema, hay que eliminar la cantidad correcta de interferencia con un filtrado adaptativo. El filtro que se utilizó está basado en código abierto desarrollado en la Universidad Nacional de Singapur [3].

4.2 Seleccionando la banda de interés

Para el filtrado posterior, se utilizaron filtros paso-banda de Chebyshev inverso (con rizado en la banda atenuada). El primero de ellos tiene las frecuencias de corte en 0,1 y 200 Hz, y se usó para el análisis espectral. El segundo tiene las frecuencias de corte de 30 y 100 Hz, y se usa para las mediciones de conectividad, con el fin de estudiar las banda beta y gamma, que muestran claramente los estados UP y DOWN.

4.3 Segmentación de los estados UP y DOWN

Con el fin de separar adecuadamente los estados UP de los estados DOWN en la banda de 30 a 100 Hz, es necesario utilizar una técnica que permite la obtención de la señal analítica, una función de valor complejo y sin componentes de frecuencia negativas que facilita la manipulación de la señal. La transformada de Hilbert es un operador lineal que dentro del mismo dominio, extiende la función hacia el plano complejo y añade información sobre la fase instantánea de la señal. La función es la convolución de $g(t)$ con la señal $1/\pi t$. Es el equivalente de un filtro invariante temporal que tiene una respuesta impulsional de $1/\pi t$. Uno de los principales problemas de este operador es que está definido por una integral impropia. Para solucionar ese problema, el valor principal de Cauchy (ϵ) se aplica sobre los límites integrales con el fin de variar la integral. Uno de los principales usos de esta transformación es calcular la fase instantánea y la envolvente de la señal, lo que ayuda definidos los límites de los estados UP y DOWN.

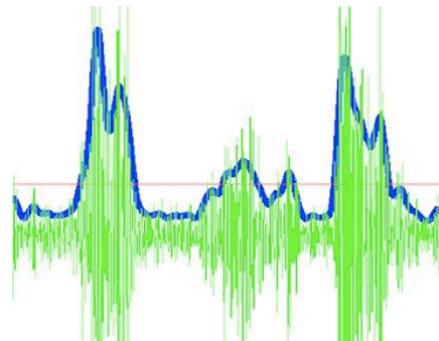


Figura 2. Segmentación de los estados UP y DOWN, contiene la señal (verde), la envolvente (azul) y el umbral (rojo)

Un umbral separa los estados UP y DOWN. Los valores situados por encima del umbral se considerarán como UP y viceversa. Para filtrar las oscilaciones demasiado cortas, sólo estados de 500 muestras o más fueron considerados para el análisis. Para las mediciones de conectividad que requieren canales simultáneos, sólo se consideraron las muestras que se encontraron en el mismo segmento UP o DOWN en ambos canales.

5. Técnicas de análisis del EEG

Diversas variables han sido calculadas a fin de cuantificar la información contenida en las señales de EEG. Las medidas de conectividad se utilizan para comparar los dos canales de la grabación están relacionados entre sí, mientras que las medidas espectrales nos permiten obtener información del comportamiento frecuencial de la señal.

5.1 Medidas de conectividad

Se calcularon las siguientes medidas:

- **Correlación cruzada:** Mide la similitud entre dos señales.
- **Entropía aproximada y muestral (ApEn, SampEn):** Miden la complejidad de una señal basándose en la probabilidad de predecir correctamente el valor de las siguientes muestras. La entropía muestral funciona mejor en conjuntos reducidos de muestras, mientras que la aproximada es computacionalmente más eficiente en segmentos de mayor tamaño [4].
- **Información Mutua y Área Bajo la Curva:** La Información Mutua [5] evalúa la cantidad de información que se puede conocer de una señal Y simplemente analizando otra señal X. El Área Bajo la Curva es el sumatorio total de la información mutua registrado durante un número dado de muestras.
- **Weighted Phase-Lag Index (WPLI):** Mide la sincronización de las dos señales mediante el análisis de la variación de la diferencia entre los valores de fase instantáneos [6]. Si las señales están sincronizadas, la variación se mantendrá cercana a cero, estableciendo así un "bloqueo de fase".
- **Synchronization Likelihood (SL):** Mide la sincronización de dos series temporales basándose en las distancias euclidianas de los valores entre series [7].

5.2 Medidas espectrales

Las siguientes medidas espectrales se han usado durante el estudio:

- **Periodograma de Welch:** Se utilizó para obtener una representación precisa del espectro con un promedio de más de mil segmentos. Una ventana Hanning de longitud variable (de acuerdo con la longitud del segmento) se utilizó para cada segmento. Debido a la separación temporal de los estados UP y DOWN no se utilizó ningún solapamiento entre segmentos.
- **Frecuencias medias y medianas:** Se usaron para obtener información sobre la geometría espectral.

6. Análisis de los resultados

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante una prueba no paramétrica, con el umbral de significación establecido en el 5% ($p < 0.05$). La prueba de la suma de rangos de Wilcoxon, equivalente a la prueba U de Mann-Whitney), mide la cantidad de veces que el valor de una muestra de una población es mayor que el resto de las muestras en la otra población.

Además, como una ayuda visual, se utilizaron diagramas de caja con muescas que comparan las poblaciones y las diferentes regiones de la corteza cerebral.

Las tabla 1 muestra los resultados obtenidos (resultados significativos en negrita).

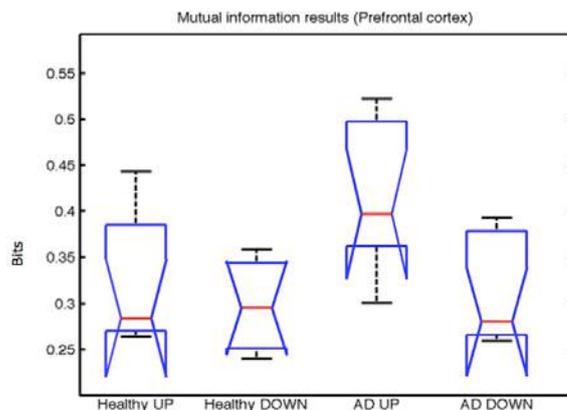
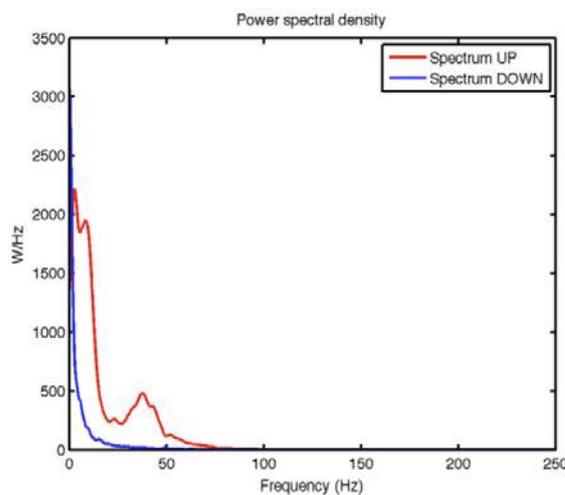


Figura 3. Diagrama de caja de la Información Mutua

Variable	S UP	S DOWN	P UP	P DOWN
SampEn	0,6918	0,7614	0,0079	0,0274
ApEn	0,8148	0,4234	0,6740	0,9626
Área	0,0079	0,1139	0,0111	0,0206
Correlación	0,3213	0,6058	0,3704	0,5414
F Media	0,1672	0,3704	0,5414	0,2766
F Mediana	0,6058	0,8884	0,673	0,1672
IM	0,0274	0,6058	0,0274	0,5414
SL	0,9079	0,7616	0,0615	0,4959
WPLI	0,4234	0,1139	0,0464	0,0025

Tabla 2. Resultados de los tests de Wilcoxon



Los periodogramas mostraron claras diferencias en la distribución espectral de los estados UP y DOWN. El primer grupo presenta una mayor actividad en la banda gamma, y en la banda beta (15-30 Hz), asociada a los procedimientos cognitivos.

7. Clasificación

El paso final del estudio fue la creación de un procedimiento para diferenciar automáticamente los ratones sanos de los ratones enfermos utilizando las variables más significativas. Debido a la baja cantidad de

muestras, el análisis discriminante lineal (LDA) fue elegido como clasificador. La clasificación se aplicó mediante dos procedimientos: validación cruzada dejando uno fuera (leave-one-out) y regresión con inclusión por pasos (stepwise) usando el software SPSS.

El procedimiento de validación cruzada ofreció los mejores resultados con varias combinaciones de variables:

- SampEn de la corteza prefrontal y Área de la corteza somatosensorial.
- Área de la corteza prefrontal y Área de la corteza somatosensorial
- Área e Información Mutua de la corteza prefrontal.
- Área de la corteza somatosensorial y WPLI de la corteza prefrontal.

Los resultados estadísticos de la clasificación fueron un 77,8% de sensibilidad, especificidad del 87,5% y un 82,4% de precisión. Las variables de la regresión por pasos fueron:

- Área de la corteza prefrontal.
- Información Mutua de la corteza prefrontal.
- SampEn de la corteza prefrontal.
- Área de la corteza prefrontal.

Los resultados estadísticos de la clasificación fueron un 100% de sensibilidad, especificidad del 75% y un 88,2% de precisión.

8. Conclusiones

La hipótesis de partida es que un cerebro sano es un órgano complejo que hace que sea difícil de modelar. A medida que progresa la enfermedad, un creciente número de neuronas comienza a perder su funcionalidad y el cerebro se convierte en una versión simplificada de sí mismo que parece ser más “sincronizado”, y por lo tanto menos complejo. Tiene sentido que la mayoría de las diferencias entre los sujetos sanos y enfermos se hayan encontrado en la corteza prefrontal, debido a su asociación con los procedimientos cognitivos y de memoria, mientras que el somatosensorial se asocia a los procedimientos sensoriales y de movimiento y se ve afectada sólo durante los últimos estados de la enfermedad.

Las mejores variables para la clasificación son tres medidas de conectividad y una medida de la complejidad, que se ajustan a nuestra hipótesis de partida. Los valores de Información Mutua, Área Bajo la Curva y WPLI son significativamente más altos en los sujetos enfermos, y la entropía muestral es menor en un cerebro enfermo. Después de estudiar varias combinaciones de variables, se

consideró que el mejor clasificador fue la entropía muestral combinada con una medida de conectividad,

Es interesante destacar que un clasificador es mejor para detectar ratones sanos, mientras que el otro es mejor para detectar ratones enfermos, ya que ambas pruebas se pueden combinar para mejorar la fiabilidad de los resultados obtenidos.

El hecho de que se trabaje con un número de variables menor que la mitad del tamaño de la población indica que se puede considerar un modelo robusto sin sesgo.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado parcialmente por el Ministerio de Economía y Competitividad (ref. DPI2014-59049-R). CIBER-BBN es una iniciativa del Instituto de Salud Carlos III.

Referencias

- [1] Web de Alzheimer-Europe. <http://www.alzheimer-europe.org/Research/European-Collaboration-on-Dementia/Prevalence-of-dementia/Prevalence-of-dementia-in-Europe>. (Consulta: Mayo 2015)
- [2] Compte A, Reig R, Descalzo V, Harvey M.A, Puccini G. D, Sanchez-Vives M.V. Spontaneous high-frequency (10-80 Hz) oscillations during UP states in the cerebral cortex in vitro. *The Journal of Neuroscence* vol 28, 2008, pp 12828-44.
- [3] Keshtkaran M.R., Yang Z. A fast, robust algorithm for power line interference removal. National University of Singapore, Department of Electrical and Computing Engineering, 2014.
- [4] Lu S., Chen X., Kanters J., Solomon I. Chon K.H. Automatic selection of the Threshold Value for Approximate Entropy. *IEEE transactions on biomedical engineering* vol 55, 2008, pp 1966-72.
- [5] Alonso J.F, Mañanas M.A., Romero S., Hoyer D, Riba J., Barbanoj M.J. Drug Effect on EEG connectivity assessed by linear and nonlinear couplings. *Human Brain Mapping* vol 31, 2010, pp 487-7.
- [6] Stam C.J, Nolte G., Dafertshofer A. Phase Lag Index: Assesment of functional connectiviy from multi channel EEG and MEG with diminished bias from common sources. *Human Brain Mapping* vol 28, 2007, pp 1178-93.
- [7] Stam C. J, van Dijk B.W. Synchronization likelihood: an unbiased measure of generalized synchronization in multivariate data sets. *Physica D* vol 163, 2002, 236-51.

Plasmid expression in stressed bacteria

A. Marín Llauredó¹

¹ CEXS, UPF, Barcelona, Spain, ariadna.marin01@estudiant.upf.edu

Abstract

*Plasmids are small double-stranded DNA molecules that are present in a high variety of bacteria. Even though the behavior of bacteria under stress has been widely studied, the dynamics underlying the expression and copy number of plasmids under these conditions have yet to be characterized. We have cloned into two plasmids with different nominal copy numbers a construct that contains a YFP regulated by an inducible promoter. We have studied the changes in fluorescence levels produced by variations in stress conditions in transformed *B. subtilis*. Flow cytometry results show an increased level of YFP expression from the high-copy plasmids in cells under stress, in comparison to those that grow in common LB medium. Transformed cells give rise to two populations with different fluorescence values; the first one presents similar expression to cells with only a chromosomal copy of the construct while the second shows higher fluorescence levels.*

1. Introduction

Bacteria are prokaryotes, single-celled organisms that don't present a nucleus, mitochondria or other organelles surrounded by a membrane. They can be found all around the biosphere, as well as within higher forms of organisms. Within a host organism, microbes carry out important functions. They protect our organism against harmful pathogens, help with the digestion of multiple nutrients and stimulate cell growth and production of antibodies [1]. However, some bacterial cells are pathogens themselves, meaning that they are capable of causing disease to plants, animals or humans. They produce toxins that are noxious to the organism and, in some cases, can cause death. The gravity of these diseases and the complications that arise from them have also been decreased thanks to antibiotic treatment.

Antibiotics are substances that either kill bacterial cells or inhibit its growth. Their repeated use through the years has lead to an increase of antibiotic resistant bacteria, which have reached alarming numbers. These bacteria contain genes that protect them against the toxicity of antibiotics. These genes can be exchanged through a variety of transfer systems between bacteria; in fact, most species can take up DNA from what we could consider as a "global gene pool" [2]. One of these transference methods is the exchange of plasmids: small, circular, double-stranded DNA molecules. They are replicated independently from the chromosome and many copies can be present on a single cell. They usually carry genes which are not essential for the survival of the cell; however, they can help cells overcome stressful situations such as the presence of antibiotics (resistance genes) or increase their pathogenicity.

We must keep in mind that replicating a plasmid requires a lot of resources (energy, replication machinery, nucleotides, etc.). Therefore, bacteria that do not present plasmids exhibit faster growth and division than those of cells with plasmids. This implies that, in order to keep a population of cells with plasmids, an environmental pressure is needed. When bacteria resistant to an antibiotic are infecting a person who is treated by that antibiotic, the cells that present the plasmid with the resistance undergo positive selection. Their fitness will be higher than that of other cells, guaranteeing their survival, division and the subsequent spread of the infection.

When bacteria are subjected to this kind of environment, they are under stressful conditions. The dynamics of these plasmids in these situations is something that is not yet well characterized. Knowing whether cells stop replicating the plasmid or synthesizing its proteins in order to save energy or adopt a different strategy could help us to understand the survival of some cells over others. This project aims at clarifying how plasmid copy number changes under these conditions with respect to favorable conditions (with availability of nutrients and without stress signals). Since we cannot directly measure the number of copies, fluorescence has been used as a proxy by means of flow cytometry and time-lapse fluorescence microscopy experiments.

Two different strains of *Bacillus subtilis*, a wild-type one and another with a copy of the YFP gene integrated into the genome under Pyperspank promoter, have been used as starting point. These strains are named PY79 and control- α , respectively. Pyperspank is an inducible promoter activated by IPTG, which allows us to control expression of YFP. This construct (Pyperspank-YFP) has been cloned into two plasmids, one that presents a high number of copies within the cell (pDG148) and another with a lower copy number (pHP13). These plasmids have been transformed into the previous strains in order to measure the fluorescence produced by the plasmids in relation to that of the chromosomal integration.

Since all copies are under the control of the same promoter, fluorescence of the transformed strains is expected to be n -fold (PY79 with plasmid) or $(n+1)$ -fold (control- α with plasmid) that of control- α , where n is the number of copies of the plasmid within the cell. Previous estimations of these copy numbers in stress conditions have been measured by Espinar et al [3], for pDG148 the mean number is approximately 75 in stationary conditions while for pHP13 it is around 6 copies.

In this work, we intend to identify variations in the production of fluorescent protein depending on the stress conditions of the media where they are cultured during induction. These changes in stress are tuned by addition of conditioned media, which possesses less nutrients and more stress peptides.

2. Methodology

2.1. Plasmid design

In order to decide which one is the optimal site of the vector to insert the desired construct, a detailed map of the plasmids was needed. The sequence of pHP13 was kindly proportioned by Prof. Gurol Süel from University of California San Diego. In order to obtain the map for pDG148, we designed primers that served as starting point for Sanger sequencing.

We designed *in silico* the structure that our plasmids would have after cloning into them the desired insert, which contained YFP under the control of a strong promoter induced by IPTG and the spectinomycin resistance gene (to allow selection of the colonies that have correctly acquired the plasmid).

2.2. DNA obtention

Vectors were extracted using a comercial kit from *Bacillus subtilis* strains used in Espinar et al [3] and amplified using polymerase chain reaction (PCR) technique. In the case of pDG148 plasmid, we amplified the sequences for insert and vector adding a restriction site at each end of the double-strands (AvrII and SpeI). In the case of pHP13, we amplified the sequence of the insert using primers with a region which was complementary to that of the vector (necessary for Gibson assembly). We performed gel electrophoresis in order to select the appropriate DNA fragments that would be cloned. Afterwards we purified the samples using a comercial kit.

2.3. Cloning strategies

Cloning of pDG148 was performed using the traditional method. Vector and insert were cut using the pertinent restriction enzymes (AvrII and SpeI), the vector was dephosphorylated using an alkaline phosphatase and ligation was carried out by means of T4 DNA ligase.

We performed cloning of pHP13 using Gibson assembly[4]. The Master Mix used for Gibson cloning consists of three different enzymes which are placed within the same buffer. An exonuclease creates 3' overhangs by cutting nucleotides from 5' end of the other strand. The primers used to amplify the insert presented a sequence which was complementary to that of the ends of the amplified vector, allowing hybridization with between vector and insert. A DNA polymerase adds nucleotides to fill the gaps in the annealed fragments and a DNA ligase joins them through covalent bonding.

2.4. Transformation

Firstly, transformation was carried out into chemically competent *Top10 E. coli* cells. This strain does not present the gene for recombinase, thus avoiding

recombination between the plasmid and the genome and providing an easy source for plasmid extraction. Secondly, we selected the colonies that successfully incorporated the desired plasmid (vector with insert) by means of a colony PCR. To ensure that no deleterious mutations were present, the nucleotide sequence of the plasmids was examined. Finally, we transformed *B. subtilis*, which we made competent by growing them in a specific minimal medium, with the plasmids that presented correct sequences.

2.5. Time-lapse fluorescence microscopy

In this procedure, a sequence of images is taken at regular time intervals with a microscope that monitors fluorescence. The sample is illuminated with excitation light and this energy is absorbed by the fluorophores, which emit light after being excited by a specific wavelength of light.

Since our construct contained YFP, we excited the sample with a wavelength of 488nm. We placed the cells below agarose pads made with a minimal medium that reduces growth speed and puts cells under nutritional stress. These pads need to have a certain concentration of IPTG to induce the expression of the promoter P_{hyp} and produce YFP.

Data analysis: We analyzed the resulting images using "Schnitzcells" [5], a Matlab based software that permits segmentation of images, tracking of cell lineages and fluorescence quantification.

2.6. Flow cytometry

Flow cytometry is a technology that measures multiple physical characteristics of single cells, such as particle size, granularity and relative fluorescence intensity.[6] Overnight LB cultures of the desired strains with selective antibiotics were diluted to an OD of 0.1 and grown for approximately 2 hours at 30°C. Afterwards, we diluted the culture into different combinations of LB and conditioned medium with an IPTG concentration of 250µM to test fluorescent protein expression under nutritional stress. The first tube contained only LB, the second contained 50% LB and 50% conditioned medium and the third one, 10% LB and 90% conditioned medium. It is important to note that no antibiotic was placed into the cultures, to avoid stress not due to the media.

Data analysis: We visualized flow cytometry and extracted it using FlowPy, a Python software tool. Further analysis of the extracted data was performed using Matlab.

3. Results

Due to problems encountered during transformation of pHP13::Phyp-YFP into *B. subtilis*, microscopy and flow cytometry experiments could only be performed with the high copy number plasmid, pDG148::Phyp-YFP.

3.1. Time-lapse fluorescence microscopy

Fluorescence imaging shows that cells with the plasmid present an initial increase in YFP production. Afterwards, the levels of YFP decrease. Unfortunately, due to loss of focus of the microscope, the dynamics of fluorescence after more than 400 minutes of recording cannot be analyzed. Contrasting with this change in expression in the strain with the plasmid, the strain which only presents chromosomal integration shows a stable fluorescence expression through the whole experiment (see *Figure 1*).

At the peak of fluorescence which occurs during the first 2 hours, the fluorescence of our strain reaches 13-fold the expression of the control. Afterwards, its expression stabilizes to between 5- and 6-fold. Nevertheless, this initial peak could be an artifact caused by the abnormal behavior of one of the few cells sampled during this period of time ($n < 10$).

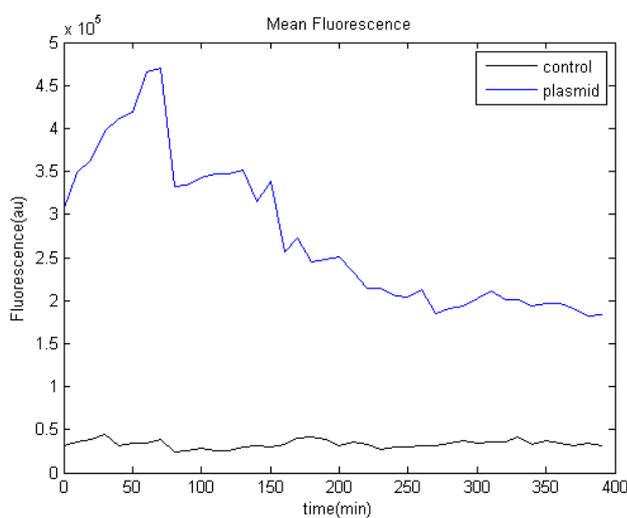


Figure 1. Mean cell fluorescence for control α (chromosomal integration) and PY79 pDG148::Phyp-YFP. Control α shows a constant fluorescence value, while the strain with the plasmid shows an initial increase of this value that later decreases.

3.2. Flow cytometry

Flow cytometry allowed us to study the level of fluorescence of a large number of cells under different stress conditions. The results show that increased stress leads to a small increment in the expression of YFP that can be seen in the strain with chromosomal integration (control α), as well as on the ones with the high copy number plasmid pDG148 (see *Figure 2*). This tendency being independent from particles in the medium has been checked by using a wild-type *B. subtilis* (PY79) as a negative control, which indeed does not present fluorescence in any conditions.

The strains that possess the plasmid (control α pDG148::Phyp-YFP and PY79 pDG148::Phyp-YFP) show two populations with different levels of expression. The first population has an expression level equivalent to that of the chromosomal copy of the gene and is more numerous in the strain derived from control α (maybe due to activation of only the copy on the chromosome). The

second one presents a higher expression level and is larger in the PY79-derived strain (without chromosomal integration). Even though size accounts for part of the variability, most of it is still present after normalizing the fluorescence levels and the two populations remain intact.

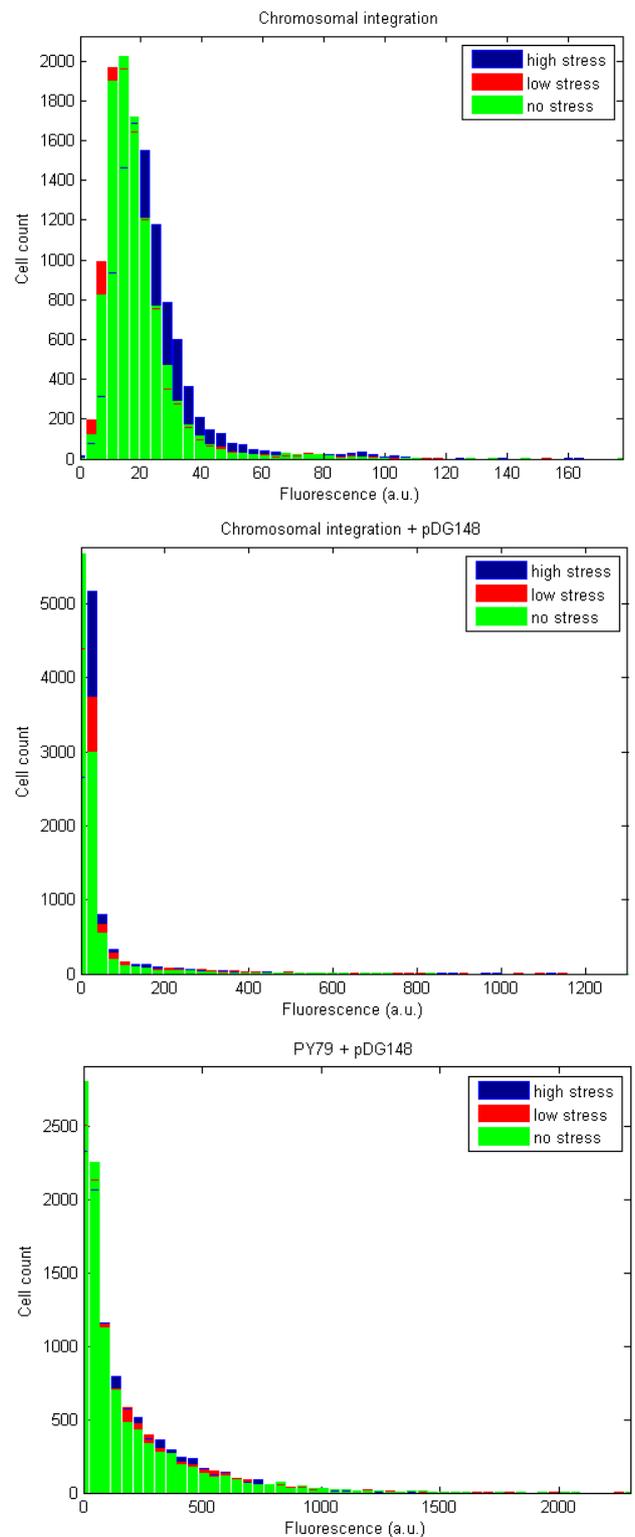


Figure 2. Histograms showing fluorescence levels of control α (a), control α pDG148::Phyp-YFP (b) and PY79 pDG148::Phyp-YFP (c) cells for the three different combinations of LB and conditioned medium.

4. Conclusions and discussion

Results from flow cytometry show clearly that an increase in stress conditions due to less nutrients and increased concentration of stress peptides leads to an increment in the fluorescence levels of the cells. This increment is not only seen in the strains which possess the high copy number plasmid (pDG148::Phyp-YFP), but also on the one that only presents a chromosomal copy of the construct (control α).

The strains with the plasmid present two different levels of YFP that allow distinguishing two different populations. The first one presents fluorescence values that are equivalent to those of control α . It is interesting to note that in the strain derived from control α this population is bigger than in the one derived from a wild-type *B. subtilis* (PY79). This could be due to activation of only the chromosomal copy of the gene. Nonetheless, it is still unexpected that the number of cells with high YFP expression is bigger in PY79 pDG148::Phyp-YFP, when theoretically it presents one gene copy less than control α pDG148::Phyp-YFP.

The results obtained from time-lapse fluorescence microscopy do not show clear differences on expression due to increased stress conditions. Even though exists high variability across cells, they cannot be separated into different populations according to their YFP expression. Being able to analyze the final stage of the experiment, when the lack of nutrients and stress leads some cells to sporulate, would have allowed us to see how fluorescence evolves as nutrients become sparse. In any case, these results are not significant and repetition of the experiment would be necessary in order to ascertain whether this occurrence is consistent or it was just an isolated case.

In contrast with data from Espinar et al. [3], the ratio of fluorescence between our strains and the control with only a chromosomal integration is much lower. Through time-lapse fluorescence microscopy experiments, they determined that the number of copies of pDG148 present in the cells was around 75. On the other hand, our results show a maximum copy number of 14 (after 1-2 hours of recording). Flow cytometry leads to similar results, but, due to the elevated quantity of cells analyzed, it can be seen that there is high variability in YFP expression. This difference between our results and those from [3] could possibly be due to the behavior of the promoter. While we used $P_{\text{hyperspank}}$, a strong inducible promoter under the control of IPTG [7], they used P_{ComS} , which is involved in the complex system of competence regulation and promotes a lower expression than Phyp [8,9].

This high level of transcription may lead to a situation where some molecule acts as a limiting factor for expression. We tested the concentration of IPTG by increasing its concentration up to 1mM, but the level of YFP expression obtained in flow cytometry experiments remained the same as for 250 μ M; therefore, the concentration of inductor is not the factor which limits YFP production. Higher expression under stress could also mean that there is a higher concentration of the

mentioned factor under these conditions, which does not happen for IPTG.

Finally, we would like to point out that from these measurements, it can't be assured whether variations on expression levels are a consequence of changes in plasmid copy number or in the expression of these plasmids' proteins. Given the fact that the fluorescence level also increases in the control with only a chromosomal copy (this does not happen in the microscopy results, but, as we said before, these results are not significant), intuition would suggest that copy number is not responsible for these difference; however, further experiments need to be performed in order to give a clear answer.

Acknowledgements

Lastly, I would like to thank everyone in the Dynamical Systems Biology lab, especially the two supervisors of this project, Jordi Garcia-Ojalvo and Letícia Galera Laporta, for allowing me to work there and for all their help through the whole process.

References

- [1] Baron S (editor). Medical Microbiology, 4th Edition. University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. (ISBN-10: 0-9631172-1-1).
- [2] Bennet, PM. Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *British Journal of Pharmacology*, vol 153, sup 1, 2008, ppS347-S357 (doi: 10.1038/sj.bjp.0707607)
- [3] Espinar L, Dies M, Çağatay T, Süel GM, Garcia-Ojalvo J. Circuit-level integration in bacterial gene regulation. *Proceedings of the National Academy of Science*, vol 110, 2013, pp 7091-7096. (doi: 10.1073/pnas.1216091110)
- [4] Gibson DG, Young L, Chuang R, Venter JC, Hutchison III CA, Smith HO. Enzymatic assembly of DNA molecules up to several hundred kilobases. *Nature Methods*, vol 6, 2009, pp 343-345. (doi: 10.1038/nmeth.1318)
- [5] Young JW, Locke JCW, Altinok A, Rosenfeld N, Bacarian T, Swain PS, Mjolsness E, Alon U, Elowitz MB. Measuring single-cell gene expression dynamics in bacteria using fluorescence time-lapse microscopy. *Nature Protocols*, vol 7, 2012, pp 80-88. (doi: 10.1038/nprot.2011.432)
- [6] Ormerod MG (editor). Flow Cytometry: A Practical Approach. Oxford University Press, 2000. (ISBN: 9780199638246)
- [7] Yansura DG, Henner D. Use of the Escherichia coli lac repressor and operator to control gene expression in *Bacillus subtilis*. *Proceedings of the National Academy of Science*, vol 81, 1984, pp 439-443. (PMID: 6420789)
- [8] Süel GM, Garcia-Ojalvo J, Liberman LM, Elowitz MB. An excitable gene regulatory circuit induces transient cellular differentiation. *Nature*, vol 440, 2006, pp 545-550. (doi:10.1038/nature04588)
- [9] Süel GM, Kulkarni RP, Dworkin J, Garcia-Ojalvo J, Elowitz MB. Tunability and Noise Dependence in Differentiation Dynamics. *Science*, vol 315, 2007, pp 1716-1719. (doi: 10.1126/science.1137455)

Human Gait Characterization Using Kinect

R. Kale Moyano¹, L. Dux-Santoy Hurtado², X. Binefa Valls²

¹ Escola Superior Politècnica, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain, raquel.kale01@estudiant.upf.edu

² Departament de Tecnologies de la Informació i les Comunicacions, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain, {lydia.dux, xavier.binefa}@upf.edu

Abstract

Gait analysis has become a widely used tool for the assessment and characterization of movement disorders. Progress in motion analysis techniques is led by developments in new technologies. The aim of this project is to present the potential use of Kinect to obtain valuable gait information, avoiding the use of expensive motion capture systems and strict laboratory conditions. The project proposes a set of algorithms to extract gait features, not only in terms of human motion (kinematics) but also in terms of forces (kinetics). Estimation of forces based on skeletal tracking has been one of the major challenges. Results are in good agreement with gold standard methods and encourage the use of this technology as an inexpensive alternative. The method could be of great interest in two major application fields, sports and healthcare, aiding to deeply understand how our movement during locomotion can lead to increase the risk of injuries.

1. Introduction

Gait cycle is the term used to describe the simplest form of human locomotion. The cycle consists of sequential and rhythmic movements of body limbs and trunk, resulting in a forward progression of our body. It is divided into two major phases: stance (foot in contact with the ground, 62% of the cycle) and swing (foot does not touch the ground, being suspended on the air and moving forward to induce the limb advancement in the locomotion, 38%) and its more specific events[1].

In this project, human gait analysis has been divided into two major categories: kinematics and kinetics. Kinematic analysis accounts for spatio-temporal parameters such as cycle/stance/swing time, step/stride length, cadence and gait velocity but also with other measurements such as the body center of mass (CoM) and the knee rotation angle. On the other hand, kinetic measurements have been focused on the measurement of ground reaction forces (using force platforms) because of the importance of the interaction between human body and ground in the generation and modulation of our movements. The ground reaction force (GRF) can be defined as the force exerted by the ground on a body in contact with it [2] (Fig. 1a). It is important to take into account the way in which the foot strikes the ground, described by foot strike pattern term (Fig. 1b). There are three different ways: heel/mid-foot/fore-foot strike [3].

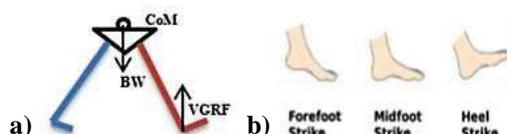


Figure 1. a) Vertical GRF and BW force depicted schematically, b) Foot Strike patterns. Image from [3]

A standard gait analysis is traditionally performed in specialized laboratories, because it requires a wide variety of expensive devices such as complex multi-camera motion capture systems, accelerometers, gyroscopes, etc. In addition, it implies strict laboratory setting that can influence the naturalness of the subject's movement [4].

The use of wearable sensors has grown in the recent years to mitigate these limitations. These approaches rely on attach motion sensors on predefined landmarks on the subject's body, to measure its motion characteristics during gait. However, these methods still require the use of markers, are time-consuming and are sometimes affected by landmark inaccuracies [5].

The high cost and availability of the gait analysis equipment together with the complexity of the set up in a laboratory environment, has evolved to the recent development of new technologies as a powerful alternative for gait analysis purposes. The development of markerless-based motion capture technologies such as Kinect offer attractive solutions to overcome the limitations described above [6], [7].

Microsoft Kinect is a depth sensor released by Microsoft for Xbox 360 which allows to be used as a motion capture system. The device consists of an infrared sensor and projector, a RGB camera, a tilt motor and a microphone array for voice recognition [8]. In addition to the color and depth acquisition, Microsoft has developed skeleton tracking functionality to enable the body motion capture [9]. Virtual reality technology of Kinect has been used to develop several tools in healthcare, mainly in physical therapy and motion rehabilitation [10].

This project aims to explore the novel sensing technology of Kinect, demonstrating how this device is able to capture gait data easily and rapidly, overcoming the limitations regarding the cost/ time/space of conventional techniques. Results obtained in kinematic and kinetic gait analysis together with key aspects of gait's technique and the incidence of injuries, are of potential interest in fields such as sports and healthcare.

2. Methodology

This project has been developed in three main parts. The first part consists of several experiments to familiarize with the device, testing the color, depth and skeletal data acquisition with Kinect and including the data pre-processing. The second part is focused in kinematics, analyzing human gait movements and displacements. The

last part of the project deals with the study of human forces, through a kinetic analysis.

2.1. Initial testing

The MATLAB Image Acquisition Toolbox (The MathWorks, Natick, MA, USA) provides direct interconnection between Kinect device and MATLAB software (Fig. 2).



Figure 2. Workflow for skeleton data acquisition using MATLAB

The device is able to capture 30 fps. Each of these frames consists of a matrix of 640x480 pixels of resolution. Depth images contain the information about the distance of each point of the scene to the sensor, where depth is codified using RGB colors (Fig. 3a). The relation between distance to the sensor and data resolution acquired with Kinect also has been tested (“resolution test”), because its importance to ensure a good data quality.

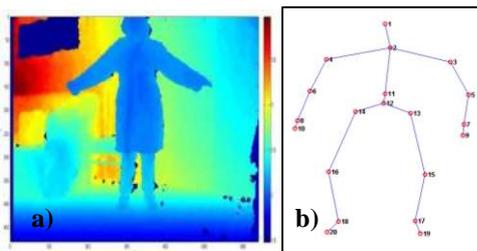


Figure 3. a) Depth Frame, and b) Skeleton Frame

Several tests have been performed to configure the skeleton tracking mode and its parameters for the skeleton data acquisition. A skeleton structure representation by 20 points has been obtained (Fig. 3b). Each point corresponds to a body joint. These joints are represented by their 3D Cartesian coordinates.

Several pre-processing strategies for joint data filtering have been tested. The final method relies on the identification of the “outlier” values of the joint coordinates.

2.2. Kinematic gait analysis using Kinect

Participants: Ten healthy volunteers were recruited to perform the experiments of this part. The dataset captured was complemented using a database from other gait study with Kinect, kindly provided by Virginia O. Andersson (Federal University of Pelotas, Brazil). This database includes skeleton raw data of 166 healthy participants, but only a selection of them has been included in the analysis.

Set Up and Data Collection: The tests for the kinematic analysis were carried out in four different centers that had treadmills (ETSEIB Biomechanics Laboratory in UPC, Eurofitness UBAE Can Dragó, CEM Marítim and Cardiology Department at Vall d’Hebron Hospital).

A MATLAB algorithm was created to enable a suitable skeleton tracking before performing the tests. Volunteers were asked to perform several tests on the treadmill at different gait speeds: slow (4 km/h) and fast walk (5.5 km/h), and at running speed of 8-10 km/h.

Data analysis was divided into three major parts:

- **Gait Event Recognition from kinematic data.** A complete and consistent gait analysis commonly requires to have segmented gait data. Two different algorithms for segmenting data into gait cycles and its specific phases within the stance and swing were proposed. Both algorithms are based on the limb displacement to automatically determine the occurrence of the gait events: (1) *gait event recognition based on the horizontal displacement between hip and foot*, and (2) *gait event recognition based on step length*.
- **Spatio-Temporal Analysis:** Corresponds to the extraction of standard gait parameters such as cycle time, step length and velocity based on their definition. For example, the step length is the distance between the heel contact of one foot and the heel contact of the opposite foot.
- **Other Feature Extraction:** This part is focused on extracting more complex gait features such as joint rotation angles and the body CoM. It constitutes an important part of the project and has been computed through an inter-segmental method, which consists on computing the body CoM through a weighted sum of the CoM of each body segment, using anthropometric data reported the literature. Other important features to consider in running efficiency have been computed (body leaning, etc.)

2.3. Gait Analysis of the Ground Reaction Forces

Participants, Set up and Data Collection: Seven volunteers were collected for this part. Force data was recorded at a sampling rate of 100Hz using two consecutive *AMTI Accugait* force platforms and specific AMTI’s software package (*NetForce*). Subjects were asked to perform three different tests: walking, running shod and running barefoot. During force acquisition, subjects were tracked with Kinect with the purpose of computing ground reaction forces using only tracked skeleton data, and compare it with the gold standard.

Data was analyzed using MATLAB. Before the analysis, a method for automatically detect the subject’s foot strike pattern was developed. Data analysis consisted of two main parts:

- **Gait analysis of GRF using force platforms:** The main features of the GRF data (e.g. force peaks, time of occurrence) were extracted. Further analysis allowed to compute the loading rate parameter (the speed at which forces are applied on our body) and the impulse of the force (cumulative force per time), using the equations proposed in the literature [11]:

$$\text{LoadingRate} = \frac{\Delta \text{GRF}}{\Delta t} \rightarrow \text{SLOPE of the GRF}$$

$$\text{Impulse} = \int \text{VGRF} dt \rightarrow \text{AREA UNDER THE CURVE}$$

- GRF estimation using skeletal data from Kinect:** A method to estimate the GRF based on the relationship between forces and acceleration during locomotion has been proposed. The acceleration of the CoM was computed to estimate the GRF [12], using Newton's 2nd Law, which relates forces and acceleration (Eq. 1).

$$\sum Force = \overline{M \cdot \vec{a}} = \overline{GRF} + \overline{M \cdot \vec{g}}$$

$$\overline{GRF_z} = M \cdot a_z + M \cdot g = M(a_z + g)$$

$$\overline{GRF_z[BW]} = \frac{a_z + g}{g}$$

M: body mass
 a_z: vertical center of mass acceleration
 g: gravitational constant (9.81m/s²)

Equation 1. Newton's 2nd law, relating acceleration with forces

The accuracy of the proposed approach using Kinect has been evaluated comparing estimated GRF to the data simultaneously registered in the force platform during tests in the laboratory.

3. Results and Discussion

Previous studies usually only reported results from kinematic or kinetic data, separately. This project considers both movement-related and force-related parameters, achieving in that sense a complete characterization of the human motion.

The gait data segmentation to automatically detect the gait events has been positively achieved through the use of both algorithms proposed.

Results from the kinematic gait analysis are presented considering spatio-temporal analysis (Table 1) and other representative kinematic features (Table 2). Averaged results obtained for the randomly selected individuals from the database are included in both tables.

SPATIO-TEMPORAL GAIT ANALYSIS						
Temporal Parameters			Spatial Parameters		Other Parameters	
Cycle Time [s]	Stance (%)	Swing (%)	Step Length [m]	Stride Length [m]	Cadence	Gait Vel. [Km/h]
1.12	62.42	37.51	0.61	1.17	104.62	3.83
(0.05)	(1.40)	(1.40)	(0.03)	(0.06)	(4.66)	(0.32)

Table 1. Spatiotemporal gait parameters. Standard statistical (max, min, mean and STD) test performed in 10 subjects

GAIT	FEATURES	EXTRACTION		
Max Flexion [degrees]	Initial Contact Flexion [deg]	Upper Body Leaning [deg]	COM distance to landing foot [m]	Center of Mass Vertical Displ. [m]
47.3534	6.1334	3.3973	0.2636	0.0473
(4.6102)	(2.2456)	(2.0639)	(0.0302)	(0.0102)

Table 2. Gait feature extraction. Same standard statistical test

Small standard deviation was obtained for all the calculations. Results are accurately consistent with data referenced on previous studies that measured these variables in gait laboratories [13]. This reveals the potential of Kinect to estimate them without the use neither laboratory conditions nor more instrumentation.

Further understanding of human motion has led to evaluate the gait differences between walking and running.

Expected differences have been found. Regarding the spatio-temporal parameters, the gait cycle time decreases with the velocity and, on the other hand, stride/step length and the cadence increases with the velocity. The upper body leaning when running was found to be higher when compared to walking, allowing to maximize the forward displacement. Some of these parameters, i.e. step length, cadence and body leaning, could be selected to study how to increase the efficiency of the performance in running. Results point that increasing the value of these parameters, contributes to achieve a higher velocity. The vertical displacement of the center of mass also plays an important role in the running technique: a good runner will try to minimize its vertical displacement (Fig. 4) because energy must be used to move forward and not upward.

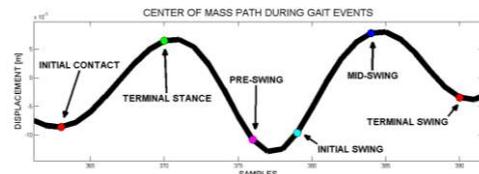


Figure 4. Center of Mass Path during locomotion

The knee joint has also been analyzed in more detail. In running, knee joint was observed to have a higher range of motion (knee flexion), reaching higher peak values and also a higher flexion value at the initial contact (Fig. 5).

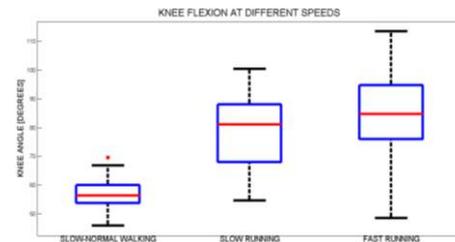


Figure 5. Knee Flexion at different speeds

Ground reaction forces

Data analysis of the ground reaction forces registered with the force platforms has been carried out to quantify the pattern of the vertical component of the ground reaction force (VGRF) and extract its main features: force magnitude peaks and its occurrence, the impulse and the loading rate parameter. Expected differences have been found across the three different tests performed (Fig. 6) in the laboratory (walking, running shod and barefoot).

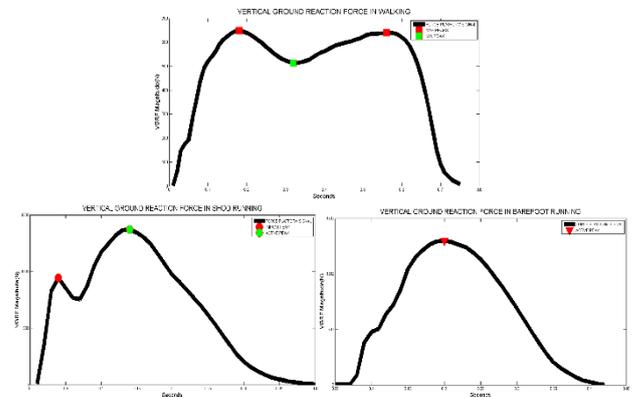


Figure 6. VGRF patterns in walking, shod and barefoot running conditions, respectively

While walking GRF exhibited two peaks, running GRF exhibited a single appreciable high magnitude peak (active peak) that appears in all the running tests. However, differences across these running tests also were appreciated: it was found that depending on the foot pattern during the contact with the ground (heel strike or non-heel-strike pattern), another smaller peak appeared, called impact peak. In heel strike running the first impact with the ground is produced because the foot hits the ground firstly with the heel (rear-foot), generating an instantaneous peak in magnitude of VGRF (impact peak). But non-heel strike pattern avoids this peak because the collision with the ground is directly produced with the mid or distal part of the foot.

Other variables from GRF data were extracted, obtaining differences between walking and running tests (Table 3).

	GRF cycle time [s]	GRF Magnitude [BW]	Loading Rate [BW]	Force Impulse [BW/s]
WALKING	0.83	1.07	8.16	0.63
Mean(STD)	(0.05)	(0.02)	(1.30)	(0.04)
RUNNING	0.45	2.05	43.89	0.38
Mean(STD)	(0.08)	(0.21)	(24.24)	(0.02)

Table 3: GRF features extraction in walking and running

Loading Rate parameter is directly correlated with an increasing risk of injuries[14]. At single glance, what draws the attention in loading rate parameter is the highest standard deviation exhibited in running, but it can be perfectly reasoned with the Fig. 7.

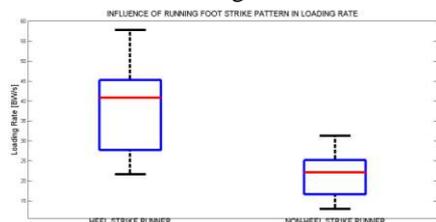


Figure 7: LR parameter and its influence with footstrike pattern (heel strike and non-heel strike runner).

The loading rate (LR) extracted in heel strike runners was found to be higher and with a wide range of variability in comparison with the LR exhibited in non-heel strike runners. As barefoot runners tend to strike with the forefoot/midfoot, they exhibit lower LR and lower stress on the lower-limb joints. That is why, nowadays, alternative running conditions such as barefoot running are becoming more popular across the runners.

One of the novelties that this project has introduced is the characterization of the magnitude peaks of the GRF without using force plates. GRF estimated from Kinect sensor measurements show a good correlation with simultaneously registers in the force plates (Fig. 8).

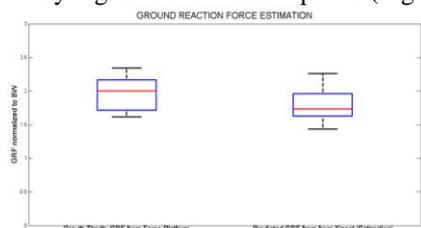


Figure 8. Comparison between estimated GRF magnitude using Kinect and the ground truth magnitude from force plates

Although in most of the cases the force magnitude estimated with Kinect was underestimated, the mean error between ground truth data and the estimated GRF was found to be about 10% in average. The worst estimation was found to have a 73% of similarity, but in several cases the similarity achieved was higher than 95%.

4. Conclusions

The main purpose of this project has been to extract potential gait measures that could be useful in both clinical and sport context using a markerless system, the Kinect sensor. According to this aim, a good gait characterization has been achieved by combining the results obtained in both kinematic/kinetic experiments, overcoming in the cost and space limitations of traditional gait analysis. Time-consumption limitations have also been improved, because of the algorithms developed to automatically extract gait features.

The challenge of estimating gait forces using only Kinect sensor has been positively achieved, encouraging further research for the use of this technology as an alternative when no equipment or laboratory conditions are available.

Acknowledgements

I would like to thank deeply all those persons that have contributed to forge ahead this project. Thanks to Virginia Anderson for the gait database provided and to the centers and participants that have collaborated in the project.

References

- [1] M. W. Whittle, "Gait analysis: an introduction," *Library (Lond.)*, vol. 3, pp. 1–220, 2002.
- [2] T. Marasovič, M. Cecič, and V. Zanchi, "Analysis and interpretation of ground reaction forces in normal gait," *WSEAS Trans. Syst.*, vol. 8, no. 9, pp. 1105–1114, 2009.
- [3] T. F. Novacheck, "The biomechanics of running: Review Paper," *Gait Posture*, vol. 7, pp. 77–95, 1998.
- [4] A. Muro-de-la-Herran, B. García-Zapirain, and A. Méndez-Zorrilla, "Gait analysis methods: An overview of wearable and non-wearable systems, highlighting clinical applications," *Sensors (Switzerland)*, vol. 14, no. 2, pp. 3362–3394, 2014.
- [5] W. Tao, T. Liu, R. Zheng, and H. Feng, "Gait analysis using wearable sensors," *Sensors*, vol. 12, pp. 2255–2283, 2012.
- [6] R. M. Wham, "Three-Dimensional Kinematic Analysis Using the Xbox Kinect," p. 23, 2012.
- [7] E. E. Stone and M. Skubic, "Unobtrusive, continuous, in-home gait measurement using the microsoft kinect," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 60, no. 10, pp. 2925–2932, 2013.
- [8] Z. Zhang, "Microsoft kinect sensor and its effect," *IEEE Multimed.*, vol. 19, no. 2, pp. 4–10, 2012.
- [9] a Blake, "Real-time human pose recognition in parts from single depth images," *IEEE Conf. Comput. Vis. Pattern Recognit. (CVPR)*, 2011.
- [10] Y. Mao, P. Chen, L. Li, and D. Huang, "Virtual reality training improves balance function," vol. 9, no. 0, 2014.
- [11] L. Ballaz, M. Raison, and C. Detrembleur, "Decomposition of the vertical ground reaction forces during gait on a single force plate," *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.*, vol. 13, 2013.
- [12] S. Winiarski and A. Rutkowska-Kucharska, "Estimated ground reaction force in normal and pathological gait," *Acta Bioeng. Biomech.*, vol. 11, no. 1, pp. 53–60, 2009.
- [13] T. Oberg, a Karsznia, and K. Oberg, "Basic gait parameters: reference data for normal subjects, 10-79 years of age.," *J. Rehabil. Res. Dev.*, vol. 30, no. 2, pp. 210–223, 1993.
- [14] J. Perttunen, *Foot loading in normal and pathological walking*. 2002.

Changes in the white matter of the cerebello-thalamo-cortical network in essential tremor

A. López-del Río¹, J.P. Romero², E. Rocón³, J. Benito-León⁴, J.A. Pineda-Pardo^{1,5}

¹ Laboratory of Neuroimaging, Centre for Biomedical Technology, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, Spain

² Facultad de Ciencias Biosanitarias, Universidad Francisco de Vitoria, Madrid, Spain

³ Neural and Cognitive Engineering Group, CAR, UPM-CSIC, Madrid, Spain

⁴ Departamento de Neurología, Hospital 12 de Octubre, Madrid, Spain

⁵ CINAC, HM Puerta del Sur, Hospitales de Madrid and CEU-San Pablo University, Madrid, Spain

Abstract

Essential tremor (ET) is a neurological disorder affecting 5% of the world's population above 65 years. Although it is the most common pathological tremor, its underlying biological mechanisms are not completely known to date, making immensely difficult its differential diagnosis. Diffusion tensor imaging (DTI), which is sensitive to microscopic changes in the white matter, may constitute a meaningful leap towards a more precise ET diagnosis based on quantitative neuroimaging. The main aim of this study is the characterization of ET through the study of white matter anisotropy. Specifically, the integrity of anatomical connections is studied between different regions of the cerebello-thalamo-cortical network, which is directly related to generation of tremors, including primary motor cortex, premotor cortex, primary somatosensory cortex, thalamus and cerebellum.

1. Introduction

Essential tremor (ET) is one of the most common neurological disorders in adults and the most common type of tremor [1]. The estimated prevalence of this pathology in the general population is of 0.4%, but this percentage increases to 4,6-14,3% among people above 65 years, affecting more to men than women [2].

Traditionally, this pathology has been associated with kinetic and postural tremor mainly involving the upper limbs, this being its main difference with Parkinson's disease (PD), characterized by rest tremor. The pathophysiology of ET is only partially known, but evidence points to the involvement of the areas connected by the cerebello-thalamo-cortical network [3]. It has been reported the hyperactivity of certain groups of neurons in the cerebellum, the red nucleus and the ventral intermediate nucleus (VIM) in the thalamus when tremor is present [4, 5]. In addition, transcranial magnetic stimulation (TMS) of the primary motor cortex and deep brain stimulation (DBS) of the VIM seem to reset the main symptoms of this disease [3]. The GABA hypothesis suggests the alteration of the GABAergic system, especially in the cerebellum, as trigger of a process which spreads through the cerebello-thalamo-cortical pathway, ending up with tremor generation [6]. Since ET main symptoms are very similar in other tremorgenic diseases, it is very common its misdiagnosis. In fact, it is estimated that 30-50% ET cases are wrongly diagnosed as PD or another type of tremor [7], which usually leads to inaccurate

therapeutic decisions, posing a risk for the patient and implying an unnecessary increase in health expenditure as the treatment is very specific for each tremor. Novel approaches based on the assessment of objective neuroimaging information may constitute a meaningful leap towards a more precise diagnosis of this disease.

Diffusion-weighted imaging (DWI) is a magnetic resonance imaging technique used for the study of axonal organization and white matter integrity. However, compared to other movement disorders, not many studies of ET within the framework of DWI have been published [8]. Most of studies described white matter changes [9-15] addressing the problem from different approaches: through whole brain voxel-to-voxel comparison [9, 12, 14], or using regions of interest (ROIs) involved in the tremor network [10, 11, 13, 15]. Those studies which studied the cerebellum found diffusion changes in the inferior cerebellar peduncle, the superior cerebellar peduncle and/or the dentate nucleus [9, 10, 12, 14]. Changes in diffusion were also noticed in other regions such as the pons [9, 14], the thalamus [14] and the red nucleus [9, 13]. Correlation between changes in diffusion parameters and clinical characteristics of ET patients such as pathology duration [10, 14] or severity [14] has been studied with no success. Prodoehl et al. (2013) proposed the clinical use of diffusion imaging, since a combination of ROIs and diffusion parameters enabled them to differentiate between PD, atypical parkinsonism and ET [15].

Anisotropic water diffusion is related to the organized distribution of white matter axonal fibres and their integrity. These fibres are mainly composed of longitudinally oriented structures (axonal membrane, myelin, neurofilaments, microtubules) that could impart barriers to diffusion. That is the reason why DTI is a very important tool to understand structural changes associated to white matter degeneration, specifically, variations in the scalar parameters derived from the shape and volume of the diffusion tensor. However, caution must be raised, since many factors are involved in the degree of diffusion restriction, making very difficult to establish the particular aspects altered [16].

The aim of this study is the characterisation of ET through the analysis of white matter integrity, covering by this concept any possible variation of its microstructure which

could lead to a change in the diffusivity of the water molecules that travel inside. Specifically, integrity of white matter tracts belonging to the cerebello-thalamo-cortical network will be studied: those which connect thalamus with ipsilateral motor cortex (premotor, primary motor and primary somatosensory) and with contralateral cerebellum.

To carry out this study, DWI images will be used. These images will be pre-processed using neuroimaging analysis tools (FSL, Freesurfer). Once they are pre-processed, Ball and Stick diffusion model [17] will be adjusted, and white matter tracts will be reconstructed using probabilistic tractography techniques. Then, integrity along identified tracts will be quantified through different metrics derived from diffusion tensor images: fractional anisotropy (FA), mean diffusivity (MD), radial diffusivity (RD) and axial diffusivity (AD). Finally, a statistical analysis will be performed in order to detect axonal integrity differences between healthy controls and individuals with essential tremor on obtained tractography maps.

2. Materials and methods

2.1. Sample selection

The sample comprised twenty-one healthy controls (mean age=60±13 years, 53.4% females) and twenty-three subjects diagnosed with ET (mean age=63±13 years, 52% females, average duration of tremor=8414±6019 ms). Written informed consent was obtained in accordance with regulations of Fundación CIEN-Fundación Reina Sofía (Madrid). The local ethical committee approved the study.

2.2. MRI data acquisition

Each participant was scanned on a 3T General Electric MR scanner (General Electric Healthcare, Fairfield, CT), using a whole-body radiofrequency (RF) coil for signal excitation and quadrature 8-channel brain coil for reception. The acquisition protocol consisted of: 1) high resolution 3D T1-weighted with a fast spoiled gradient echo sequence and parameters: TR/TE/flip angle = 9.1ms/4.1ms/10°, FoV = 256 mm, matrix = 256 x 256, slice thickness = 1 mm and NEX = 1; 2) diffusion weighted images (DWI) in 45 non-collinear encoding directions and a b value of 1000 s/mm², and three additional images with no diffusion sensitization b = 0 s/mm² (b0) using a single-shot spin echo echo-planar sequence with parameters: TR/TE = 12700/88.3 ms, FoV = 240 mm, matrix = 96 x 96, slice thickness = 2.4 mm and NEX=2; and 3) two gradient echo images, with the same spatial resolution than DWI, and with different TE, 6.5 and 8.5 ms, TR of 600ms and flip angle of 45°.

2.3. Data pre-processing

All the image processing was made with FMRIB Software Library [18] and Freesurfer. DWI were pre-processed following classical guidelines. Preprocessing steps included motion correction through rigid-body realignment using McFlirt-FSL, eddy current correction using EDDY-FSL and field inhomogeneity distortion artifacts correction using FUGUE-FSL. Also, non-brain tissue was removed using the brain extraction tool BET-FSL.

We selected several regions of interest (ROIs) of the cerebello-thalamo-cortical system. These regions were taken from three different atlases. Premotor cortex, pre-central gyrus (primary motor cortex) and post-central gyrus (primary somatosensory cortex) were selected from the Jülich atlas [19-22]. Thalamus was selected from the Harvard-Oxford atlas [23, 24] and a cerebellum mask was selected from the Cerebellum atlas [25]. These ROIs were defined in MNI standard space with 2mm isotropic resolution.

The three b0 images were realigned using rigid registration and averaged. Then, non-linear transformation between DWI space and the 2mm MNI standard template was computed. For that, we concatenated the following transformations: affine transformation between averaged b0 and T1-weighted images, affine transformation between T1-weighted native images and T1-weighted MNI template with 2mm isotropic resolution, and non-linear warping between T1-weighted images and MNI template using FNIRT-FSL. The concatenated transformation was inverted to transform the ROIs into DWI space.

Next a diffusion tensor model was fitted within each voxel of the brain, in order to generate scalar measures of the tensor shape and volume: fractional anisotropy (FA), mean diffusivity (MD), radial diffusivity (RD) and axial diffusivity (AD) maps. In addition, local fibre orientations were estimated within each voxel on the brain using Bayesian inference on the ball and stick model [17].

Finally, probabilistic tractography was performed using “Two masks – symmetric” method and connectivity distribution maps between thalamus (Thal), primary motor cortex (M1), premotor cortex (PreM) and primary somatosensory cortex (SM) (ipsilateral) and cerebellum (Cerb) (contralateral) (see Figure 1).

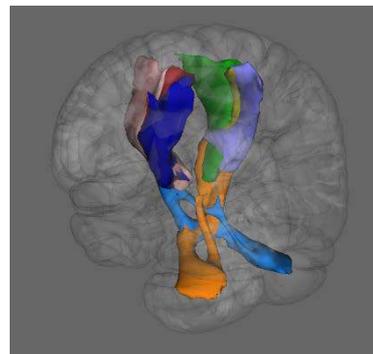


Figure 1. Posterior view of binary masks of analysed tracts

2.4. Post-processing

Tractography maps of the healthy controls were normalized to the standard MNI template and afterwards, a group mask per tract was created by preserving only voxels with a non-zero probability of finding a tract in at least 80% of the subjects. Two different types of group comparisons were performed.

1. *Tract-based analysis*: group tract masks were back projected to subject native space, and mean FA, MD, AD and RD were extracted for each subject. These values were then compared between groups

2. *Voxel-based analysis.* DTI scalars together with the probability maps of finding a connection were compared voxel-wise within the tractography group masks. Nonparametric permutation statistical comparison was performed using FSL-randomize with 5000 permutations. The significance threshold for between group differences was set at $p < 0.05$ corrected for multiple comparisons.

3. Results

3.1. Tract-based analysis

Patients with ET showed significant (p -value corrected < 0.05) increases in AD and MD. AD increases were seen on thalamo-cortical tracts in both hemispheres, specifically tracts from both thalamus to the premotor and primary motor cortex (ipsilateral). In addition, AD in the connections between thalamus and contralateral cerebellum was also increased. These changes were accompanied with an increase in MD between right thalamus and motor cortex (ipsilateral) and cerebellum (contralateral) (see Figure 2). No significant changes in FA were observed. However, there is a clear tendency towards an increase of RD.

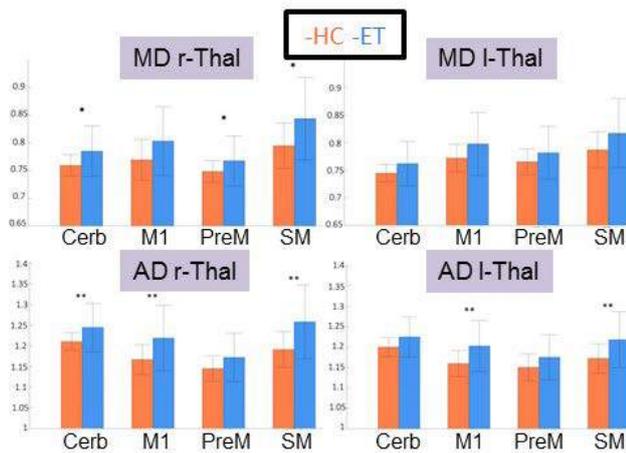


Figure 2. Group significant differences in tract-based analysis of MD and AD ($10^3 \text{mm}^2/\text{s}$). ** significant value, $p_{cor} < 0.05$; * significant value, $p_{cor} < 0.1$. HC=healthy controls; l=left; r=right.

3.2. Voxel-based analysis

Comparing with the control subjects, patients with ET showed significantly increased AD (p corrected < 0.05) in the connections between thalamus and primary motor cortex (bilateral), thalamus and somatosensory cortex (bilateral), thalamus and premotor cortex (left hemisphere), as well as in the connection between left thalamus and the right cerebellum. No significant changes were found in FA, MD or RD (see Figure 3).

4. Conclusions

This study provides *in vivo* evidence for axonal disintegration of white matter fibers in patients with ET, specifically in the tracts connecting the thalamus with primary motor cortex, cerebellum and primary somatosensory cortex. Moreover, this study shows that FA change by its own it's not enough to characterize white matter degeneration on ET.

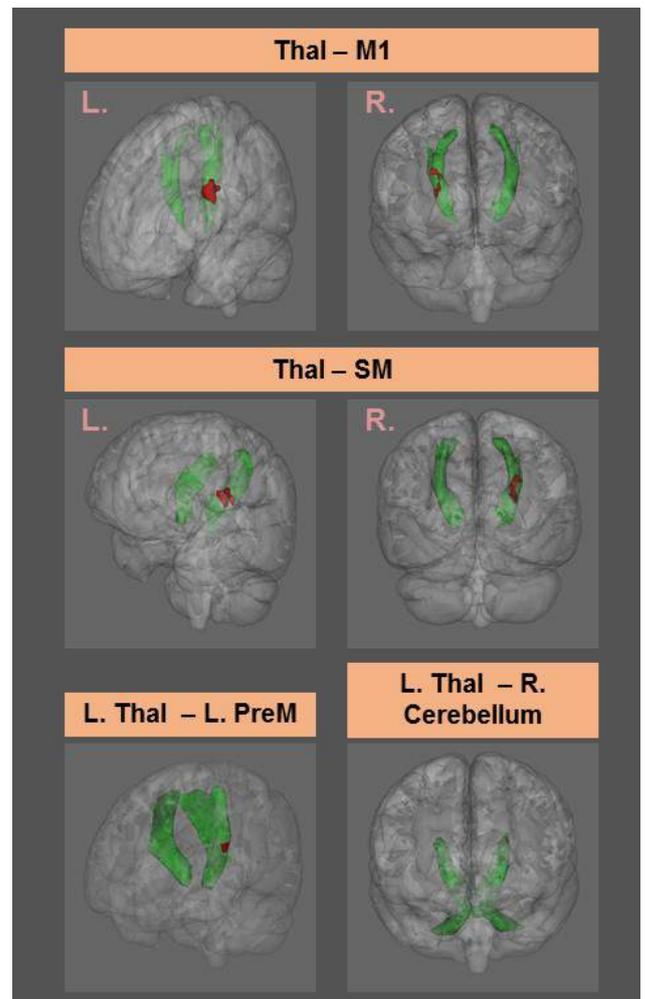


Figure 3. Regions with a significant increase ($p_{cor} < 0.05$) in voxel-based analysis. L.=left; R.=right.

The alteration in the white matter of the cerebello-thalamo-cortical network supports the GABA hypothesis [6], suggesting the spread of the cerebellum degeneration through anatomical connections, affecting to the tracts themselves. This would also connect these results with those obtained by most of ROI-based analysis, which found alterations in structures present in this network [10-13]. A possible correlation could be established between the laterality of the patients and the higher degree of affection of the right hemisphere white matter. Since all the sample subjects were right-handed, the motor training of the dominant hand could have lead to an increase of integrity and myelination of tracts of the hemisphere that controls it (the left one). In other words, white matter would degenerate similarly in both hemispheres, but the one in the left hemisphere would experience a constant and widespread regeneration.

The results of this study are in line with those obtained by Acosta-Cabronero et al. (2010) for the characterisation of Alzheimer's disease [26] and by Saini et al. (2012) for the ET [14]. They conclude that using exclusively the variation of FA as a marker of axonal integrity could be insufficient and inadequate, since it may not be sensitive to some behaviours of the diffusion tensor, which could lead to misleading conclusions.

As for voxel-based statistical analysis, clusters with an increase of AD were detected at approximately the same height of cortico-thalamic tracts in both hemispheres, corresponding to the posterior limb of internal capsule in the corticospinal tract. This supports prior studies that pointed this area as significantly affected [14].

White matter degeneration is a complex process with so many factors involved that it is not possible to predict its microscopic behaviour. It would be necessary a correlation with neuropathological data in order to discover the exact underlying mechanisms which are the cause of this alteration.

References

- [1] Benito-León J, Louis ED. Essential tremor: emerging views of a common disorder. *Nat Clin Pract Neurol* 2006; 2: 666–78.
- [2] Louis ED, Ferreira JJ. How common is the most common adult movement disorder? Update on the worldwide prevalence of essential tremor. *Mov Disord* 2010; 25: 534–41.
- [3] Hallett M. Tremor: Pathophysiology. *Parkinsonism and Related Disorders* 20S1 (2014) S118–S122.
- [4] Wills, A., Jenkins, I., Thompson, P., Findley, L. and Brooks, D. (1994). Red nuclear and cerebellar but no olivary activation associated with essential tremor: A positron emission tomographic study. *Annals of Neurology*, 36(4), pp.636-642.
- [5] Hua, S. (2004). Posture-Related Oscillations in Human Cerebellar Thalamus in Essential Tremor Are Enabled by Voluntary Motor Circuits. *Journal of Neurophysiology*, 93(1), pp.117-127.
- [6] Lewis, M., Du, G., Sen, S., Kawaguchi, A., Truong, Y., Lee, S., Mailman, R. and Huang, X. (2011). Differential involvement of striato- and cerebello-thalamo-cortical pathways in tremor- and akinesic/rigid-predominant Parkinson's disease. *Neuroscience*, 177, pp.230-239.
- [7] Jain, S., Lo, S. and Louis, E. (2006). Common Misdiagnosis of a Common Neurological Disorder. *Archives of Neurology*, 63(8), p.1100.
- [8] Sharifi, S., Nederveen, A., Booij, J. and van Rootselaar, A. (2014). Neuroimaging essentials in essential tremor: A systematic review. *NeuroImage: Clinical*, 5, pp.217-231.
- [9] Shin, D., Han, B., Kim, H. and Lee, P. (2008). Diffusion Tensor Imaging in Patients With Essential Tremor. *American Journal of Neuroradiology*, 29(1), pp.151-153.
- [10] Nicoletti, G., Manners, D., Novellino, F., Condino, F., Malucelli, E., Barbiroli, B., Tonon, C., Arabia, G., Salsone, M., Giofre', L., Testa, C., Lanza, P., Lodi, R. and Quattrone, A. (2010). Diffusion tensor MRI changes in cerebellar structures of patients with familial essential tremor. *Neurology*, 74(12), pp.988-994.
- [11] Klein, J., Lorenz, B., Kang, J., Baudrexel, S., Seifried, C., van de Loo, S., Steinmetz, H., Deichmann, R. and Hilker, R. (2010). Diffusion tensor imaging of white matter involvement in essential tremor. *Human Brain Mapping*, 32(6), pp.896-904.
- [12] Jia, L., Jia-lin, S., Qin, D., Qing, L. and Yan, Z. (2010). A Diffusion Tensor Imaging Study in Essential Tremor. *Journal of Neuroimaging*, 21(4), pp.370-374.
- [13] Buijink, A., Caan, M., Tijssen, M., Hoogduin, J., Maurits, N. and van Rootselaar, A. (2012). Decreased Cerebellar Fiber Density in Cortical Myoclonic Tremor but Not in Essential Tremor. *Cerebellum*, 12(2), pp.199-204.
- [14] Saini, J., Bagepally, B., Bhatt, M., Chandran, V., Bharath, R., Prasad, C., Yadav, R. and Pal, P. (2012). Diffusion tensor imaging: Tract based spatial statistics study in essential tremor. *Parkinsonism & Related Disorders*, 18(5), pp.477-482.
- [15] Prodoehl, J., Li, H., Planetta, P., Goetz, C., Shannon, K., Tangonan, R., Comella, C., Simuni, T., Zhou, X., Leurgans, S., Corcos, D. and Vaillancourt, D. (2013). Diffusion tensor imaging of Parkinson's disease, atypical parkinsonism, and essential tremor. *Movement Disorders*, 28(13), pp.1816-1822.
- [16] Jones, D., Knösche, T. and Turner, R. (2013). White matter integrity, fiber count, and other fallacies: The do's and don'ts of diffusion MRI. *NeuroImage*, 73, pp.239-254.
- [17] Behrens, T., Berg, H., Jbabdi, S., Rushworth, M. and Woolrich, M. (2007). Probabilistic diffusion tractography with multiple fibre orientations: What can we gain?. *NeuroImage*, 34(1), pp.144-155.
- [18] Jenkinson M, Beckmann CF, Behrens TE, Woolrich MW, Smith SM. FSL. *NeuroImage*, 62:782-90, 2012.
- [19] Geyer, S. (2004). The microstructural border between the motor and the cognitive domain in the human cerebral cortex. *Adv Anat Embryol Cell Biol.*, 174:I-VIII, pp.1-89.
- [20] Geyer, S., Ledberg, A., Schleicher, A., Kinomura, S., Schormann, T., Bürgel, U., Klingberg, T., Larsson, J., Zilles, K. and Roland, P. (1996). Two different areas within the primary motor cortex of man. *Nature*, 382(6594), pp.805-807.
- [21] Geyer, S., Schormann, T., Mohlberg, H. and Zilles, K. (2000). Areas 3a, 3b, and 1 of Human Primary Somatosensory Cortex. *NeuroImage*, 11(6), pp.684-696.
- [22] Grefkes, C., Geyer, S., Schormann, T., Roland, P. and Zilles, K. (2001). Human Somatosensory Area 2: Observer-Independent Cytoarchitectonic Mapping, Interindividual Variability, and Population Map. *NeuroImage*, 14(3), pp.617-631.
- [23] Frazier, J., Chiu, S., Breeze, J., Makris, N., Lange, N., Kennedy, D., Herbert, M., Bent, E., Koneru, V., Dieterich, M., Hodge, S., Rauch, S., Grant, P., Cohen, B., Seidman, L., Caviness, V. and Biederman, J. (2005). Structural Brain Magnetic Resonance Imaging of Limbic and Thalamic Volumes in Pediatric Bipolar Disorder. *AJP*, 162(7), pp.1256-1265.
- [24] Desikan, R., Ségonne, F., Fischl, B., Quinn, B., Dickerson, B., Blacker, D., Buckner, R., Dale, A., Maguire, R., Hyman, B., Albert, M. and Killiany, R. (2006). An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *NeuroImage*, 31(3), pp.968-980.
- [25] Diedrichsen, J., Balsters, J., Flavell, J., Cussans, E. and Ramnani, N. (2009). A probabilistic MR atlas of the human cerebellum. *NeuroImage*, 47, p.S122.
- [26] Acosta-Cabrero, J., Williams, G., Pengas, G. and Nestor, P. (2009). Absolute diffusivities define the landscape of white matter degeneration in Alzheimer's disease. *Brain*, 133(2), pp.529-539.

Cuantificación de enfisema pulmonar a partir de imágenes de TAC para la determinación de calcio coronario

D. Bermejo Peláez^{1,2}, R. San José Estépar³, S. España Palomares^{4,5}, G. Peces-Barba^{5,6}, B. García-Cosío^{5,7}, A. Agustí^{5,8,9}, J. Ruiz-Cabello^{4,5}, M.J Ledesma-Carbayo^{1,2}

¹ Biomedical Image Technologies, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España; ² CIBER-BBN, Madrid, España

³ Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, United States

⁴ Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, Madrid, España; ⁵ CIBER-ES, Madrid, España

⁶ Instituto de Investigación Sanitaria - Fundación Jiménez Díaz, Madrid, España

⁷ Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca, España

⁸ Thorax Institute, Hospital Clínic, Barcelona, España; ⁹ Universitat de Barcelona, Barcelona, España

Resumen

El objetivo principal de este trabajo es proporcionar herramientas de cuantificación de enfisema pulmonar, fenotipo principal de la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC), a partir de imágenes de Tomografía Computarizada (TAC) para la cuantificación de calcio coronario (CCC).

La evaluación visual de las imágenes de TAC en estudios de gran escala supone una gran carga de trabajo y una cierta subjetividad. Por esta razón, herramientas automáticas y objetivas pueden facilitar significativamente dichos estudios.

Existen herramientas ampliamente aceptadas para cuantificar las enfermedades pulmonares a partir de imágenes de TAC pulmonar, pero no han sido diseñadas ni validadas sobre imágenes de TAC para CCC, debido a que estas imágenes no son óptimas para la determinación de la patología pulmonar ya que sus protocolos de adquisición no contemplan el registro del pulmón completo. Este hecho supone un obstáculo para la caracterización de enfermedades pulmonares en estas imágenes impidiendo el estudio de comorbilidad de enfermedades cardiovasculares y pulmonares. En este artículo se presenta la validación en esta tipología de imágenes de herramientas de cuantificación densitométrica (%LAA-950, P15th) de enfisema, y una metodología para el subtipado de enfisema, capaz de clasificar hasta seis clases de tejido diferentes con una precisión de clasificación del 0.67, valor notablemente alto teniendo en cuenta lo ambicioso de la clasificación.

Estas herramientas han sido validadas en un conjunto de 270 imágenes de TAC para CCC.

1. Introducción

La Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) es actualmente la cuarta causa de muerte en el mundo, y será la tercera en unos años dada su creciente prevalencia, lo que ha supuesto un creciente interés en estudios poblacionales que permitan entender mejor su patofisiología y alternativas terapéuticas. La EPOC está caracterizada por una limitación persistente del flujo de aire. Se puede dividir en dos fenotipos principales: la bronquitis crónica y el enfisema pulmonar, caracterizado por la pérdida de la elasticidad pulmonar y el agrandamiento anormal de los espacios aéreos distales a los bronquiolos terminales, juntamente con una destrucción de las paredes alveolares y de los lechos capilares. La progresión de enfisema tradicionalmente ha sido evaluada mediante técnicas espirométricas (FEV1),

aunque hoy en día se considera un parámetro no específico y poco sensible en los estadios tempranos de la enfermedad.

Los cambios en la densidad pulmonar, y por tanto, la presencia y progresión del enfisema, pueden ser medidos usando tomografía axial computarizada (TAC) [1]. El análisis densitométrico de TAC pulmonar está ampliamente aceptado como una alternativa de medida de enfisema pulmonar más específica y sensible en estudios in vivo que el FEV1 [2].

Diversos parámetros derivados de la distribución del histograma de las densidades de los vóxeles de la imagen TAC pulmonar se han propuesto como medidas válidas y precisas de enfisema [3], siendo los basados en umbrales de la intensidad de cada vóxel y los basados en percentiles los más comunes en el estudio de enfisema. Este trabajo implementa y valida en imágenes de TAC para CCC los biomarcadores porcentaje de área de baja atenuación a un umbral de -950 HU (%LAA-950) y el percentil 15 de la distribución del histograma (P15th).

Aunque el análisis densitométrico proporciona medidas válidas para la caracterización de enfisema, el análisis basado en patrones de textura de las imágenes de TAC es también otro enfoque válido.

Existen patrones radiológicos prototípicos del tejido enfisematoso correspondiente a enfisema centrilobular, paraseptal y panlobular. Estos patrones llevan a una clasificación de seis patrones y tipos de tejido enfisematoso: tejido normal (NT), enfisema paraseptal (PS), panlobular (PL), y centrilobular leve, moderado y severo (CL1,CL2,CL3). En la Figura 1 se muestran ejemplos de imágenes de TAC de cada una de las clases descritas, con sus correspondientes patrones radiológicos.

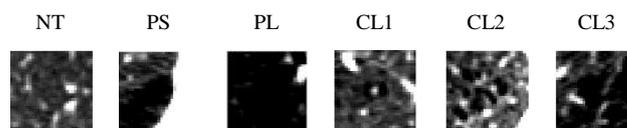


Figura 1. Ejemplo de regiones de los distintos patrones de enfisema a clasificar, en una ventana de [-945,700] (HU). Regiones de tamaño de 31x31 píxeles.

La metodología implementada y validada se basa en la propuesta por C. S. Mendoza et al. [4]. Esta metodología se fundamenta en técnicas de reconocimiento de patrones y de aprendizaje automático supervisado. El sistema de aprendizaje etiqueta regiones de imágenes de TAC, clasificándolas como alguna de las clases de enfisema posibles.

Las características analizadas para realizar el subtipado se basan en las distribuciones de intensidades locales de la imagen, estimadas a partir de histogramas locales.

2. Métodos

El sistema para la cuantificación de enfisema pulmonar en imágenes de TAC se puede dividir en tres grandes bloques. En primer lugar se lleva a cabo una segmentación pulmonar, con el fin de identificar la zona de interés para su posterior análisis. Una vez realizada la segmentación, se llevará a cabo una cuantificación densitométrica y una clasificación o subtipado de enfisema, discerniendo entre los diferentes patrones en las imágenes de TAC.

2.1. Segmentación

Antes de llevar a cabo una cuantificación del parénquima pulmonar, éste ha de ser segmentado con el fin de analizar únicamente los vóxeles que representan el pulmón. Se ha empleado un algoritmo automático para la segmentación del parénquima pulmonar [5], donde la imagen es preprocesada mediante un filtro de mediana y umbralizada usando el método de Otsu. A la imagen binaria resultante se le aplicará un cierre morfológico y se identificarán las estructuras correspondientes a vía aérea mediante técnicas de crecimiento de regiones y componentes conexas para que éstas sean eliminadas de la máscara final.

2.2. Cuantificación densitométrica

Este trabajo pretende asegurar la validez de los biomarcadores densitométricos en imágenes de TAC para CCC que no incluyen el pulmón completo. Los biomarcadores desarrollados son el porcentaje de área de baja atenuación, considerándose baja atenuación todos aquellos valores de intensidad por debajo de -950 HU, (%LAA-950), y el percentil 15 (P15th), parámetros que según la literatura presentan mayor correlación con las pruebas funcionales respiratorias.

Para calcular el %LAA-950, se recorren todos los bins que componen el histograma de intensidad de la imagen una vez aplicada la máscara del parénquima pulmonar. Se contabilizarán y se sumarán todas las frecuencias correspondientes a los bins menores que el umbral, y se dividirá dicha acumulación entre el número total de vóxeles, pudiendo así calcular el porcentaje de vóxeles con un valor menor que el umbral. Este valor corresponde al porcentaje de enfisema.

Respecto al cálculo del percentil 15 del histograma, se recorren todos los bins del histograma, y se calcula a cuál de ellos le corresponde una frecuencia relativa del 15 %. La posición del bin en cuestión corresponderá al P15th.

2.3. Subtipado de enfisema

Definición de la ROI

La metodología para el subtipado de enfisema está basada en el etiquetado de regiones de interés (ROIs) bidimensionales. La definición de la extensión física de dichas regiones es crítica para el éxito de la clasificación, ya que una ROI demasiado pequeña puede no contener un lóbulo secundario completo, y una ROI demasiado grande puede corresponder a una región con dos clases de tejidos diferentes. Un tamaño consistente con la extensión de los lóbulos secundarios es el propuesto por L. Sørensen et al. [6] – 24,18x24,18 mm².

Extracción de características

La discriminación entre diferentes patrones de enfisema y caracterización de la naturaleza de las diferentes clases de enfisema se puede basar en las distribuciones locales de intensidad. Un método sofisticado para estimar las funciones de densidad es el conocido como Estimación Kernel de la función de Densidad (KDE). Sea (x_1, x_2, \dots, x_n) un conjunto de n muestras independientes de una distribución con una función de densidad desconocida f . Nuestro objetivo es la estimación de la forma de dicha función. Su estimador kernel de la función de densidad es:

$$\hat{f}_h(x) = \frac{1}{nh} \sum_{i=1}^n K\left(\frac{x - x_i}{h}\right) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n K_h(x - x_i)$$

, donde $K(\cdot)$ es la función kernel, que en general es la función de densidad continua Gaussiana, unimodal y simétrica alrededor de 0. Por otro lado, n es el tamaño de la muestra y h se conoce como el parámetro de suavizado o ancho de banda. Este trabajo ha implementado la metodología propuesta por Botev et al. [7] para determinar el valor óptimo del ancho de banda.

Clasificación

La función de densidad estimada mediante KDE sirve como representación de una ROI a analizar. Es la característica usada y comparada para llevar a cabo la clasificación entre todas las clases posibles de enfisema.

Para clasificar una nueva ROI usamos un clasificador KNN. Los parámetros del clasificador serán aquellos que maximicen el éxito de clasificación usando una técnica de búsqueda en rejilla para los diferentes parámetros: función distancia, número de vecinos y algoritmo de ponderación. El clasificador KKN calcula la distancia entre la muestra a clasificar y cada muestra de la base de datos de entrenamiento, y es clasificada en función a las clases a las que pertenecen sus k vecinos más cercanos.

Cuantificación del pulmón completo

Para extender el análisis de una ROI aislada a una cuantificación de un pulmón completo, es necesario una extracción de ROIs del parénquima pulmonar. Una vez que cada vóxel perteneciente al parénquima pulmonar ha sido clasificado perteneciendo a una de las seis clases de enfisema estudiadas, es necesario un criterio para poder transformar esa etiqueta en una medida global. En este

caso, se usa la llamada área de clase relativa (RCA). Si $|S|$ es el número de vóxeles en la máscara del pulmón segmentado S , $w(\mathbf{x}_i)$ es la etiqueta asignada al vóxel \mathbf{x}_i , y w_i es una de las seis clases de estudio, se puede definir el área de clase relativa como:

$$RCA_{w_i} = \frac{1}{|S|} \sum_{x_i \in S} \delta(w_i - i)$$

, siendo $\delta(\cdot)$ la función delta de Kronecker.

3. Experimentos y Resultados

Se han seleccionado de forma aleatoria 270 imágenes de TAC para CCC de un estudio en humanos de aterosclerosis y su relación con la EPOC, dirigido por el Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC). Sobre estas imágenes han sido validadas las herramientas desarrolladas para la cuantificación y subtipado de enfisema. Por otro lado, el conjunto de prueba de parches que conforman la base de datos de entrenamiento del algoritmo de clasificación para el subtipado de enfisema ha sido seleccionado de un subconjunto de 267 estudios de TAC pulmonar, donde neumólogos experimentados han clasificado manualmente las regiones correspondientes a cada clase de tejido, consiguiéndose así un total de 1337 muestras. Esta base de datos de entrenamiento es una de las más grandes usadas para la validación de detección de enfisema usando un enfoque basado en texturas. Estas muestras son datos del estudio COPDGene.

3.1. Cuantificación densitométrica

Primeramente se validó la herramienta en un estudio en un entorno controlado, compuesto por 21 sujetos, 12 controles y 9 con enfisema. En la Figura 2 y Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos.

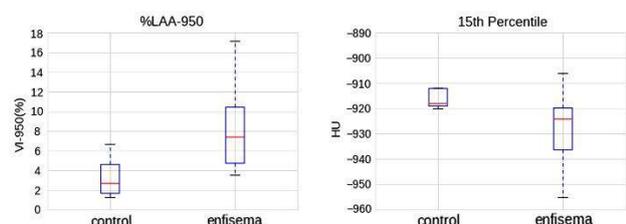


Figura 2. Diferencias del %LAA-950 y P15th entre sujetos control y con enfisema.

Para un mayor análisis, también se realizó un estudio de mayor escala en un conjunto de 203 nuevos sujetos. Los resultados de este estudio mostrados en la Figura 3 presentan una prueba de concepto de la utilidad de las técnicas propuestas en grandes bases de datos con el estudio actual. Estableciendo criterios clínicos, más los biomarcadores en imagen, estas técnicas podrían permitir separar de manera eficiente los casos sospechosos de enfisema de cara a su supervisión por un radiólogo, y por otra parte aportan nuevos biomarcadores cuantitativos que puedan añadirse al estudio de la relación de rasgos subclínicos de enfermedades cardiovasculares y pulmonares.

	Sujetos enfisema (n=12)	Sujetos control (n=9)	p-valor
LAA-950 (%)	8 (±4.04)	3 (±1.8)	0.0028
P15th (HU)	-927 (±14.07)	-914 (±10.97)	0.0325

Tabla 1. Análisis densitométrico de los dos conjuntos de sujetos.

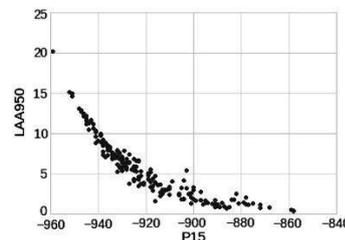


Figura 3. Diagrama de dispersión relacionando el %LAA-950 y P15th en el análisis de los 203 casos bajo estudio.

3.2. Subtipado de enfisema

Los parámetros para el subtipado de enfisema se han seleccionado según la metodología anteriormente explicada. La búsqueda en rejilla para la selección de los parámetros del clasificador KNN se ha realizado entre los siguientes conjuntos: número de vecinos $K=\{3, 5, 7, 9, 11\}$, función distancia $d(\cdot)=\{‘L1’, ‘L2’\}$, y pesos de los vecinos $w_i =\{‘uniformes’, ‘ponderados’\}$. El hecho de realizar una búsqueda en rejilla para varios parámetros, concretamente estudiando también el éxito de clasificación usando una métrica ponderada supone una interesante contribución a la metodología propuesta por C. S Mendoza et al. [4], dado que además, es con este parámetro con el que se obtiene mayor éxito de clasificación como se desprende de la Tabla 2.

N	Pesos uniformes		Pesos ponderados	
	Éxito promedio		Éxito promedio	
	L1	L2	L1	L2
3	0.6474 (±0.014)	0.6367 (±0.017)	0.6590 (±0.015)	0.6428 (±0.015)
5	0.6604 (±0.016)	0.6525 (±0.016)	0.6644 (±0.015)	0.6552 (±0.013)
7	0.6641 (±0.016)	0.6585 (±0.016)	0.6704 (±0.015)	0.6594 (±0.015)
9	0.6629 (±0.015)	0.6599 (±0.014)	0.6730 (±0.015)	0.6624 (±0.014)
11	0.6657 (±0.014)	0.6583 (±0.013)	0.6729 (±0.016)	0.6643 (±0.016)

Tabla 2. Éxito de clasificación para toda la combinación de parámetros.

En esta tabla se muestran los resultados obtenidos mediante validación cruzada aleatoria en la base de datos de entrenamiento. La precisión de la clasificación para el conjunto de parámetros óptimo es de 0.673, valor notablemente alto si tenemos en cuenta que el algoritmo de clasificación es capaz de distinguir entre seis clases de tejido diferente.

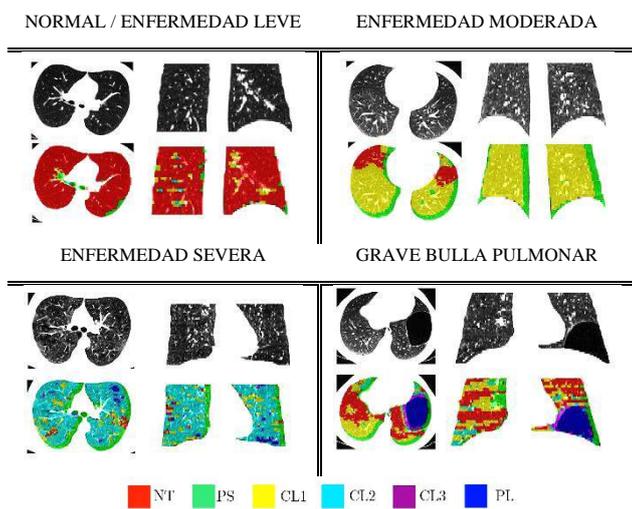


Figura 4. Mapa de etiquetas para cuatro casos con diferentes grados de la enfermedad.

Para una mayor validación se ha realizado un análisis conjunto de pulmones completos, clasificando de esta forma 270 imágenes de TAC para CCC. La clasificación se ha llevado a cabo en una rejilla de muestreo de la imagen original de 6x6 píxeles en todos los cortes axiales. El resto de vóxeles se han clasificado usando una interpolación del vecino más cercano.

En la Figura 4 se muestran los resultados obtenidos para cuatro casos con grados de la enfermedad diferentes.

La Figura 5 muestra la relación entre el porcentaje de cada clase de tejido y el porcentaje de baja atenuación para cada caso analizado, dividido en las seis clases de enfisema bajo estudio. Aunque la herramienta haya sido aplicada a imágenes de TAC para CCC, imágenes no óptimas para la determinación de enfermedades pulmonares, el método es capaz de obtener resultados concordantes con resultados publicados anteriormente [8].

Inclusión en librería de código abierto CIP

La herramienta implementada para el subtipado de enfisema será incorporada en la próxima versión pública de la plataforma de código abierto Chest Imaging Platform (CIP, Brigham and Women Hospital, Boston), plataforma escrita en C++/Python.

4. Conclusiones

Existen actualmente numerosos estudios y criterios aceptados comúnmente por la comunidad científica para la detección y caracterización de enfisema pulmonar. Los biomarcadores densitométricos están ampliamente aceptados como parámetros válidos para este fin, pero no es posible la aplicación de estas medidas en las imágenes de TAC para CCC sin un análisis previo para asegurar su validez. La inexistencia hasta ahora de esta validación hacía imposible la aplicación de estas técnicas en los numerosos datos ya recogidos, por lo que las técnicas desarrolladas y validadas han constituido un gran avance en el estudio de las enfermedades pulmonares.

Además, se ha demostrado que la herramienta implementada de subtipado de enfisema es válida para el

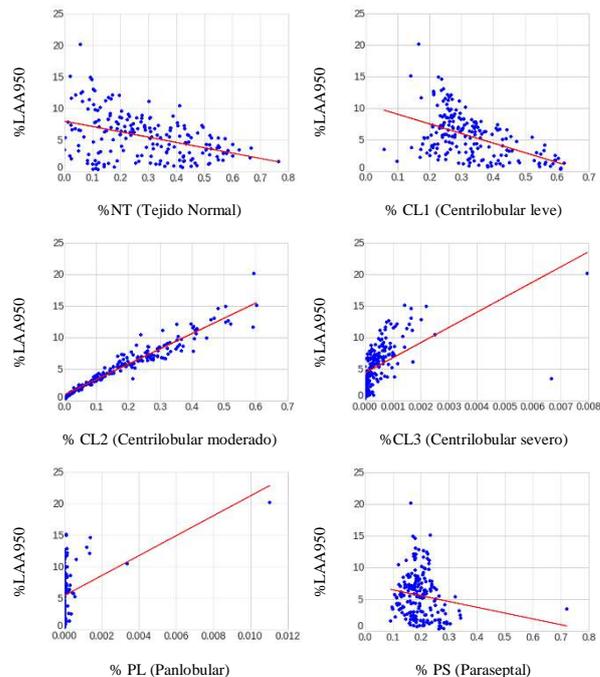


Figura 5. Relación entre el porcentaje de tejido de cada clase de enfisema frente al %LAA.

uso de las imágenes de TAC para CCC. Esta validación, llevada a cabo en 270 estudios de TAC, constituye uno de los mayores estudios de clasificación de enfisema en cuanto a número de sujetos analizados.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido apoyado por el Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBERBBN) a través del Programa de Ayudas a la Formación para la Iniciación a la Investigación y por el proyecto TEC2013-48251-C2-R2.

Referencias

- [1] A. Dirksen, et al. Exploring the role of CT densitometry: a randomised study of augmentation therapy in 1-antitrypsin deficiency. *European Respiratory Journal*, vol. 33, no. 6, pp. 1345-1353, 2009.
- [2] D. Spouge, et al. Panacinar emphysema: CT and pathologic findings. *Journal of Computer Assisted Tomography*, vol. 17, no. 5, pp. 710-713, 1993.
- [3] N. L. Muller, et al. "Density mask". An objective method to quantitate emphysema using computed tomography. *Chest*, vol. 94, pp. 782-787, 1988.
- [4] C. S. Mendoza, et al. Emphysema quantification in a multi-scanner HCRT cohort using local intensity distributions. *Proc IEEE Int Symp Biomed Imaging*, pp. 474-477, 2012.
- [5] J. C. Ross, et al. Lung extraction, lobe segmentation and hierarchical region assessment for quantitative analysis on high resolution computed tomography images. *Med Image Comput Assist Interv*, vol. 12, no. Pt 2, pp. 690-698, 2009.
- [6] L. Sørensen, et al. Quantitative analysis of pulmonary emphysema using local binary patterns. *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 29, pp. 559-569, 2010.
- [7] Z. I. Botev, et al. Kernel density estimation via diffusion. *The Annals of Statistics*, vol. 38, no. 5, pp. 2916-2957, 2010.
- [8] P. J. Castaldi, et al. Distinct Quantitative Computed Tomography Emphysema Patterns Are Associated with Physiology and Function in Smokers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 188, no. 9, pp. 1083-1090, Nov. 2013.

Multi-scale mathematical model for GBM growth considering oxygen distribution and phenotype switching.

J. Ortiz Pla¹, E. Fuster-Garcia², J. Juan-Albarracín², J. M. García-Gómez^{1,2}

¹ Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial, Universitat Politècnica de València, València, España, juorpl@etsii.upv.es, juanmig@itaca.upv.es

² Institut ITACA, Universitat Politècnica de València, València, Espanya, { [elfusgar](mailto:elfusgar@itaca.upv.es), [jajuual1](mailto:jajuual1@itaca.upv.es), [juanmig](mailto:juanmig@itaca.upv.es) }@itaca.upv.es

Abstract

Glioblastoma is the most aggressive tumour originated in the central nervous system. The treatment and follow-up of glioblastoma remains one of the most challenging tasks in clinical oncology due to their extremely complex and heterogeneous molecular biology. In the last years there has been a growing interest in the modelling of glioblastoma evolution for treatment planning and early response to treatment assessment. In this work we propose the foundations of a mathematical multi-scale model based on a widely accepted continuous approach, but adding the oxygen distribution and phenotype switching as critical parameters that could improve their prediction performance.

1. Introduction

Glioblastoma (GBM), also known as grade IV astrocytoma, is a brain neoplasm involving glial cells. They represent around 12 – 15% of all intracranial tumors and 50 – 60% of all astrocytomas. The survival mean time is 14 months, and the typical treatment involves surgery, chemotherapy and radiotherapy [1].

Primary GBM does not appear as a progression of a low-grade glioma. It usually appears de novo [1] and features genetic defects such as amplification of EGFR, overexpression of MDM2, deletion of p16 or mutation of PTEN. Usually, GBM are already very extended when detected, and macroscopically, they share a common morphology: presence of brain edema, irregular borders, and a tumoral ring with a wide necrotic centre [2].

In a microscopic scale, GBM are hypercellular, pleomorphic and highly vascular. Because of this, they are very proliferative and invasive. However, it is uncommon for them to metastasize outside of the CNS [2].

In recent years, the acquisition of medical data has greatly improved. From macroscopic anatomical images to information at the genetic level, the question then arises as how to deal with this information. Physicians are no longer able to understand and use all the raw data on their own, and yet, they have the last word on treatment and course of action. Our goal is to create analytical tools to assist the medical decision process.

In this article, we present a foundation of a multi-scale predictive growth model for GBM. By modelling both microscopic and macroscopic phenomena, we expect to be able to include a great variety of information as entry data. The more multi-scale effects combined, if properly coupled and estimated, the greater should the improvement and accuracy of predictions be, and the better the adjustment of the model to reality.

1.1 Biological background

Oncogenesis is still a widely unknown territory. However, some hallmarks have been identified [3] which help us understand the process of tumor formation and proliferation.

First of all, a normal healthy tissue keeps a controlled cellular proliferation rate to help maintaining its shape, function and homeostasis on a bigger scale. This proliferation rate is derived from a delicate equilibrium between growth-promoting signals and apoptosis. Growth-promoting signals instruct entry into and progression through the cell growth-and-division cycle. On the other hand, cell-to-cell contacts formed by dense populations trigger apoptotic signals and reduce the density of the cell population [3].

Cancer cells break this equilibrium: their apoptosis mechanism is usually inhibited and a disadjustment in any step of the growth signalling process drives them into a continuous and uncontrolled proliferation state (e.g. overexpression of a gene, resulting in more membrane-growth-factor detectors) [3]. When this uncontrolled proliferation reaches a critical size, for which there are not enough nutrients available, the environment becomes hypoxic, and many cells end up dying from necrosis [3].

Necrosis, as opposed to apoptosis, involves the breach of the cellular membrane and the exit of intracellular content into the surrounding tissue. Part of this content are proinflammatory signals, which then trigger the inflammatory process. This results on the recruitment of inflammatory cells which have the ability to produce growth-factors and so, actively promote tumor growth [3].

Another crucial trait for cancer, and specifically for GBM, is angiogenesis. This phenomenon involves the sprouting of new blood vessels from existing ones and it allows nutrients to reach cancer cells and keep the proliferation going. Tumor angiogenesis is activated in many different ways, however, one of the most important is the path of the hypoxia-inducible factors (HIFs). These transcription factors are produced by cells as a consequence of a decrease in the local availability of oxygen [4].

Other growth factors, such as the VEGF family, also play a central role in the angiogenic process. Capillary walls are sensible to these factors, and when VEGFs bind to membrane receptors, endothelial cells start moving following the tumor angiogenic factors (TAF) gradient. This results in the sprouting of new branches and the increase of the size of the vascular network.

Other works suggest that hypoxia may also play a significant role in tumor progression by forcing a phenotype change on cancer cells [4]. Although there are many different possible phenotype expressions, each with its own particularities, they are mainly classified as promoting proliferation or promoting motility [5].

1.2 Previous work and contributions

There are two main approaches for modelling the behaviour of cell populations: continuous models and discrete models [6].

Continuous models are based on partial derivative equations (PDE) over space and time. They mainly use mass-transport equations, with Brownian movement and a source term representing cell division. To solve these equations, several numerical methods have been implemented in the last decades. However, Finite Differences and Finite Elements Analysis are the most popular right now.

Discrete models are used mainly in the form of cellular automata: a grid is created and the state of each element is a discrete value (e.g. alive or dead). The interaction with the neighbours and the transition from one state to another is usually a stochastic function depending on the state of the adjacent elements, among other variables.

As discrete models may be useful to work at the cellular, or even tissular level, to try and replicate certain behaviours and morphologies, continuous models are the better course of action when working with macroscopic anatomical images and interactions between tissues of different properties. The basic PDE used for continuous modelling is:

$$\frac{\partial d}{\partial t} = \nabla \cdot (D \nabla d) + d \rho \left(1 - \frac{d}{K}\right)$$

This is known as the Fisher-Kolmogorov equation [5], where d is the local density of the cell population under study, D is the diffusivity tensor, ρ is the proliferation rate and K is the carrying capacity of the tissue. The first term of the right-hand side (RHS) is the Brownian movement of small particles, which would be the diffusion of cells through the ECM. The second term of the RHS describes the logistic growth of the population. Some works consider an exponential law instead of a logistic growth. For a long-term modelling of tumor growth, the logistic growth turns out to adjust better to the observed behaviour of tumors: it fits the exponential curve at the beginning and then saturates at a maximum value K , which represents the carrying capacity of the tissue [5].

The changing phenotypes of tumoral cells depending on the availability of resources, even though it is a very complex biological process at the genetic level, can be simplified in computational biology with the hypothesis commonly known as 'go-or-grow' [5]. This hypothesis establishes that all the phenotypes expressed in GBM can be narrowed down and simplified into two different cell populations, which will be referred from now on as *proliferative* and *invasive*. This nomination indicates the intrinsic features of each group. Previous works have already incorporated this hypothesis into their model [7, 8].

There are also many works in the field of modelling tumor angiogenesis [9, 10]. Although the results are promising, most of the current works have been done in vitro, with the goal of trying to replicate the branching and morphology seen in typical angiogenesis. Taking the leap from a controlled and measurable in vitro environment to a real in vivo case would make it very difficult to estimate all the parameters involved. Even more, we are not so much interested in the shape and quantity of capillary

branches, but in how the increase of angiogenesis affects the oxygen delivery and distribution.

Finally, in GBM is quite frequent to observe large mechanical deformations of the brain structures, due to the increasing pressure exerted by the growing tumor. This mass-effect has been taken into account in previous work (Clatz et al [11]) with successful results, and the greatest discussion lies in the characterization of the brain tissue as a linear elastic material, non-linear elastic material, viscoelastic material, or even another non-linear far more complex models [12].

Previous works frequently have a common limitation: the carrying capacity K is considered a constant value across the tissue. However, the availability of resources is not homogeneous and is the most limiting factor for sustaining life in a tissue. Oxygen and glucose are the most important nutrients used by cells. Because glucose is quite abundant, modelling only oxygen distribution should be representative enough [7]. Therefore, in our proposed model K will be a variable depending on the oxygen distribution.

2 Mathematical model

Our mathematical formulation is based on the widely accepted continuous modelling approach including diffusive and mass-effect phenomena, but also considers oxygen distribution and phenotype switching as critical parameters that could improve their prediction performance. The resulting mathematical model uses a set of continuous PDEs to simulate the growth, invasion and oxygen supply of GBM, and the effect of this growth on the neighbouring structures in terms of displacement and deformation (mass-effect).

2.1 Growth and invasion

To simulate the growth and invasion we establish the following assumptions:

- Based on the 'go-or-grow' hypothesis we consider two different phenotype expressions for the tumor cells: *invasive* and *proliferating*.
- Hypoxia and lack of resources can easily trigger the phenotype switch from proliferating to invasive. However, the other way around is much more difficult and takes longer to occur.
- Cells invade and migrate at a higher rate in white matter than in gray matter.
- Completely modelling angiogenesis is too complex only to characterize oxygen distribution. A more simple equation directly involving oxygen would be more useful.

The continuous model, using the spatial reaction-diffusion equation is formulated as follows:

$$\frac{\partial g}{\partial t} = D_G \nabla^2 g + g \rho \left(1 - \frac{g+m}{k}\right) + \Psi_1 \quad (1)$$

$$\frac{\partial m}{\partial t} = D_M \nabla^2 m + \Psi_2 \quad (2)$$

$$\frac{\partial [O_2]}{\partial t} = D_O \nabla^2 [O_2] - \beta [O_2] + S - C \quad (3)$$

Proliferation. In equation 1 we describe the behaviour of proliferating tumor cells. We use a logistic growth with the carrying capacity of tumor cells in the tissue $k([O_2])$ as a function of the local oxygen concentration. This way $k([O_2])$ can also be expressed as $k(x,y,t)$ a variable depending on the

variable	description	units
g	Density of proliferating cells	$(cell/m^2)$
m	Density of invasive cells	$(cell/m^2)$
$[O_2]$	Oxygen concentration	(mol/m^2)
D_i	Diffusivity of particles in the tissue	(m^2/s)
ρ	Proliferating rate of g	$(cell/s)$
Ψ_i	Phenotype switch's loss and gain	$(cell/m^2s)$
β	Degradation rate of $[O_2]$	(s^{-1})
S	Oxygen supply	(mol/m^2s)
C	Oxygen consumption	(mol/m^2s)

Table 1. List of variables and parameters

spatial location and time. ρ is the maximum proliferation rate achievable.

When $(g+m) > k$ the proliferation term becomes a death term and does not allow the total concentration to stay higher than $k([O_2])$.

Carrying capacity. As stated before, the cellular density is upper-bounded by the function $k([O_2])$. We assume that if there is no local vasculature the tissue cannot live, and thus $k([O_2]=0)=0$. If we also assume that the maximum carrying capacity is limited, not only by the local vasculature, but by the physical space available in the tissue, we get that for high oxygen concentrations, the carrying capacity tends asymptotically to its maximum value. There are many functions whose behaviour fit our requirements. For having fewer parameters, we choose a negative exponential curve for the time being. Probably, further experimentation could lead to describe an asymptotic function better suited for this model:

$$k = K_{max}(1 - e^{-\mu[O_2]})$$

The parameter μ controls how strong is the dependence between the carrying capacity and the oxygen concentration. Mathematically it is the inverse of the oxygen concentration value at which the carrying capacity reaches its 63% of its maximum value K_{max} .

Migration. In equation 2 we model the behaviour of migrating cells. To simulate the enhanced migratory activity of these cells compared to the proliferating ones we assume $D_M > D_G$.

Phenotype switch and death. The mathematical function modelling phenotype switch, depends on the local oxygen concentration. Under a certain threshold value $[O_2]_{hyp}$, the environment is considered to be hypoxic and the phenotype rate change, from proliferating to invasive, reaches its maximum value. If local oxygen concentration goes even lower, many cells might die before even being able to change into invasive phenotype. On the other hand, changing phenotypes from invasive to proliferating is much slower than the other way around. An invasive cell, which was forced to change its phenotype due to lack of nutrients, can't revert back to proliferating as soon as the local oxygen available is higher than the hypoxic threshold, as a defence mechanism. That favourable local availability might be just temporary and therefore, a sustained normoxic situation is required to trigger the change from invasive to proliferating (Figure 2) [5].

In equations 1 and 2 the function Ψ models the loss and gain of cells due to phenotype change. We centre a logistic approximation to the Heaviside step function around our threshold values $[O_2]_{hyp}$ and $[O_2]_{death}$. Then we define H_{gm} as the

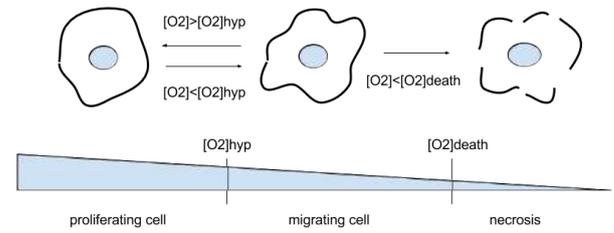


Figure 1. Oxygen-dependant phenotype switch

step function controlling the phenotype change from g to m , H_{mg} from m to g and H_{md} for m to death.

$$\psi_{gm} = \theta_{gm}H_{gm}$$

$$\psi_{mg} = \theta_{mg}H_{mg}$$

$$\psi_{md} = \theta_{md}H_{md}$$

$$\Psi_1 = (\psi_{mg}m) - (\psi_{gm}g)$$

$$\Psi_2 = (\psi_{gm}g) - (\psi_{mg}m) - (\psi_{md}m)$$

In this expression, $\theta_{i,j}$ is the maximum phenotype change rate achievable in each direction, and Ψ_i is the fraction of proliferating cells that are induced a status change by local oxygen fluctuations. To model the higher difficulty of changing back from invasive to proliferating, we impose $\theta_{gm} \gg \theta_{mg}$.

Oxygen supply. Not all the oxygen delivered into the tissue has to be used instantly. Invasive cells, for example, have a lower rate of oxygen uptake [6], so even with a favourable environment, they may not be able to consume all the resources available until they change their phenotype back to normoxic. The remaining oxygen in the tissue reduces the pressure gradient and therefore, the passive transport from the blood vessels to the tissue is also lowered [13].

$$S = \varphi([O_2]_a - [O_2])$$

Where $[O_2]_a$ is the amount of oxygen transported by the arterial blood.

Oxygen consumption. The uptake of oxygen by the tumoral cells is governed by the Michaelis-Menten kinetics. If we assume different uptake velocity depending on the phenotype being expressed ($\alpha_g \neq \alpha_m$), but the same velocity constant K_m , the consumption term can be expressed as follows:

$$C = \frac{(\alpha_g g + \alpha_m m) \cdot [O_2]}{K_m + [O_2]}$$

2.2 Mass effect

The growth of a volume inside another one produces a series of stress, strains, and finally displacements, which alter the shape of the neighbouring structures. In brain tumors these deformations tend to be quite large and have to be taken into account.

With $u(x,y)$ being the displacement field, we propose using the equilibrium equation:

$$\nabla \cdot \sigma + F_v = \frac{\partial^2 u}{\partial t^2} \delta$$

Because the growth is very slow and deformations occur in a matter of months, we can simplify the equation and use a static-equilibrium version in which $(\partial^2 u / \partial t^2 = 0)$ [14]:

$$\nabla \cdot \sigma + F_v = 0$$

Where σ is the internal stress-tensor and F_v is the volumetric force. Wasserman [14] proposed to model the expansion pressure of the tumor as an outwards pressure proportional to the cell density. Following the variation of his formulation done by Clatz et al. [11], we use the following constitutive equations for a linear elastic material:

$$F_v = -\lambda \cdot \nabla(g + m)$$

$$\epsilon = \frac{1}{2} \cdot (\nabla u + \nabla u^T)$$

$$\begin{bmatrix} \sigma_{xx} \\ \sigma_{yy} \\ \tau_{xy} \end{bmatrix} = \frac{E}{1-\nu^2} \begin{bmatrix} 1 & \nu & 0 \\ \nu & 1 & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1-\nu}{2} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \epsilon_{xx} \\ \epsilon_{yy} \\ 2\gamma_{xy} \end{bmatrix}$$

Where ϵ is the strain-tensor, E is the Young modulus and ν is the Poisson coefficient. These parameters depend on the material properties and we consider them to be different for white matter, gray matter and cerebrospinal fluid. λ is a coupling parameter representing the traction exerted by each individual cell.

These quasi-static mechanical equations are applied between each time step and the resulting values for displacement, strain and stress are taken as the initial state for the following step.

3 Discussion

The proposed multi-scale model is based on previous predictive models, it couples diffusion-reaction equations with mass-effect and introduces new features: phenotype expression differentiation and modelling of oxygen supply. It presents a strong basic structure upon which new models can be constructed and adapted to easily include a great variety of microscopic and macroscopic data.

Having a strong and reliable predictive model, may not only help in therapy planning and optimization of procedures, but also serve as a hypothesis tester for new treatments or as comparison for different clinical protocols.

As usually happens in computational biology, the amount of free parameters in our equations is too high. This amount makes them almost impossible to identify with optimization problems due to mathematical and computational limitations.

Our future line of work goes in the direction of running a sensitivity study of the model to identify which parameters and variables affect the output the most. From these results we will select which variables and parameters should be patient-dependant, and we will try to identify the rest of them from the existing scientific literature.

4 References

- [1] D. Harter, M. Karajannis, and T. Wilson, "Glioblastoma multiforme: State of the art and future therapeutics," *Surgical Neurology International*, vol. 5, no. 1, p. 64, 2014.
- [2] V. Kumar, A. K. Abbas, N. Fausto, S. L. Robbins, and R. S. Cotran, *Robbins and Cotran pathologic basis of disease*. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005.
- [3] D. Hanahan and R. A. Weinberg, "Hallmarks of Cancer: The Next Generation," *Cell*, vol. 144, no. 5, pp. 646–674, Mar. 2011.
- [4] B. L. Krock, N. Skuli, and M. C. Simon, "Hypoxia-Induced Angiogenesis: Good and Evil," *Genes & Cancer*, vol. 2, no. 12, pp. 1117–1133, Dec. 2011.
- [5] P. Gerlee and S. Nelander, "The impact of phenotypic switching on glioblastoma growth and invasion," 2012.
- [6] S. M. B. Shrestha, G. Joldes, A. Wittek, and K. Miller, "Modeling Three-Dimensional Avascular Tumor Growth Using Lattice Gas Cellular Automata," in *Computational Biomechanics for Medicine*, Springer, 2014, pp. 15–26.
- [7] A. Martínez-González, G. F. Calvo, L. A. Pérez Romasanta, and V. M. Pérez-García, "Hypoxic Cell Waves Around Necrotic Cores in Glioblastoma: A Biomathematical Model and Its Therapeutic Implications," *Bulletin of Mathematical Biology*, vol. 74, no. 12, pp. 2875–2896, Dec. 2012.
- [8] O. Saut, J.-B. Lagaert, T. Colin, and H. M. Fathallah-Shaykh, "A Multilayer Grow-or-Go Model for GBM: Effects of Invasive Cells and Anti-Angiogenesis on Growth," *Bulletin of Mathematical Biology*, vol. 76, no. 9, pp. 2306–2333, Sep. 2014.
- [9] D. Manoussaki, "A mechanochemical model of angiogenesis and vasculogenesis," *ESAIM: Mathematical Modelling and Numerical Analysis*, vol. 37, no. 04, pp. 581–599, 2003.
- [10] R. D. M. Travasso, E. Corvera Poiré, M. Castro, J. C. Rodríguez-Manzanique, and A. Hernández-Machado, "Tumor Angiogenesis and Vascular Patterning: A Mathematical Model," *PLoS ONE*, vol. 6, no. 5, p. e19989, May 2011.
- [11] O. Clatz, M. Sermesant, P.-Y. Bondiau, H. Delingette, S. K. Warfield, G. Malandain, and N. Ayache, "Realistic simulation of the 3-D growth of brain tumors in MR images coupling diffusion with biomechanical deformation," *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 24, no. 10, pp. 1334–1346, Oct. 2005.
- [12] S. Budday, R. Nay, R. de Rooij, P. Steinmann, T. Wyrobek, T. C. Ovaert, and E. Kuhl, "Mechanical properties of gray and white matter brain tissue by indentation," *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, vol. 46, pp. 318–330, Jun. 2015.
- [13] S. A. McLellan and T. S. Walsh, "Oxygen delivery and haemoglobin," *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain*, vol. 4, no. 4, pp. 123–126, Aug. 2004.
- [14] R. Wasserman, R. Acharya, C. Sibata, K.H. Shin, "A patient-specific in vivo tumor model", *Mathematical Biosciences*, Volume 136, Issue 2, September 1996, Pages 111-140, ISSN 0025-5564

Effect of *in vitro* mechanical stimulation on cardiac gene expression

R. Izquierdo-Albero¹, L. Gómez-Cid¹, R. Albert-Martínez², L. Fuentes¹, I. Hernández-Romero¹, M.S. Guillem², M.E. Fernández-Santos¹, F. Atienza¹, F. Fernández-Avilés¹, A.M. Climent¹

¹ Servicio de Cardiología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

² Instituto ITACA, Universitat Politècnica de Valencia, Valencia, España

Abstract

Mechanical cues are of great importance for the functional maturation of cardiac cells. As a consequence, tissue engineering approaches require providing the cells with mechanical impulses that mimic in vivo conditions. The goal of this study is to compare the level of maturation reached by the culture of atrial murine cells (HL-1-myocytes) in two different conditions: (1) static conditions and (2) under mechanical stimulation. For this purpose, a novel cell culture train system was developed. Results from this study demonstrate highly advanced levels of cell maturation when being stimulated, characterized by a higher expression of genes involved in action potential generation and propagation. Thus, mechanical impulses carry important implications for the proper development of cardiac tissue that may be essential for future cell therapy studies.

1. Introduction

Cardiovascular disease is the leading cause of morbidity and mortality in the world [1]. An ischemic heart event leads to cardiomyocyte apoptosis and damaged tissue. As adult human cardiomyocytes have limited proliferative potential, the injury caused by the ischemic event is replaced with heterogeneous tissue causing a fibrotic scar. This tissue presents lower conduction velocities, which can significantly compromise cardiac function and contractibility.

Despite the recent advances in coronary interventions and medical therapies, the only definite treatment for heart failure caused by the fibrotic scar is heart transplantation [2]. As a consequence, cardiac cell therapies for replacing or regenerating this injured tissue are urgently needed. Engineered cardiac tissue patches provide a promising source for cell therapy. However, electrophysiological properties of cardiac cells similar enough to that shown *in vivo* have yet to be achieved. Methodologies to promote functional maturation of human cardiomyocytes are one of the main challenges of tissue engineering, as it is crucial to develop their ability to support fast action potential conduction and generate more efficient and synchronous contractions [3].

Cardiac tissues *in vivo* are constantly submitted to cyclic mechanical stimulation from hemodynamic loading and unloading. However, *in vitro* cardiac cell cultures are usually made under static conditions. We hypothesized

that a more successful maturation of cardiac cells may be achieved through mimicking these mechanical cues, as they are considered to be essential for a proper development [4]. The purpose of this work is to study and quantify the effect of mechanical stimulation on the gene expression codifying for ion channels proteins involved in action potential. In this study, gene expression profile is used as a technique for assessing the changes experienced by the cell culture at a molecular level. Gene expression levels of these proteins are expected to significantly increase in the mechanically stimulated cardiac cells, as an *in vitro* environment more similar to that shown *in vivo* may lead to an enhanced gene expression profile more characteristic of *in vivo* cardiomyocytes. Mechanical stimulation was provided by a custom developed cell culture train system. The use of this system will also offer the possibility of further studying the effect of simultaneous mechanical and electrical stimulation, providing a more *in vivo*-like environment.

2. Methods

2.1. Cell culture

HL-1 cells were maintained, grown and proliferated according to the standard protocol established by Claycomb et al. [5] in PDMS (polydimethylsiloxane) wells.

2.2. Mechanical stimulation

Mechanical loads were performed using our own developed device, which consists of a novel system of air perfusion. PDMS wells seeded with HL-1 cells are attached to the device. Once plated, a balloon placed under the thin silicone membrane is inflated using a pressure source, thereby stretching the culture layer.

The basic diagram of the cell culture train system is shown in Figure 1. The device consists of four components: a cell culture platform, a peristaltic pump, an electrovalve and the control system.

The cell culture platform (Figure 2A) was built by designing each component in SolidWorks and by later printing them on a 3D printer (MakerBot® Replicator® 2). The aim of these pieces is to provide guidelines for the pipes that direct the air flow inside the

balloon and to properly place the balloon in tight contact with the platform to attach the silicone wells.

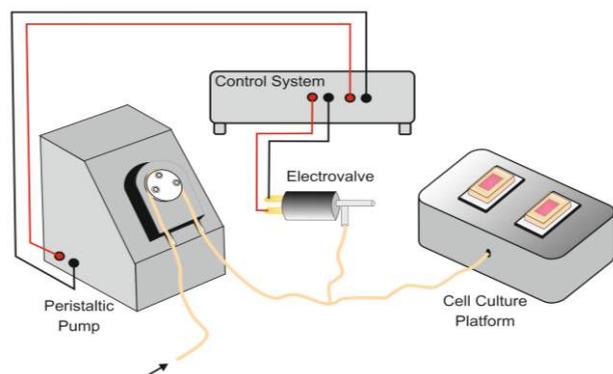


Figure 1. Diagram showing the basic components of the device.

Continuous circulation of air flow to the system is maintained using a peristaltic pump. Connected on parallel of the cell culture platform is an electrovalve, which only opens when energized. While remaining closed, all the air flow is directed to the balloon, leading to an increase in pressure, inflation and so provoking the stretching of the cell layer. Once the inflation has reached a desirable height, voltage is applied to the electrovalve thereby releasing all the air in the system and deflating the balloon. The flow of the released air by the electrovalve is controlled by placing downstream a passive tunable valve in order to avoid the deflation impulse from being too harsh. The control system (Figure 2B) contains the electric components as well as an Arduino UNO board used to program the device. The system is programmable and is able to achieve a great variety of working modes via controlling to main parameters: (1) the power supplied to the pump and (2) the frequency of voltage pulses provided to the electrovalve, which sets the stimulation frequency. These two parameters characterize the height of deflection achieved by the mechanical impulse produced.

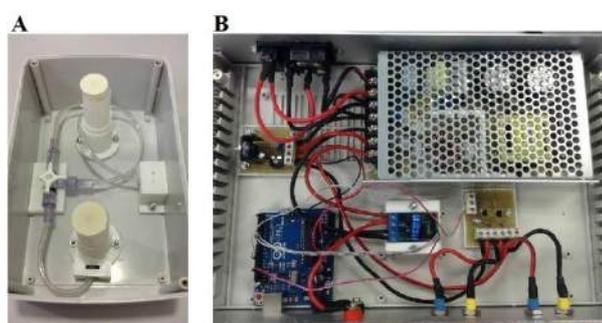


Figure 2. (A) Architecture of the cell culture platform, all internal pieces created by 3D printing. (B) Electric circuit controlling the peristaltic pump and the electrovalve.

2.3. Cardiac gene expression analysis

The expression of genes involved in action potential generation and propagation was assessed. Genes analyzed codifying for components of ion channels were SCN5A, CACNA1C and KCNJ2 which codify for molecular components of inward sodium current I_{Na} , L-Type calcium current, I_{CaL} , and inverse rectifier potassium

current (I_{K1}) channels, respectively. Genes analyzed codifying for components of gap junctions were GJA5, GJA1 and GJA 7 codifying for connexin 40, 43 and 45 respectively.

RNA was isolated from the samples using Tri-reagent (Sigma). RNA quality and quantity were measured using a NanoDrop. Transcripts were quantified in a two-step RT-PCR. First strand cDNA synthesis was performed with a High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems). The samples were later run using SYBR Green oligonucleotides and the CFX Real Time PCR detection Systems (Bio Rad). Analysis was performed with two technical replicates for each sample. Gene expression values were normalized to two standard housekeeping genes (36b4 and Cyclophilin) as internal controls, and expressed as relative mRNA levels (relative expression). Primer sequences are shown in Table 1.

Gene	Protein	Forward primer	Reverse primer
SCN5A	Nav 1.5	CACCTTCACCG CCATCTACA	AAGGTGCGTA AGGCTGAGAC
CACNA1C	Cav 1.2	CCTCGAAGCTG GGAGAACAG	TGTGTGGGAG TCAATGGAGC
KCNJ2	Kir 2.1	GACGCCTTCAT CATTGGTGC	CCGGACATGA GCTTCCACAA
GJA5	Con 40	ATACCATTTCAG CCTGGTTGC	GGTGGGCCCTC TTAGCTTTC
GJA1	Con 43	GGACTGCTTCC TCTCAGTC	CAGCTGTGAC CCAGGAGGAG
GJA7	Con 45	TTGTGTGCAA CACAGAGCA	GGTCTCTTCC GTTTCTTCC
36B4		GCGACCTGGA AGTCCAATA	ATCTGCTGCAT CTGCTTGG
CYCLOPHYLIN		ACAGGTCCTG GCATCTTGTC	CATGGCTTCC ACAATGTCA

Table 1. Primers used for reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR).

2.4. Experimental Protocol

The study was performed analyzing eight samples: (1) four samples cultured under static conditions and (2) four samples cultured under mechanical stimulation.

Four PDMS wells were seeded with cells at an initial concentration of 30000 cells/cm² (two samples as control and two samples for further stimulation). The four samples were grown and proliferated under static conditions for 24 hours in order to allow the cells to properly attach to the substrate. The flexible silicone wells with the cells properly attached were transferred to the device to proliferate under mechanical stimulation for a period of 2 days (i.e. until fully confluent). The other four PDMS wells were seeded with cells at an initial concentration of 15000 cells/cm² (two as control and two for stimulation). These four samples were grown and proliferated under static conditions for 24 hours as well and were transferred to the device to proliferate mechanical stimulation for a period of 5 days, until fully confluent.

The programmable parameters of the device were set to a fix stimulation frequency of 1Hz and the voltage supplied

to the peristaltic pump was properly set to a level of 128 out of a maximum of 256, thereby achieving a deflection of 3.5 mm of height in each impulse. Once reached full confluence, RNA was extracted from each sample in order to perform the gene expression analysis. The statistical analysis applied to the gene expression profiles was the T-Test, which is suitable for a low number of samples that follow a normal distribution.

3. Results

3.1. Mechanical Stimulation

The cell culture train system was proven to function successfully as the desired mechanical impulse was achieved. The patch train system was efficiently programmed by setting the power supplied to the pump and the frequency of operation of the electrovalve, thereby achieving the desired height of deflection (Figure 3A).

Figure 3B shows the cell culture platform with the seeded silicone wells attached, as a way of illustrating the experimental setup of the system. The cells cultured in this system demonstrated the ability of the device to sustain cell culture over long culture periods.

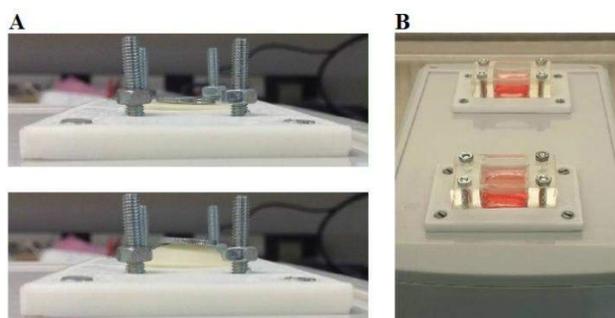


Figure 3. (A) Mechanical impulse provided by the cell culture train system. (B) Experimental setup of the device with the PDMS wells properly placed, once seeded with cells.

3.2. Gene Expression Analysis

The gene expression analysis showed significant difference between the control and the stimulated groups (Figure 4). In fact, the gene expression analysis proves right what was hypothesized, that an early mechanical stimulus can lead to a gene expression profile more characteristic of *in vivo* cardiomyocytes.

Genes codifying for molecular components of inward sodium current I_{Na} , L-Type calcium current, I_{CaL} , and inverse rectifier potassium current (I_{K1}) channels (SCN5A, CACNA1C and KCNJ2 respectively) were higher expressed in cells grown under mechanical stimulation. These ion channels play a crucial role in the generation and shape of the action potential, and an increase in the expression of these three genes may be related to a more effective contraction and electric propagation. Furthermore, expression of genes codifying for connexins forming part of gap junctions, which are involved in action potential propagation, either increased with tissue stimulation or remained unchanged. Gene expression of GJA1 (codifying for connexin 43) was much higher in the stimulated sample. In contrast,

mechanical stimulation had no major influence on genes GJA5 and GJA7, codifying for connexins 40 and 45 respectively. These results confirm that mechanical stimulation affects gene expression codifying for proteins related to electrophysiological cardiomyocytic properties.

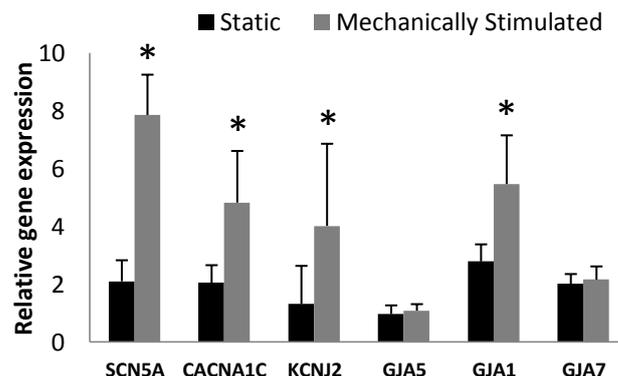


Figure 4. Expression levels of ion channels in HL-1 cells grown in static conditions versus stimulated. SCN5A, CACNA1C and KCNJ2 genes codify for proteins which are subunits of ion channels associated to I_{Na} , I_{CaL} and I_{K1} respectively. GJA5, GJA1, GJA7 genes codify for components of the gap junctions: connexin 40, connexin 43 and connexin 45 respectively. Differences are statistically significant when $p < 0.05$ (*) (TTest).

4. Discussion

The results of this study confirm that in-vitro cardiac cells cultured under mechanical stimulation can yield advanced levels of main ion channel proteins expression. As a consequence, we can conclude that mechanical stimulation has an impact at molecular level on in-vitro cardiac cells.

The reason behind the enhanced gene expression might be that an early mechanical stimulus mimics a more realistic *in vivo*-like environment as it simulates the mechanical cues produced by the constant perfusion of bloodstream into the heart. These changes at a molecular level may have driven changes at a functional level, as the higher gene expression is probably related to higher levels of proteins. As a consequence, this increase in the number of gap junctions and ion channels could lead to more effective impulse generation and propagation which in turn leads to higher conduction velocities.

Mechanical stimulation opens new insights in the development of cardiac tissue patches, as it may improve cardiac cell properties that may lead to enhanced cardiac functions. Thus, better quality patches could be achieved that could serve two main purposes: (1) cell therapy for fibrotic scar regeneration after an ischemic heart event and (2) a suitable model for drug and therapy testing. However, in order to serve as therapy there are still many limitations to overcome, such as the low conduction velocity which is still very inferior to that observed *in vivo*.

4.1. Comparison with previous studies

Previous studies have tried to both: (1) develop devices capable of providing mechanical stimulation [6] and (2) test the influence of this stimulation over the cell culture [7].

Addressing the first challenge, some commercially available devices are designed to provide a cell culture layer with mechanical stimulation. Some systems use stepper-motor technology to produce uniaxial stretch cycles. However, these systems highly increased their temperature when being introduced in an incubator due to the self-heating of its electrical components. Our own developed device uses a novel system of air perfusion which allows all the electric components to be separated from the cell culture platform that is introduced inside the incubator, solving the problem of self-heating experienced. Other studies have developed their own systems which work with fluid perfusion and try to mimic the hemodynamic load experienced *in vivo* [6]. However, similar mechanical cues can be successfully achieved using air instead of fluid, thereby increasing leakage resistance.

Other studies have used different devices to assess the effect of mechanical stimulation on cardiac cells. The study performed by Matheson et al. obtained promising results on the effect of the stretch stimulus in cell morphology, which proves that cardiac cells experiment an orientation due to this cue [7]. This demonstrated that cardiac cells react when being exposed to mechanical cues; however, significant differences in gene expression profiles of ion channels and gap junctions' proteins had not been registered before.

4.2. Limitations

The results obtained by the gene expression analysis were considered as an indirect measure of the amount of protein present in the cell. However, to further demonstrate if a higher expression of genes actually relates to a higher presence of proteins direct protein detection techniques should be considered.

Although mechanical stimulation has been proved to have an impact in gene expression analysis, it should be proved that these changes at the molecular level lead to functional enhancement of the cell. For this purpose, optical mapping techniques could be used to demonstrate whether greater conduction velocities are achieved, which is the main goal to further improve the characteristics of cardiac patches.

4.3. Future studies

Our own developed cell culture train system opens a wide range of opportunities to further study the effects of mechanical stimulation into functional development of cardiac cells and provides a new tool to improve cardiac patches characteristics even further. However, some improvements in the design could be studied, such as controlling the direction of the stimulus so that the cells in the culture acquire the optimum orientation.

Future studies could contemplate the possibility of incorporating both mechanical and electrical stimulation simultaneously. These stimuli would more realistically mimic *in vivo* conditions, which are believed to enhance cell properties and optimize engineered tissues development.

In addition, to populate the patches effectively a different lineage of cardiac cells should be contemplated, such as human iPS-derived cardiomyocytes. Once seeded in the patch, these immature cells should be further differentiated in order to reach higher conduction velocity.

5. Conclusions

Mechanical stimulation has demonstrated to have an impact on cardiac cells at a molecular level, as expression of genes codifying for proteins involved in ion channels and gap junctions were higher compared to the control samples. Our tissue patch train system was proven to provide a suitable mechanical stimulus for *in vitro* cardiac cultures and that it was sufficient cue for inducing changes in the phenotype of the cells.

Overall, these results are a step further towards mimicking the *in vivo* environment of cardiac cells and developing of effective cardiac regenerative therapies.

Acknowledgements

Supported in part by grants from the *Instituto de Salud Carlos III* and Ministry of Economy and Competitiveness of Spain: PI13-01882, PI13-00903 and TEC2013-50391-EXP, by the *Red de Investigación Cardiovascular (RIC)* and *Red de Terapia Celular*, and by *Becas Santander de Prácticas en PYMES*.

References

- [1] Pagidipati NJ, Gaziano TA. Estimating deaths from cardiovascular disease: a review of global methodologies of mortality measurement. *Circulation*. 2013;127:749–56.
- [2] Lund LH, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Dipchand AI, Benden C, Christie JD, et al. The registry of the international society for heart and lung transplantation: thirtieth official adult heart transplant report - 2013; focus theme: age. *J Heart Lung Transplant*. 2013;32:951.
- [3] Wang B, Borazjani A, Tahai M, et al. Fabrication of cardiac patch with decellularized porcine myocardial scaffold and bone marrow mononuclear cells. *J Biomed Mater Res A*. 2010 Sep 15;94(4):1100–10.
- [4] Boselli, Francesco; Freund, Jonathan B.; Vermot, Julien. Blood flow mechanics in cardiovascular development. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)*. 2015; Vol.72(13), p.2545(15).
- [5] Claycomb WC, Lanson NA, Stallworth BS, et al. HL-1 cells: a cardiac muscle cell line that contracts and retains phenotypic characteristics of the adult cardiomyocyte. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Mar 17;95(6):2979–84.
- [6] Mai - Dung Nguyen; Tinney, Joseph P.; Yuan, Fangping; Roussel, Thomas J.; El-Baz, Ayman; Giridharan, Guruprasad; Keller, Bradley B. Cardiac cell cultura model as a left ventricle mimic for cardiac tissue generation. *Analytical Chemistry*, Sept 17, 2013; Vol.85(18), p.8773(6).
- [7] Matheson, Loren A.; Jack Fairbank, N.; Maksym, Geoffrey N.; Paul Santerre, J.; Labow, Rosalind S. Characterization of the Flexcell™ Uniflex™ cyclic strain culture system with U937macrophage-like cells. *Biomaterials*, 2006, Vol.27(2), pp.226-233.

MYOINO: click based on muscle contractions for people with Cerebral Palsy

E. Fernández¹, E. Porras, R. Raya¹, E. Rocon², G. Caffarena¹, A. Otero¹

¹ Universidad San Pablo CEU, Urbanización de Montepríncipe, Boadilla del monte, 28668 Madrid, España,

{estrellafergi@gmail.com, abraham.otero@gmail.com}

² Centro de Automática y Robótica, Grupo de Ingeniería Neural y Cognitiva (CSIC), www.g-nec.com, Madrid, España

Abstract

This paper presents a wearable low-cost peripheral device based on muscle contraction. The system design is based on measuring the electromyography (EMG) activity to perform the “click” in human-computer interaction. This system has been specifically designed for people with Cerebral Palsy (CP), who cannot make proper use of standard control devices (e.g. mouse or keyboards). We describe the design and the implementation of the system, called Myoino. Finally, we present a case-study, a 10 year old girl with CP using the system and a preliminary comparison with a conventional switch. Results suggest that the EMG click can become a good method to facilitate the human-computer interaction for people with severe motor disorders.

1. Introduction

Cerebral palsy (CP) is the most common motor disability in childhood and involves a disorder of movement, posture and motor function. It is caused by a non-progressive interference, lesion, or abnormality in the immature, developing brain, [1]. CP involves a group of disorders that are permanent but not unchanging.

The prevalence of CP is internationally 1.5–2.0 cases per 1,000 births. More than 500,000 people in the United States have CP, [2]. In Europe these figures are even higher [3]. CP is an umbrella term that involves a wide variety of diseases. It can be classified according to the pathology of brain injury or according to the timing of brain injury. The “Surveillance of cerebral palsy in Europe (SCPE): a collaboration of cerebral palsy surveys and registers” presented a consensus on the definition, classification and description of CP [4, 5]. The classification based on predominant neuromotor abnormality divides CP into: spastic, dyskinetic or ataxic, with dyskinesia further differentiated into dystonia and choreoathetosis. The changing nature of symptoms and signs makes the clinical classification difficult in the first years of life as the pattern of movement and muscle tone may change completely.

People with CP often have severe limitations using conventional human-computer interfaces (HCI), thus diminishing their opportunities to communicate and learn through computers [6]. Davies et al. presented a systematic review of the development, use and effectiveness of devices and technologies that enable or

enhance self-directed computer access by individuals with CP [7]. They divided HCI into five categories:

- pointing devices,
- keyboard modifications,
- screen interface options,
- speech and gesture recognition software and
- algorithms and filtering mechanisms

Access solutions for individuals with CP are in the early stages of development and future work should include assessment of end-user comfort, effort and performance, as well as design features [8]. A fundamental conclusion is that there is a wide diversity of solutions but their authors frequently assert that usability decreases dramatically when users have a severe motor disability.

The term Augmentative and alternative communication (AAC) defines the field of knowledge focused on using computer as communication tool. Recently, new emerging technologies (e.g. inertial sensors, eye-tracking systems, etc.) have opened a promising future for human-computer interaction for people with severe disorders, as Cerebral Palsy.

In this paper, we present a new proposal based on using an electromyographic (EMG) system to perform the click on the computer. The computer access basically consists of two steps: reaching and clicking (also called selection). Our work is focused on the second step. Traditionally, AAC systems use the called “dwell click”, which consists of maintain the mouse pointer a certain length of time over a define area of pixels. This method can be very restrictive and can limit computer access to people with severe motor disabilities. Our proposal presents an adaptive system to perform the click based on muscle contractions. The user does not need to move the body limb (which it is necessary with conventional switches) avoiding having motor control to achieve the result.

The second section of the paper presents the electronic design of the EMG system. The second section describes methodology, which includes the protocol, profile of the subject, the task and the metric used. Finally, the section of results and conclusion provide information about the proof of concept and next steps of this research.

2. The Myoino system

2.1. Hardware

The Myoino system consists of an amplifier circuit, three superficial electrodes and a microcontroller (Arduino Board) to measure the muscular activity (EMG). The Arduino firmware has been designed following HID (Human Interface Device) protocols. As result, the computer automatically recognizes the system as a peripheral device. The system measures the muscular activity and compares it with a predefined threshold. If the EMG signal is higher than the threshold a click is sent to the computer.

The superficial electrodes are dry, comfortable and reusable. It is necessary to place three electrodes on the muscle, two of them measure the differential activity along the muscle and the third one is the reference (ground).

The amplifier architecture consists of a cascaded amplifier circuit composed of five stages (see Figure 1). The first stage of the circuit is a differential amplifier. The second stage is an inverting amplifier and the third stage is a high pass filter, which filters the DC component of the electrodes and electrical noise. The fourth stage is a full-wave rectifier and the last part is a low pass filter to get and smooth signal ready to be sent to the microcontroller. Figure 1 depicts the amplifier architecture.

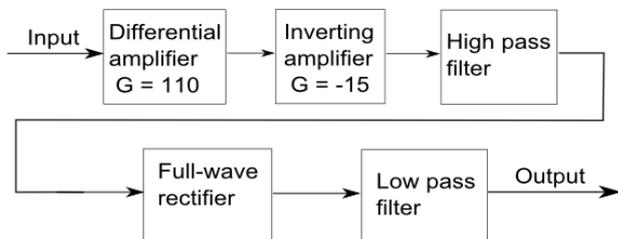


Figure 1. Amplifier architecture of EMG amplifier used in the Myoino System



Figure 2. Myoino system

The output of the amplifier circuit is connected to the analog input A0 of the microcontroller Arduino. The Arduino board is programmed to perform a click using the HID protocol. Figure 2 depicts the Myoino system. The first prototype of the device was built using a bread board. Figure 3 shows an example of EMG acquired with Myoino.

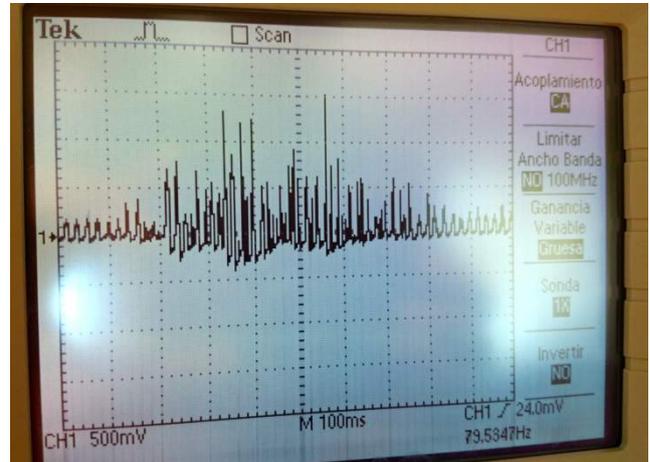


Figure 3. EMG signal acquired with Myoino

Once the design was completed and validated with healthy subjects, we designed the Printed Circuit Board (PCB, see Figure 4). We use low-cost components in order to achieve our primary goal, which was to create an affordable system.

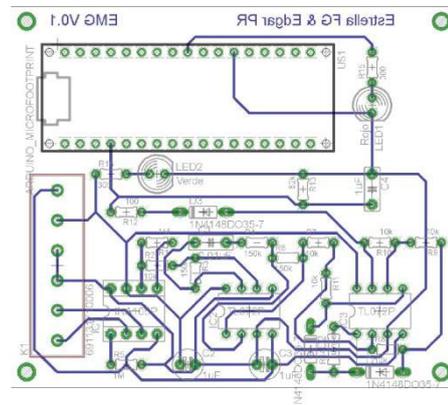


Figure 4. Printed Circuit Board (PCB) of Myoino

One of the main characteristics of the EMG system is its adaptive configuration. According to the trials with healthy subjects, a similar threshold can be used for everybody. However, users with CP can present different muscular characteristics, due to the disability such as hypertonia or spasticity. Therefore, a potentiometer was included into the design in order to adapt the click activation to the particular condition of the user.

2.2. Software

The software can be divided into two main parts: 1) the reception of the analog signal from the amplifier and 2) the algorithm to send a click to the computer following HID protocols. The first part is a basic routine to capture the signal in an input port of the microcontroller. The second part is focused on generating a click when the

analog signal is higher than the predefined threshold. In order to follow the HID protocol, an Arduino Micro has been selected. This device offers a set of high-level instructions to generate HID messages to the computer. Three are the basic instructions to emulate the mouse function:

```
Mouse.press(MOUSE_LEFT);
delay(100);
Mouse.release(MOUSE_LEFT);
```

These instructions are executed when the analog input is higher than the predefined threshold:

```
float voltage = sensorValue * (1023.0/5.0);
if (voltage > 10){
    digitalWrite(ledPin, HIGH);
    Mouse.press(MOUSE_LEFT);
    delay(100);
    Mouse.release(MOUSE_LEFT);
}
```

Where *sensorValue* is the variable that contains the analog input (EMG signal).

3. Methodology

3.1. The subject

This paper presents a case-study, in order to obtain a proof-of concept based on experimentation with real users with CP. The subject who tested the Myoino system is a ten years old girl with CP. Her parents were informed of the experimental protocol, and their consent was obtained. Her therapist was also informed about the details of the protocol and its approval (and cooperation) was obtained.

The subject's profile can be defined with the following standard scales:

- GMFM-88: 13.78%
- GMFCS: Level V
- MACS: Level V
- Ashworth: spasticity degree 1

The GMFM scale is the Gross Motor Function Measure, which defines the motor control of different body limbs. The GMFCS is the Gross Motor Function Classification System, which divides the gait function into three levels (from I mild disability to V severe disability). The Manual Ability Classification System (MACS) divides the subject's ability to manipulate objects in five levels, being level V the one in which the capacity is more limited. Finally the Ashworth scale is a metric to quantify the spasticity (from I normal muscle tone to IV high muscle tone). The subject suffers mixed motor alterations associated to the different types of CP above described.

Regarding the cognitive skills, she is able to understand pictograms without grammatical contents (letters or

words). She usually controls a conventional switch to communicate with pictograms using the computer.

At the beginning of the experiment, her personal physiotherapist selected the muscle with more voluntary control (quadriceps of the right lower extremity). One of the main advantages of using a wearable EMG system is that it can be controlled by the muscle with most voluntary control.

3.2. Functional task

The selected task was designed to allow us to conduct a "proof of concept" of the Myoino system. The proposed task consisted of performing a click when the subject receives a stimulus. Concretely, some favorite videos were selected using the Youtube website. The cursor was located on the button to watch the next video. Once the video ends, the subject performed a new click to watch the next video. This task is functional because the subject usually does it in daily living.

3.3. Outcome measure

The evaluation has consisted on collecting the subjective opinion of the subject, therapists and relatives. We particularly focused on measuring the use of the EMG system in relation with the conventional switch.



Figure 5. The subject performing the task with Myoino system.

3.4. Software analysis

A Software application has been developed as learning tool to control the Myoino system. The application is playful in order to increase the user's motivation. The software includes the automatic report of some parameters:

- error rate
- response time
- fatigue index

This application will be used in the following sessions when an objective assessment is carried out.



Figure 6. Screenshot of the software application

4. Results: case study

The subject was able to perform the functional task above described. However, she had some limitations caused by involuntary contractions (due to dystonia, which causes muscle activity fluctuation). This problem was also found using conventional switches.

However, it is important to highlight the effect of the EMG use on her emotional state. Her self-esteem has improved because she was able to easily perform the functional task with reduced numbers of errors. This fact reduced her frustration. Apparently, the error rate was lower than that using the conventional switch.

Regarding the therapists' opinion, Myoino system is more comfortable and practical than the common switches, especially for playful activities. Another relevant issue is that she kept looking at the screen while she performed a muscle contraction. This was not possible using the switch because she tended to look at the switch. This makes her more aware of her proprioception, which could be improved by using the EMG system.

5. Conclusion and discussion

This paper presented a new way to perform the click action using the muscle activity, especially designed for people with cerebral palsy. The main goal of the paper was to compare the use of the EMG system, called Myoino, with a conventional switch. A proof-of-concept was presented providing information based on subjective

information collected from subject, therapists and relatives.

The task proposed was considered to be playful, which was essential to increase the subject's motivation. The therapists and relatives confirmed that Myoino system can become more useful and convenient for playing respect to conventional switches. This is a very important aspect in the daily living of a child with CP. It is important to remark that play is one of the best methods to learn.

Future work will address wearable aspects. The system should be more usable, easier to configure and wear. A new wireless version will be implemented in order to reduce the complexity of the set-up. The electrodes can be also improved using more comfortable Velcro straps.

Finally, a new study will be conducted in order to provide an objective analysis comparing a common switch with Myoino system. More users will participate and objective outcome measures such as response time or error rate will be included.

Acknowledgements

Authors would like to thank Alba for participating in the tests and her family, Ana Rosa Plaza (Alba's mother), for kindly helping us as long as we needed it. Special thanks also to Alba's physiotherapists and occupational therapists to help us with the clinical aspects. We would like also to thank Universidad Católica de Asunción (Paraguay) for the development of the analysis software.

References

- [1] Bax M, Goldstein M, Rosenbaum P, Leviton A, Paneth N, Dan B, Jacobsson B, Damiano D. Proposed definition and classification of cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol.* 2005 Aug; 47(8):571-6.
- [2] Winter, S.; Autry, A.; Yeargin-Allsopp, M. Trends in the prevalence of cerebral palsy in a population-based study. *Pediatric* 2002, 110, 1220–1225.
- [3] Johnson, A. Prevalence and characteristics of children with cerebral palsy in Europe. *Dev. Med. Child Neurol.* 2002, 44, 633–640.
- [4] Cans, C. Surveillance of cerebral palsy in Europe: A collaboration of cerebral palsy surveys and registers. *Dev. Med. Child Neurol.* 2000, 42, 816–824.
- [5] Krageloh-Mann, I.; Cans, C. Cerebral palsy update. *Brain Dev.* 2009, 31, 537–544.
- [6] Palisano, R.; Rosenbaum, P.; Walte, S.; Russell, D.; Word, E.; Galuppi. Gross motor function classification system. *Dev. Med. Child Neurol.* 1997, 39, 214–233.
- [7] Beckung, E.; Hagberg, G. Correlation between ICIDH handicap code and gross motor function classification system in children with cerebral palsy. *Dev. Med. Child Neurol.* 2000, 42, 669–673
- [8] Davies, C.; Mudge, S.; Ameratunga, S.; Stott, S. Enabling self-directed computer use for individuals with cerebral palsy: A systematic review of assistive devices and technologies. *Dev. Med. Child Neurol.* 2010, 52, 510–516.

Motion Range of the elbow flexo-extension using inertial technology and computer-based estimation

L. González¹, R. Raya¹, B. Valle², R. Rocon², R. García¹, A. Otero¹

¹ Universidad San Pablo CEU, Urbanización de Montepríncipe, Boadilla del monte, 28668 Madrid, España, L.gonzalez108@usp.ceu.es, abraham.otero@gmail.com

² Centro de Automática y Robótica, Grupo de Ingeniería Neural y Cognitiva (CSIC), www.g-nec.com, Madrid, España

Abstract

This paper's goal is to validate a low cost system made up by two inertial sensors as a tool to measure the motion range of the elbow. We used the free software Kinovea, a motion capture system based on webcam, as the ground truth for the measurement of the motion range. The advantages of the inertial sensors are that they provide a 3D estimation whereas a webcam system provides a 2D estimation, they have a lower cost, and they require less computing power.

The estimations of both systems were saved and post-processed in order to estimate the Root Mean Square Deviation (RMSD) of both measures. This measure provides information about how close both estimations are. A healthy subject was used in the validation. She performed several repetitions of the movement, while inertial and webcam systems measured the range of motion. The final deviation between both estimations was 6.2 degrees, which is considered as an acceptable result and it indicates that inertial sensors are adequate to estimate the movement of the elbow flexo-extension.

1. Introduction

MicroElectroMechanical Systems (MEMS) are revolutionizing a multitude of industries worldwide, from consumer products to the scientific community. Motion sensing, by means of MEMS inertial sensors, could be applied to a wide array of consumer products - laptops computers, cell phones, PDAs, camcoders, digital cameras, gaming, computer input devices and pagers. Another enormous field which is using inertial sensors are the automotive application. Safety, passenger comfort, vehicle performance and navigation are triggering new and tremendous demand for inertial sensors. In addition, these sensors represent a real scientific breakthrough in the medical field, where there is a need for small ambulatory sensor systems to measure the kinematics of body segments. Inertial sensors would enable ambulatory biomechanical measurements [1]. Since micromachined sensors such as gyroscopes and accelerometers have become generally available, human movement can be measured continuously outside a specialized laboratory with ambulatory systems.

Inertial sensors give an output signal proportional to its own motion respect to an inertial frame of reference, enabling the fabrication of motion sensors "internally referenced". The vestibular system, located in the inner

ear, is a biological 3D inertial sensor. It can sense angular motion as well as linear acceleration [2, 3]. Micromachining techniques make possible the development of precision inertial sensors with a lower price and standard characteristics similar to those of integrated circuits, suitable for portable and wearable applications [4, 5].

This project proposes the use of two low-cost inertial sensors located on the upper arm and forearm in order to estimate the range of motion of the elbow flexo-extension. The sensors were developed jointly by the authors and Werium Assistive Solutions S.L. [6]. These measurements are evaluated using the video-based software Kinovea [7], which is widely used by physiotherapists. The basic difference between these two systems is that Kinovea measure angles in the sagittal plane (just using a webcam) whereas the inertial sensors provide a triaxial measure the range of motion (ROM). Furthermore, inertial sensors have a lower cost, and they require less computing power to compute the measures. The final goal is to validate Werium's inertial sensors in the task of measuring the range of motion and, therefore, as a support tool in the diagnosis of pathological movements and postures.

This paper comprises the following sections. First, the methodology, which includes an explanation of the tools that have been used in the project: Kinovea software, the inertial system Werium consisting of two sensors and Matlab. The following section describes the results of the study. Finally, we present a discussion of the results and future work.

2. Methodology

2.1. The Kinovea software

Kinovea is free software capable of quantifying body part movement manually or using semi-automated tracking to follow points and checks live values or trajectories (see Figure 1). It allows the user to export the analysis to spreadsheet formats for scientific study and further processing. Kinovea has an accuracy of about one degree [6] and will be used as ground truth in the validation presented in this article.



Figure 1. Example of range of motion estimated using the Kinovea software

2.2. The inertial system

The inertial measurement unit (IMU), developed jointly by the authors and Werium Assistive Solutions S.L. [7], integrates a three-axis gyroscope, a three-axis accelerometer and a three-axis magnetometer. The gyroscope measures angular velocity by measuring capacitance based on the Coriolis force principle. The accelerometer measures the gravity and the acceleration caused by motions (by Hooke's law). The magnetometer measures the Earth's magnetic field. The 3D IMU is based on microelectromechanical systems (MEMS) and is available in a ergonomic package. The 3D IMU is capable of sensing 2.0 Gauss, 500°/s angular rate and 3 g acceleration on the three axes independently. It has an angular resolution of 0.05°, a static accuracy of less than 1° and a dynamic accuracy of about 2° RMS.

The motion range measurement system consists of two sensors attached to the upper arm and forearm. Figure 2 depicts the inertial sensor.



Figure 2. Werium inertial sensor

2.3. Protocol

The protocol consisted of moving the arm performing two repetitions of the flexo-extension of the elbow. The user must extend the arm at the beginning of the experiment in order to calibrate the sensors to the body limb avoiding the misalignment between sensor and body segments. The length of the body limbs are considered in the equations of the kinematic model. We shall call p_1 the length of the upper arm and p_2 the length of the forearm.

The user wore the inertial sensors and sat in front of a webcam. Both capture systems, inertial and webcam-based, were initiated at the same time and capture the range of motion in real time. The inertial sensor provides nine variables: three angles of rotations (Euler angles), three angular velocities, two checksums and current frame. We will use the three first measures, i.e., the Euler angles.

These angles provide information about the rotation angles in the X axis, which is called alpha, the second (Y axis), beta, and the third angle gamma (z axis).

These angles are translated into the direct cosine matrix (DCM) according to this equation 1.

$$[R] = \begin{bmatrix} \cos \alpha & \sin \alpha & 0 \\ -\sin \alpha & \cos \alpha & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & \cos \beta & \sin \beta \\ 0 & -\sin \beta & \cos \beta \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \cos \gamma & \sin \gamma & 0 \\ -\sin \gamma & \cos \gamma & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (1)$$

Each rotation matrix is then multiplied by the inverse of the initial matrix ($t=0$) in order to get the unity matrix. With this step, both sensors are aligned at the initial frame and respect to the body limb (forearm and upperarm). At this point, we get two matrixes R_1 and R_2 corresponding to inertial sensor 1 (upperarm) and 2 (forearm) respectively.

Then, two vectors are calculated representing the upper and forearm segments. The shoulder coordinates are located at the origin (0, 0, 0). From this point, elbow and wrist coordinates are calculated according to the body length.

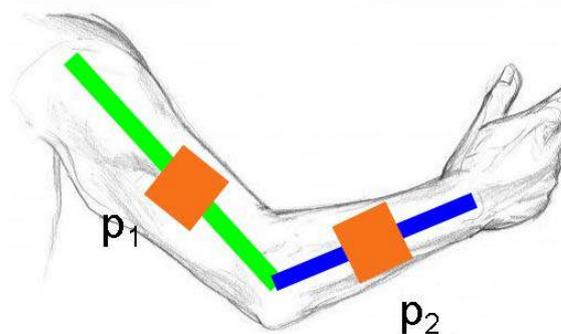


Figure 3. p_1 and p_2 are vectors aligned to the body segments. Orange box represent the location of the inertial sensors on forearm and upper arm

The first vector p_1 is equal to the length of the upper arm pr_1 multiplied by the first rotation matrix (R_1 , see Equation 1) provided by inertial sensor 1. The origin of the second vector p_2 depends on the first segment, and the length of the second segment of the forearm pr_2 multiplied by the rotation matrix of the second segment (R_2 , see Equation 1), provided by the inertial sensor 2:

$$p_1 = pr_1 * R_1$$

$$p_2 = p_1 + pr_2 * R_2$$



Figure 4. Position of the inertial sensors on upper arm and forearm, which are also used as markers for Kinovea analysis

This is a simple kinematic model to study the range of motion of the elbow flexo-extension. Then, the angle between the two vectors is calculated. These operations are performed for both sensors. Finally, data was stored in order to be post-processed using Matlab.

Kinovea software provides the position of three points located in the arm and through the scalar product theorem the angles are achieved. The system requires wearing some markers, which will be identified with the video analysis. Figure 4 depicts the location of the markers (the inertial sensors can be used as markers).

Then, data containing the coordinates of each marker are exported to an excel file. Vectors v_1 (upper arm position) and v_2 (forearm position) are calculated using the coordinates captured with Kinovea software and angles are estimated using the dot product.

$$\vec{v}_1 \cdot \vec{v}_2 = |\vec{v}_1| |\vec{v}_2| \cos(\alpha) \rightarrow \alpha = \cos^{-1} \left(\frac{\vec{v}_1 \cdot \vec{v}_2}{|\vec{v}_1| |\vec{v}_2|} \right)$$

2.4. Post-processing using Matlab

We used Matlab to study the correlation between data coming from the inertial sensors and the Kinovea software. In order to represent graphically the movement of the upper arm and forearm, vectors are represented at each frame getting a real image of the elbow flexo-extension.

We selected the Root-Mean-Square-Deviation (RMSD) to measure the deviation between the angle estimation of both systems. The RMSD is the measure to assess how well both estimations are correlated. In the following equation, x_1 and x_2 correspond to the angle estimations using Kinovea and inertial sensors.

$$RMSD = \sqrt{\frac{\sum_1^n (x_1 - x_2)^2}{n}}$$

3. Results

Data were collected from each system. A script was implemented using Matlab, which included data

formatting and the calculation of the Root-Mean-Square-Deviation (RMSD). After the analysis, an average RMSD of 6.2 degrees was obtained. Figure 5 depicts the curves for the elbow flexo-extension estimated using Kinovea and inertial sensors (two repetitions of elbow flexo-extension).

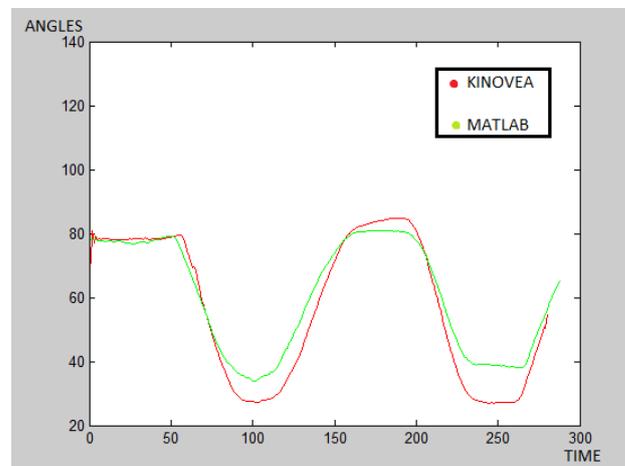


Figure 5. Estimation of the flexo-extension of the elbow using inertial sensors (green curve) and Kinovea (red curve)

4. Discussion and future work

This paper's goal was to validate a system made up by two inertial sensors as a tool to measure the motion range of the elbow. Inertial sensors are wearable devices to measure the range of motion, accelerations and angular velocities about the three axes of the movement, frontal, sagittal and transverse. We used Kinovea, free software that measures the angle in the sagittal plane using artificial vision techniques, as the ground truth for the measurement of the motion range. The advantages of the inertial sensors are that they provide a 3D estimation whereas a webcam system provides a 2D estimation, they have a lower cost, and they require less computing power.

An algorithm was implemented in Matlab to estimate the range of motion using both systems and the deviation of the results was analyzed using the RMSD metric. A deviation of 6 degrees was obtained. This is considered as an acceptable result, which validates the algorithms implemented.

The final goal of this work is to create a low-cost system, which measures the range of motion in the three axes. Future work will analyze the precision of the estimation using inertial sensors in relation with a gold standard system, such as photogrammetric systems.

References

- [1] D. Strelow and S. Singh, "Motion estimation from image and inertial measurements," *The International Journal of Robotics Research*, vol. 23, no. 12, pp. 1157–1195, 2004.
- [2] S. Hesse, H. Schmidt, C. Werner, and A. Bardeleben, "Upper and lower extremity robotic devices for rehabilitation and for studying motor control. trauma and

- rehabilitation.” *Current Opinion in Neurology*, vol. 16, no. 6, pp. 705–710, 2003.
- [3] D. Giansanti, V. Macellari, G. Maccioni, and A. Cappozzo, “The development and test of a device for the reconstruction of a 3-d position and orientation by means of a kinematic sensor assembly with rate gyroscopes and accelerometers,” *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 52, no. 7, pp. 1271–1277, 2005.
- [4] Rocon, E.; Ruiz, A.; Pons, J. On the Use of Rate Gyroscopes for Tremor Sensing in the Human Upper Limb. In *Proceedings of the International Conference EuroSensors XIX*, Barcelona, Spain, 1–14 September 2005.
- [5] Roetenberg, D.; Luinge, H.; C.Baten.; Veltink, H. Compensation of magnetic disturbances improves inertial and magnetic sensing of human body segment orientation. *IEEE Trans. Neural Syst. Rehabil. Eng.* 2005, 13, 395–405.
- [6] Werium Assistive solutions S.L., www.weriumsolutions.com, accessed in September 2015.
- [7] Kinovea software, <http://www.kinovea.org/>, accessed in September 2015

Modelado

Viernes 6 de Noviembre

The Effect of Reference Electrode Position in Cochlear Implants

A. Ramos de Miguel¹, A. Ramos Macías², J. Viera Artiles², M.T. Pérez Zaballos¹

¹ Universidad Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, España, aramos.gcc@gmail.com, mtperezaballos@gmail.com

² Hospital Universitario Insular Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, España, ramosorl@idecnet.com, jaimevieraartiles@gmail.com

Abstract

In cochlear implants, extensive research has been conducted on intracochlear electrode position, but very little is available on the influence of the reference electrode (RE) on the electrical stimulation. This work shows the variability in RE placement in the temporal bone in CI patients

1. Introduction

The position of the RE has been surprisingly understudied. In fact, there are no articles where a correlation between battery life and position of the RE are investigated. Most curiously is that the position of this electrode has a bigger influence than intracochlear electrode placement, regarding power consumption.

Despite the use of different electrode designs and coding strategies across Cochlear Implant (CI) companies, the variability in auditory abilities of CI recipients seems to be more similar across devices than for the same device across individuals. This suggests that significant recipient-dependent factors limit overall auditory ability at the individual level. Aspects such as neural survival or ossifications are known to have a significant effect. Unfortunately, little can be done to improve patient performance in such cases. However, there might be other reasons related to the physical characteristics of the device, rather than the patient's etiology.[1]

The vast majority of patients implanted today use monopolar stimulation, a strategy that generates a potential difference between an intra-cochlear and one or more extra-cochlear ones. This potential creates an electrical resistance in the tissue, which in turn causes an electrical current that can stimulate the auditory nerve. High impedance can cause losses in signal quality, thus requiring high power for the patient to efficiently detect electrical pulse. It can even lead to the deactivation of some electrodes, because their consumption and stimulation time are so large that hinder the global stimulation strategy as more power is drawn by them. This results in a decrease in battery life, but also in a higher spread of excitation. However, as opposed to neural survival, decreasing impedance if feasible and can solve the issue. How this might be done depends on the source of impedance.

This study aims to gauge whether one of such factors might be Reference Electrode (RE) placement. This could be achieved by reducing the space between the reference

and signal electrodes. By reducing the amount of tissue between them, impedance should be lower and the same pulse intensity could be obtained with less power. [2][3]

In CI surgery, not much attention is given to the specific placement of the Reference Electrode (RE). The surgical technique historically suggests positioning it as far as possible from the electronic part of the implant, to avoid interferences during stimulation. Nowadays, this part is currently isolated from this type of interference by Faraday cages. Therefore the RE can now be positioned closer to the stimulation areas. [4][5]

There is extensive literature where many variables concerning intra-cochlear electrodes are evaluated. In contrast, very few studies have explored the effects of position, number or shape of the RE, without which the CI could not properly function. A field that has been explored in more depth is the comparison between monopolar and bipolar stimulation on the, still controversial, hypothesis that more restricted current fields can provide better speech perception. There are, however, problems with bipolar stimulation: 1) Bipolar electrodes require higher currents for supra-threshold stimulation because of current shunt from electrode to electrode and 2) high potentials and high current densities form around each of the two electrodes and supra-threshold excitation is possible near both the source and the sink electrodes. Therefore, consumption is still a major drawback in this stimulation mode, which makes monopolar the preferred choice of most audiologists. This is why it is important to evaluate whether RE position in monopolar stimulation can decrease power consumption as well as improving electrical field sharpness. [6][7][8][9][10][11][12]

The aim of this study is to examine variability in extra-cochlear electrode placement as a contributing factor to variability in auditory ability in CI patients, in the context of two questions, 1) whether the placement has a measurable effect on consumption, and if 2) the electrode position has a functional effect on stimulation intensity. The hypothesis is that the closer the RE is placed from the stimulation region, the less the power consumption required to stimulate auditory neurons will be.

This simple change can be of great advantage regarding battery life and for patients with ossifications in the cochlea, because they require high currents to perceive electrical stimulation, a closer distance between intra and extra-cochlear electrodes may allow the generation of

more intense currents without the need to increase the pulse bandwidth to increase the auditory sensation.

2. Method

2.1 Classical circuit analysis

The first method consisted on a theoretical characterization of the physical system using a model based on classical electricity principles, Ohm's Law.

The resistance opposed by a material to an electrical current flow across it is defined by the electrical resistivity function (1). This formula gives the characteristic R of each biological tissue between the reference and the intra-cochlear electrodes.

$$R = \rho \frac{l}{S} \quad (1)$$

Where l is the length of the conductor, S is its cross section area and ρ is the electrical resistivity coefficient of the material, measured in Ohms per meter ($\Omega \cdot m$). In this study, the values of ρ for endolymph ($\rho = 0.75 \Omega \cdot m$), bone ($\rho = 20 \Omega \cdot m$) and muscle ($\rho = 3.5 \Omega \cdot m$) [13]

A circuit analogue of the real-life system was designed to study the power required to keep an electrical current fixed between two electrodes while bone thickness was varied from 50 to 100mm in increments of 10mm. The circuit design is illustrated in Figure 1.

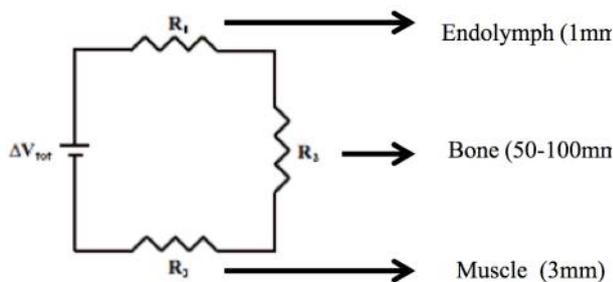


Figure 1. Circuit analogue of the inter electrode region. The different tissues located in this space act as three resistors in series.

2.2 2D Numerical simulations

The second technique used in the study was numerical simulation. A 2D finite element simulation (FEM) of electromagnetic phenomena for low frequency electromagnetics simulations was build on Mathematica (Wolfram Research, Inc., Mathematica, Version 10.0, Champaign, IL (2014)).

A useful approach to the calculation of electric potentials (Voltage) is to relate that potential to the charge density. Since electric charge is the source of electric field, the electric field at any point in space can be mathematically related to the charges present. This is done through the divergence relationship: [14]

$$\nabla \cdot \vec{E} = -\frac{\rho}{\epsilon_0} \quad (2)$$

Since the electric field is also the derivative of the potential, we obtain Poisson's equation:

$$\nabla \cdot \vec{E} = \nabla \cdot \nabla V = -\frac{\rho}{\epsilon_0} \quad (3)$$

In a charge free region of space or when the frequency is low, the governing equation for the electromagnetic field is the static equation, which is Laplace's equation. This is a differential equation with a smooth solution, without singularities. It is used to define the potential energy field caused by a given charge distribution:

$$\nabla \cdot \nabla V = 0 \quad (4)$$

Two types of conditions were used: Dirichlet and null Neumann. The first specifies the conditions that the electrical potential needs to take along the boundary. The second sets the value of its derivative along this boundary. Dirichlet conditions of 0V and 5V were imposed on the reference and intra-cochlear electrodes respectively. The null Neumann condition was applied to the edges that limit the geometry of the system. [15]

Another important step in designing the computer model is the geometry, illustrated in figure 2. The model represents three electrode positions. They all share the same elements, but the distance between the electrodes decreases by a factor of 2 between one case and the next.

As in the previous approach, each element was assigned the same electrical resistivity. Air was also used in this case, with a $\rho = 1.3 \times 10^{12} \Omega \cdot m$. [13]

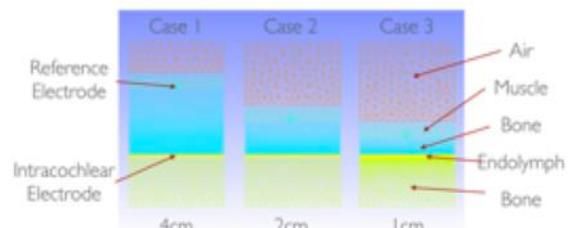


Figure 2. Geometries used in the numerical model. The inter electrode bone layer thickness was modified to study its effect on impedance and thus electrical consumption.

2.3 Temporal bone measurements

A device was designed to stimulate and monitor electrical impulses derived to the temporal bone while measuring impedance, current and voltage.

The purpose built implant consists of one intracochlear and 6 extra-cochlear electrodes. They all have spherical ends with a mean diameter of 0.9mm. All extra-cochlear electrodes can be set to be a RE, one at a time, thus providing 6 different measurement positions. The remaining electrodes act as probes throughout a given stimulation trial.

The system consists of a microcontroller (Arduino UNO) programmed to send electrical signals, sample each of the

probes and store data. It also calculates impedances, currents and power generated during stimulation.

With this data all the electrical characteristics of the circuit can be defined: impedances, currents and voltages.

The software to control the implant is was designed by the Laboratory of Psychoacoustic, Otology and Otoneurology Division, Department of Otolaryngology Head and Neck Department Hospital Universitario Insular Materno Infantil.

The electrode implantation was done on a temporal bone with the cochlea exposed, in order to have access to a wider range of measurement points. The intracochlear electrode was inserted 6 mm from the cochleostomy and then fixed. To facilitate electrical conduction, a steady uniform flow of saline solution was applied over the entire temporal bone throughout the test.

Measurements were taken at three different points across the temporal bone: the mastoid region, the standard position and the root of the zygomatic process of the temporal bone. The specific locations are indicated with black squares in Figure 3. The implant processor returned and average for each point based on 2000 measurements, to minimize the effect of noise on the signals.

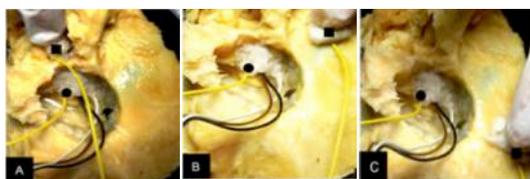


Figure 3. Real images showing the three RE positions studied: a) at the root of the zygomatic process of the temporal bone; b) in the standard temporal bone position; c) far away from the cochlear, in the mastoid region.

3. Results

3.1 Classical circuit analysis

The increase in bone thickness from 5 to 10 cm, with the cross section kept constant at 2 cm², caused R in the circuit model to increase linearly. Since the resistors that represent the endolymph, muscle and bone are in series, they can be associated as a single resistance that will be called ‘body’ for the rest of the analysis.

Thus for a fixed potential of 5V, the current through the circuit will decrease as the thickness of the bone increases.

In the case of power, it is observed that as bone thickness increases, so should P in order to maintain a constant current (Table 1). Here the power values have been normalized with respect to the closest point (5cm) to illustrate how for a bone thickness of 10cm, the power has to be doubled to obtain the same current.

Bone thickness (cm)	Impedance (kOhm)	Voltage (V)	Relative Power (P)
5	2.53	2.53	100%
6	3.03	3.03	120%
7	3.53	3.53	140%

8	4.03	4.03	159%
9	4.53	4.53	179%
10	5.03	5.03	199%

Table 1. Voltage and power values as a function of bone thickness, for a fixed 1mA current.

3.2 2D Numerical simulations

The finite element method was applied to each of the generated geometries to solve the electrostatic problem, defined by the potential between the reference and intra-cochlear electrode.

The measurement taken was the behaviour of the current in the Y-axis, defined as the distance perpendicular to the longitudinal axis of the electrode circumference. The zero point was established in the intra-cochlear electrode and the maximum 6mm away from it. Figure 4 shows how; in the case of shortest distance (bone thickness 1cm) the value of the current is always higher than in the case of maximum distance measured (bone thickness 4cm). The maximum difference is observed in the region near the electrode, which is the target zone for an effective stimulation of the auditory nerve.

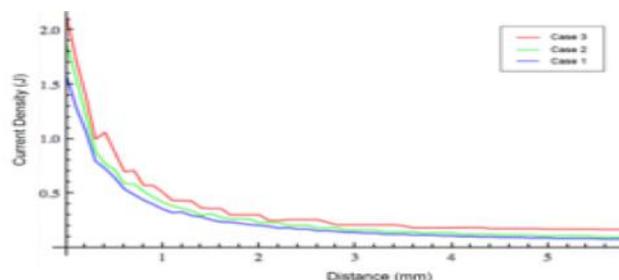


Figure 4. Current as a function of interelectrode distance in the Y-axis.

3.3 Temporal bone measurements

Impedances, currents and potentials that were produced on the temporal bone in the 3 positions described in the previous section were measured (Table 2). It can be seen that, as the reference electrode approaches the intra-cochlear one, the generated current increases. The power when the electrodes are closest (C) is 38.78% greater than for case when they are farthest apart (A). This causes a current 176.12% stronger with a lower potential difference.

Case	Impedance (kOhm)	Voltage (V)	Current (mA)	Relative Power (P)
A	45.88	4.38	0.0955	61.22%
B	30.80	4.20	0.1364	83.87%
C	24.14	4.05	0.1682	100.00%

Table 2. Resistance, voltage, current and power consumption of each RE position

4. Discussion

The position of the RE defines many aspects of the electrical behaviour of the CI once implanted. As shown in the Results section, current intensity, impedance and power necessary to stimulate the auditory nerve are all dependent on it. In this study the effect of distance

between reference and intracochlear electrodes on these parameters has been evaluated. To this end, three independent and complementary methods were used.

Studies on other areas have shown the influence that a correctly positioned RE can have on the efficiency of electrical stimulation. It has been demonstrated that the inclusion of either electrode or tissue capacitance reduces the volume of tissue activated in a manner dependent on the capacitance magnitude and the stimulation parameters (amplitude and pulse width) in deep brain stimulation. [16]

No studies have been published where the position, shape and impedance of the RE are investigated in detail. Yet there is evidence that a change in the impedance of the reference electrode interface causes substantial current variations. The essential result that has been observed is that the position of the reference electrode lines affects impedance and currents generated and therefore, the consumption of the device when stimulating the auditory nerve. [10]

Bone thickness was the adjustable variable of choice in both the theoretical and numerical models in this study because its constant resistivity (ρ) is larger than the other tissues; therefore it will have the strongest effect on conductivity. A real-life example is observed in patients with ossifications. In these cases the current threshold and electrical impedance increase. This happens because the resistivity (ρ) rises and is due to the increased bone density caused by ossification. Therefore, we postulate that placing the RE closer to the edge of the surgical mastoidectomy may result in a decrease in power consumption [17]

Finally, the situation of the facial nerve should not be neglected, as it plays a key role in deciding the location of the RE. [18]

5. Conclusion

As has been observed across the three methods, the position of the RE plays a key roll in the electrical characteristics of the stimulation, modifying the impedances and current densities generated. It has also been observed that in order to keep a current of 1 mA, shorter distances require less power. This is very advantageous on many aspects: without changing the implant specifications, an increase in power can be achieved for patients that need it. It is also a very promising finding regarding consumption, especially nowadays, where the biggest limitations in CI development lie in the high power required by the computationally demanding coding strategies.

References

- [1] Firszt, J. B., Holden, L. K., Skinner, M. W., Tobey, E. A., Peterson, A., Gaggl, W., et al. (2004). Recognition of speech presented at soft to loud levels by adult cochlear implant recipients of three cochlear implant systems. *Hear and Hearing*, 25, 375-378.
- [2] Loizou, P. C. (1999). Introduction to cochlear implants. *Engineering in Medicine and Biology Magazine, IEEE*, 18 (1), 32-42.
- [3] Zierhofer, C. M., Hochmair-Desoyer, I. J., & Hochmair, E. S. (1995). Electronic design of a cochlear implant for multichannel high-rate pulsatile stimulation strategies. *Rehabilitation Engineering, IEEE Transactions on*, 3 (1), 112-116.
- [4] Cohen, N. L., Roland Jr, J. T., & Fishman, A. (2002). Surgical Technique For The Nucleus® Contour™ Cochlear Implant. *Ear and Hearing*, 23 (1), 59S-66S.
- [5] Friedland, D. R., & Runge-Samuelsen, C. (2009). Soft cochlear implantation: rationale for the surgical approach. *Trends in Amplification*, 13(2), 124-138.
- [6] Choi, C. T. (2001). Shape Optimization of Cochlear Implant Electrode Array using Genetic Algorithms. *Proceedings of the 23rd Annual International Conference of the IEEE*, 2, pp. 1445-1448. Istanbul, Turkey: Engineering in Medicine and Biology Society.
- [7] Cohen, L. T., Xu, J., Xu, S. A., & Clark, G. M. (1996). Improved and Simplified Methods for Specifying Positions of the Electrode Bands of a Cochlear Implant Array. *Otology & Neurotology*, 17 (6), 859-865.
- [8] Wolfgang, G., Franz, P., Hamzavi, J., Plenk Jr, H., Baumgartner, W., & Czerny, C. (1999). Intacochlear Position of Cochlear Implant Electrodes. *Acta Otolaryngologica*, 119 (2), 229-223.
- [9] Hochmair Desoyer, I. J., Hochmair, E. S., & Burian, K. (1983). Design and fabrication of multi wire scala tympani electrodes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 405 (1), 173-182.
- [10] Black, R. C., Clark, G. M., & Patrick, J. F. (1981). Current distribution measurements within the human cochlea. *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on*, 10, 721-725.
- [11] Bierer, J. A., & Middlebrooks, J. C. (2002). Auditory cortical images of cochlear-implant stimuli: dependence on electrode configuration. *Journal of Neurophysiology*, 87 (1), 478-492.
- [12] Henry, B. A., McKay, C. M., McDermott, H. J., & Clark, G. M. (2000). The relationship between speech perception and electrode discrimination in cochlear implantees. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 108, 1269-1280.
- [13] IT'IS Database Low-Frequency Conductivity. (n.d.). Retrieved september 2014 from <http://www.itis.ethz.ch/itis-for-health/tissue-properties/downloads/>
- [14] Chari, M. V., & Salon, S. J. (2000). Numerical Methods in Electromagnetism. *Academic Press*.
- [15] Strikwerda, J. (2007). Finite Difference Schemes and Partial Differential Equations. *SIAM*.
- [16] Butson C. R., & McIntyre, C. C. (2005). Tissue and electrode capacitance reduce neural activation volumes during deep brain stimulation. *Clinical neurophysiology*, 116 (10), 2490-2500.
- [17] Shallop, J. K. (1997). Objective measurements and the audiological management of cochlear implant patients. *Advances in Oto Rhino Laryngology*, 53, 85-111.
- [18] Niparko, J. K., viatt, D. L., Coker, N. J., Sutton, L., Waltzman, S. B., & Cohen, N. L. (1991). Facial nerve stimulation with cochlear implantation. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 104 (6), 826-830

Simulación computacional del flujo de orina en un uréter con stent mediante Interacción Fluido-Estructura

J.C. Gómez-Blanco¹, D. Cruz², J. Martínez-Reina², J. Mayo², J.B. Pagador¹, F. Soria³, J. De la Cruz³, F.M. Sánchez-Margallo⁴

¹ Unidad de Bioingeniería y Tecnologías sanitarias, Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España, {jcgomez, jbpagador}@ccmijesususon.com

² Departamento de Mecánica, Escuela Técnica Superior de Ingenieros, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, domincr88@gmail.com, {jmreina, juana}@us.es

³ Unidad de Endoscopia, Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España, {fsoria, jecruz}@ccmijesususon.com

⁴ Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España, msanchez@ccmijesususon.com

Resumen

La complejidad de cualquier tejido biológico hace que los modelos matemáticos que intentan explicar su comportamiento no sean muy precisos. Al intentar analizar matemáticamente esos tejidos es necesario realizar ciertas hipótesis para simplificar el estudio. Con ello en mente, este estudio plantea comprobar si existe un grado de interacción relevante entre un uréter y el flujo de orina que circula por él al colocar un stent doble-J en su interior.

Para ello, a partir de datos de caracterización del comportamiento mecánico del uréter mediante pruebas ex vivo e in vivo, se realizaron una serie de simulaciones computacionales de elementos finitos denominadas Interacción Fluido-Estructura (FSI) con varios modelos matemáticos. En estas simulaciones se consideró el uréter como un material hiperelástico, no-lineal, cuasi incompresible y con un comportamiento isotrópico. Los resultados muestran que la interacción entre el uréter con stent y la orina es poco relevante. Por lo tanto, se puede considerar que el método FSI supone un gasto computacional excesivo, pudiéndose obtener los mismos resultados con modelos menos complejos. No obstante, como se ha utilizado una geometría simplificada será necesario realizar en el futuro simulaciones con modelos geométricos más realistas obtenidos a partir de imagen médica, comprobándose en cada caso la relevancia de la interacción entre el uréter y la orina.

1. Introducción

El flujo de orina de la pelvis renal a la vejiga a través del uréter se produce de forma normal (en un sujeto sano) por un fenómeno fisiológico (peristalsis) que provoca una dilatación del conducto en forma de huso que viaja a lo largo del uréter transportando un volumen de orina. El bloqueo del uréter causado por patologías como cálculos renales, inflamación o tumoraciones puede reducir o anular ese flujo, pudiendo ocasionar una patología más severa y un mayor peligro para el paciente.

En ciertos casos y cuando no sea posible eliminar la obstrucción se puede actuar de dos maneras, la primera es la realización de una nefrostomía (drenaje temporal del tracto urinario) y la segunda la inserción de un stent (cánula médica). En ambos casos, el objetivo es reducir la

presión aguas arriba, en la pelvis renal, para impedir que se detenga la producción de orina y se produzca un fallo renal.

Al colocar un stent, el uréter pierde su tonalidad muscular manteniéndose dilatado y perdiendo el peristaltismo, lo que provoca que el flujo de orina se tenga que producir por diferencias de presiones únicamente.

En los años, 70 Yin y Fung [1] comenzaron a estudiar las propiedades mecánicas del uréter mediante ensayos ex vivo. Posteriormente Knudsen [2] obtuvo datos in vivo de las propiedades mecánicas del uréter para realizar una primera caracterización y Sokolis [3] demostró que la mecánica de un uréter sigue leyes anisótropas y no lineales. Aunque un estudio más reciente de Rassoli [4] demostró que no todos los uréteres se comportan de la misma manera y en función de cómo estén colocadas sus fibras tendrán unas propiedades más o menos isotropas.

Con la evolución del cálculo computacional, ciertos investigadores como Jiménez Lozano [5] o Vahidi [6] empezaron a simular mediante Fluido-dinámica Computacional (CFD, de sus siglas en inglés Computational Fluid Dynamics) en 2 dimensiones cómo se comporta el uréter durante la peristalsis. Hosseini [7] realizó posteriormente el mismo estudio pero en 3 dimensiones, mientras que Cummings [8], Waters [9] y posteriormente Siggers [10] hicieron un estudio mediante CFD de un uréter con stent. En todos se simuló solamente la evolución de la orina salvo Hosseini [7] que posteriormente haría un estudio físico del uréter mediante un Análisis de Elementos Finitos (FEA, del inglés Finite Elements Analysis).

Dado los antecedentes descritos, es necesario comprobar la influencia mecánica del uréter en el transporte de orina en un uréter con stent. Así pues, el objetivo de este trabajo es determinar si un uréter humano con un stent doble-J influye en el flujo de orina que circula por él en el caso de pico de diuresis mediante la realización de simulaciones conjuntas de CFD y FEA, denominados estudios de

Interacción Fluido-Estructura (FSI, del inglés Fluid-Structure Interaction).

2. Metodología

2.1. Modelos de comportamiento de materiales

El estudio mediante simulación computacional exige conocer ciertos parámetros iniciales que definan cómo se va a comportar mecánicamente el sistema, ello supondrá la aceptación de ciertas hipótesis. La primera es suponer que el uréter se comporta de forma isotrópica (curvas de tensión-deformación de Rassoli [4]). La segunda es considerar al uréter como un material hiperelástico, hecho que se ha repetido a lo largo de todas las investigaciones antes descritas, lo que conlleva a que el uréter sea considerado como un material no-lineal e incompresible o cuasi-incompresible.

La definición de los materiales hiperelásticos isotrópicos se realiza en relación a su función de densidad de energía de deformación, existiendo varios modelos matemáticos para materiales hiperelásticos. En este estudio se analizarán algunos de ellos, en concreto:

- Mooney-Rivlin
- Yeoh
- Ogden de un término

Una vez seleccionados los modelos a utilizar es necesario realizar un ajuste de los parámetros de cada uno de ellos para que representen fielmente el comportamiento del material.

2.2. Geometría y mallado

Desde el punto de vista del Método de los Elementos Finitos (FEM) el modelo tiene dos dominios, uno sólido (uréter) y otro fluido (orina), al tener dos dominios de naturaleza diferente es necesario recurrir a la Simulación Numérica Multifísica y en concreto a la FSI.

Para poder realizar las simulaciones es necesario definir los elementos infinitesimales que conforman la malla, que serán del tipo C3D8H para el dominio sólido y FC3D8 para el fluido. Los elementos del tipo C3D8H son híbridos tridimensionales con forma de hexaedro de 8 nodos y los del tipo FC3D8 son elementos tridimensionales para fluidos con forma de hexaedro y 8 nodos. La disposición de cada nodo de la malla se ha calculado con una rutina en Matlab R2009b.

Desde la unión pieloureteral (UPJ, del inglés UreteroPelvic Junction) hasta la unión vesicoureteral (VUJ, del inglés VesicoUreteric Junction) un uréter sano tiene unos 28 cm de longitud con una luz interior media de 0.12 mm^2 con un espesor de aproximadamente 1mm. Supondremos por lo tanto que el uréter es un cilindro con espesor y diámetro luminal constante y estará definido de la siguiente manera:

- Longitud = 28cm
- Diámetro interior = 3mm
- Diámetro de stent = 1mm
- Espesor del uréter = 1mm

La rapidez con la que se realizan los cálculos en la simulación dependen, entre otros factores, del número de elementos infinitesimales en los que se divide la geometría, por lo que hay que buscar un compromiso entre el gasto computacional y la precisión de los resultados. Para llegar a ese compromiso el dominio sólido se ha dividido en 140 secciones longitudinales, cada una de ellas en 24 acimutales y cada acimutal en 3 radiales dando un total de 10.080 elementos en total

El dominio fluido tendrá 16.800 elementos distribuidos de forma que haya 140 secciones, 24 divisiones acimutales y 5 elementos radiales.

2.3. Ecuaciones constitutivas de los modelos

Para el dominio sólido, las ecuaciones que gobiernen el sólido serán las ecuaciones de equilibrio dinámico de dicho dominio.

$$\rho a_i - \sigma_{ij,j} - \rho f_i = 0 \quad \text{para } D$$

$$\sigma_{ij} n_j - t_i = 0 \quad \text{para } \partial D$$

Donde a_i es la aceleración del punto i , f_i es la fuerza por unidad de masa, σ_{ij} es la tensión, n_j es el vector unitario normal al dominio y t_i es el vector de tensión superficial.

De la misma forma, para el dominio fluido supondremos en este estudio inicial que la orina se comporta como el agua, considerándose un fluido Newtoniano, homogéneo, viscoso, incompresible con flujo laminar, con una densidad de 1.000 kg/m^3 y una viscosidad cinemática de 1.3 cP . Las ecuaciones que rigen el comportamiento serán las de Navier-Stokes de cantidad de movimiento y continuidad.

$$\nabla \cdot \vec{v} = 0$$

$$\rho \frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + \nabla p = \mu \nabla^2 \vec{v} + \rho \vec{f}_m$$

Donde \vec{v} es el vector velocidad, ρ la densidad de masa, p la presión estática, μ la viscosidad dinámica y \vec{f}_m un vector de fuerzas másicas.

Se empleará como herramienta matemática la formulación Arbitraria Lagrangiana-Euleriana (ALE) que permite que los puntos espaciales del dominio se puedan mover con velocidades independientes de la velocidad de la partícula material, lo que los lleva a sustituir la velocidad convectiva por la velocidad relativa en las ecuaciones de Navier-Stokes, quedando:

$$\nabla \cdot \vec{v} = 0$$

$$\rho \left(\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + (\vec{v} - \vec{w}) \nabla \vec{v} \right) + \nabla p = \mu \nabla^2 \vec{v} + \rho \vec{f}_m$$

Donde \vec{w} es la velocidad de la malla.

Son necesarias, al igual que para el dominio sólido y fluido, las ecuaciones que gobiernan la interacción entre ambos dominios, estas representan las condiciones de no penetración y deslizamiento, obteniendo respectivamente:

$$d_i^s = d_i^f$$

$$\frac{\partial d_i^s}{\partial t} = \frac{\partial d_i^f}{\partial t}$$

Donde d_i^s es el desplazamiento del punto i del dominio sólido y d_i^f el desplazamiento del punto i del dominio fluido.

Además se impondrá el equilibrio de tensiones en las superficies de contacto,

$$n_j \sigma_{ij}^s = n_j \sigma_{ij}^f$$

Siendo σ_{ij}^s y σ_{ij}^f las tensiones en la superficie de contorno de la FSI del sólido y del fluido respectivamente.

2.4. Cargas

El uréter está sometido a una serie de cargas que influyen en todos los dominios y por ello deberán definirse. Se tienen: 1) la presión intrabdominal sobre la pared del uréter que es la presión ejercida por el tejido conjuntivo laxo y los órganos que rodean al uréter, 2) la presión en la UPJ que es la presión del fluido en la pelvis renal y 3) la presión en la VUJ que será la presión de la vejiga.

Para la definición de estas variables se optó por realizar experimentos en modelo animal. Kinn [11] y Venkatesh [12] en los estudios que realizaron afirman que la morfología e histología del tracto urinario porcino es muy similar al humano pudiendo realizar pruebas y obtener datos extrapolables. Aceptando, por tanto la validez de los modelos animales, se realizaron las pruebas en modelo porcino obteniéndose los siguientes valores:

- Presión intrabdominal = 266 – 532 Pa
- Presión en la UPJ = 267 – 665 Pa
- Presión en la VUJ = 266 Pa

Además se tiene que la peristalsis empieza cuando la presión en la pelvis renal alcanza un valor entre 3 y 5 mmHg.

2.5. Simulaciones

Con los datos descritos anteriormente, y mediante el software Abaqus de Dassault Systems utilizando la opción de Co-simulación entre los módulos Abaqus/Standard y Abaqus/CFD, se realizan las simulaciones que representarán un uréter con stent con poliuria o pico de diuresis. En esta simulación se analizarán 20 segundos dado que el régimen transitorio es muy corto. Durante este periodo se impondrán unas presiones (condiciones de contorno) constantes con los siguientes valores.

- Presión intrabdominal = 533.28 Pa
- Presión en la UPJ = 666.61 Pa
- Presión en la VUJ = 266.24 Pa

Se realizará con esas condiciones una simulación para cada modelo matemático seleccionado (Mooney-Rivlin, Ogden y Yeoh).

3. Resultados

Una vez realizadas todas las simulaciones los datos obtenidos de tensiones y deformaciones se comparan en las Tablas 1 y 2.

	σ_r (Pa)		σ_θ (Pa)		σ_z (Pa)	
	Max	Min	Max	Min	Max	Min
M-R	-274.04	-663.89	235.13	-1074.49	-385.45	-679.04
O	-271.11	-705.08	-264.00	-1081.54	-441.01	-753.81
Y	-271.70	-696.74	-264.86	-1082.48	-440.64	-749.55

Tabla 1. Tensiones en uréter con stent para cada modelo matemático (M-R: Mooney-Rvlin, O: Ogden, Y: Yeoh, σ_r : Tensiones radiales, σ_θ : Tensiones acimutales, σ_z : Tensiones longitudinales)

	ϵ_r (%)		ϵ_θ (%)		ϵ_z (%)	
	Max	Min	Max	Min	Max	Min
M-R	0.032	-0.039	0.020	-0.073	0.013	-0.022
O	0.470	-0.246	0.265	-0.566	0.130	0.084
Y	0.394	-0.210	0.221	-0.476	0.107	-0.071

Tabla 2. Deformaciones en uréter con stent para cada modelo matemático (M-R: Mooney-Rvlin, O: Ogden, Y: Yeoh, ϵ_r : Deformaciones radiales, ϵ_θ : Deformaciones acimutales, ϵ_z : Deformaciones longitudinales)

Observando los valores de las tensiones, ya sean las radiales, circunferenciales o longitudinales, se obtienen valores muy similares para el modelo de Ogden y de Yeoh, aunque los valores del modelo de Mooney-Rivlin difieren de forma más acusada. Los valores de deformaciones muestran el mismo comportamiento que los valores de tensión, obteniendo con el modelo de Mooney-Rivlin valores 10 veces menores a los del resto de modelos.

Estos valores nos llevan a pensar que el modelo de Mooney-Rivlin simula un uréter más rígido que el de Ogden o de Yeoh. Para corroborar esa suposición se ha calculado la gráfica de tensión-deformación (figura 1). En ella se pueden ver las diferentes pendientes de las curvas en el régimen de pequeñas deformaciones, obteniendo tal y como se sospechaba que la pendiente del modelo de Mooney-Rivlin es mucho mayor que la de los modelos de Ogden y Yeoh. Por lo tanto, la diferencia en los valores de las tensiones y deformaciones se debe a que el modelo de Mooney-Rivlin representa un uréter más rígido que el resto de modelos.

Independientemente de la rigidez que represente cada uno de los modelos, las deformaciones que se producen en ningún caso llegan al 1% de la medida nominal del sistema, cuando se esperaban valores mucho mayores. Esto nos lleva a pensar que no hay una influencia relevante del uréter en el flujo de orina cuando tiene insertado un stent.

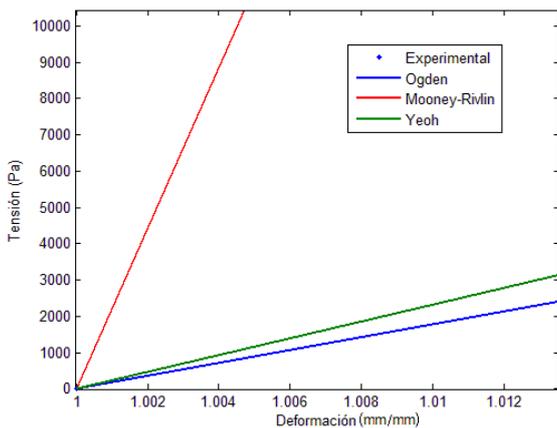


Figura 1. Gráfica tensión-deformación en el rango de pequeñas deformaciones

Además de los datos correspondientes al dominio sólido, también se obtuvieron datos procedentes del dominio fluido, en este caso las velocidades que se dan a lo largo del uréter, éstas se pueden resumir en un perfil de velocidades (figura 2).

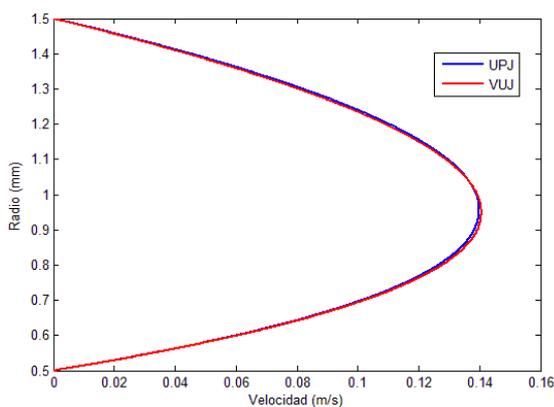


Figura 2. Perfil de velocidades en la UPJ y VUJ

Los valores máximos de velocidad del fluido están localizados en el centro de la luz de la tubería, de forma similar a los flujos en tuberías rígidas.

4. Conclusiones

Al tratarse el uréter de un material hiperelástico cabe esperar que al aplicar una determinada tensión se produzca una deformación muy elevada, la deformación obtenida para el uréter simulado se puede obtener a partir de la gráfica tensión-deformación, en donde se comprueba que cada modelo matemático da una rigidez diferente al uréter, siendo el modelo de Ogden el más blando y el de Mooney-Rivlin el más rígido.

Analizando las deformaciones máximas que se han obtenido de las simulaciones ($4.3 \cdot 10^{-3}$ mm del modelo matemático de Ogden) en función de las dimensiones nominales del sistema obtenemos una conclusión clara: las deformaciones son despreciables y por tanto la influencia del uréter con stent en el flujo de orina no es significativa.

Al comportarse el uréter como un sólido rígido en todo momento y para cualquier modelo matemático, la realización de simulaciones mediante FSI conlleva un gasto computacional excesivo ya que se podrían obtener los mismos resultados mediante un cálculo con CFD.

No obstante, al haber realizado simplificaciones en este trabajo serán necesarios nuevos estudios para perfeccionar los modelos. En concreto, la asimilación de la geometría de un uréter a un cilindro se mejorará utilizando una geometría realista procedente de uréteres reales (TAC y RMN). Por otro lado, la suposición del comportamiento de la orina como agua se comprobará mediante una serie de estudios específicos. Además, se analizarán en detalle los datos de caracterización mecánica de estudios previos para ver si son susceptibles de alguna mejora. Todo ello con el fin claro de mejorar las simulaciones realizadas dotándolas de un mayor realismo.

5. Referencias

- [1] Yin, F. C. P., Fung, Y. C., "Mechanical properties of isolated mammalian ureteral segments", *Am. J. Physiol.*, 1971, Vol 221(5), 1484-1493.
- [2] Knudsen, L. et al., "Elastic wall properties and collagen content in the ureter: an experimental study in pigs", *Neurourol Urodyn.*, 1994, vol 13, 597-608.
- [3] Sokolis, D. P., "Multiaxial mechanical behaviour of the passive ureteral wall: experimental study and mathematical characterization", *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 2012, vol 15:11, pp: 1145-1156.
- [4] Rassoli, A. et al., "Biaxial mechanical properties of human ureter under tension", *Miscellaneous*, 2014, 1678-1686.
- [5] Jiménez-Lozano, J., "Peristaltic flow with application to ureteral Biomechanics", *PhD. Thesis in Mechanical Engineering. Notre Dame University*, 2009, Indiana, USA.
- [6] Vahidi, B. et al., "A mathematical simulation of ureter: effects of the model parameters on ureteral pressure/flow relations", *J. Biomech. Eng.*, 2011, 133 (4), 031004.
- [7] Hosseini, G. et al., "Computational Simulation of the Urinary System", *World Congress on Engineering and Computer Science*, 2012 Vol. II. ISBN: 978-988-19252-4-4
- [8] Cummings, L. J. et al., "The effect of ureteric stents on urine flow: reflux", *J. Math. Biol.*, 2004, 49, 56-82.
- [9] Waters, S. L. et al., "Ureteric stents: investigating flow and encrustation", *Proc. IMechE*, 2008, Vol. 222, 551-561.
- [10] Siggers, J. H. et al. (2008), "Flow dynamics in a stented ureter", *Math. Med. Biol.*, 2009, 26(1):1-24.
- [11] Kinn AC, Lykkeskov-Andersen H. Impact on ureteral peristalsis in a stented ureter. An experimental study in the pig. *Urol Res.* 2002; 30:213-8.
- [12] Venkatesh R, Landman J, Minor SD, Lee DI, Rehman J, Vanlangendonck R, et al. Impact of a double-pigtail stent on ureteral peristalsis in the porcine model: initial studies using a novel implantable magnetic sensor. *J Endourol.* 2005; 19:170-6.

Plasticidad en la Expresión Genética de la Función Cardíaca y su Regulación Nerviosa Inducida por el Entrenamiento en Atletas de Ultra-Trail

M. Maqueda-González^{1,2}, E. Roca-Rodríguez³, D. Brotons-Cuixart⁴, J.M. Soria⁵, A. Perera-Lluna^{1,2}

¹Dep. ESAIL, Centro de Investigación en Ingeniería Biomedica, Universidad Politécnica de Cataluña (UPC), Barcelona, España. maria.maqueda@upc.edu alexandre.perera@upc.edu

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

³Facultad de Medicina, Universidad de Girona, España. emma@emmaroca.com

⁴Àrea Medicina de l'Esport, Consell Català de l'Esport, Barcelona, Spain. dbrotons@gencat.cat

⁵Unidad de Genómica de Enfermedades Complejas, Instituto de Investigación del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España. jsoria@santpau.cat

Resumen

Este trabajo presenta resultados de la evaluación de la regulación genética y su plasticidad inducida por el régimen de entrenamiento de un grupo de 16 atletas mediante un análisis de expresión genética diferencial como respuesta a la participación en una carrera de 82km. Los atletas se clasificaron en élite y activos. Se realizó un análisis orientado a aquellos genes anotados en vías biológicas relacionadas con la función cardíaca y su regulación nerviosa según la base de datos KEGG PATHWAY. La respuesta al ejercicio estuvo modulada por el entrenamiento de los atletas en base a una lista de 18 genes priorizados con expresión diferencial significativa para los corredores de élite. Entre éstos, se encuentra una infra-regulación de UQCR11, COX7C y COX4II, relacionados con la cadena respiratoria mitocondrial; y una sobre-regulación en PIK3R2, PLCG2 e IRAK3 provenientes de las cascadas de señalización positiva de las neurotrofinas.

1. Introducción

Las carreras de *ultra-trail* son una disciplina muy adecuada para investigar la respuesta fisiológica a un ejercicio de resistencia, dada su alta intensidad y larga duración [1]. El estudio de la variabilidad del ritmo cardíaco es un método extendido para obtener una caracterización de la función cardíaca y su regulación mediante el sistema nervioso autónomo [2]. La mayoría de los autores se han focalizado en examinar los efectos del ejercicio en sujetos activos frente a sedentarios [3] o el cambio en individuos previamente sedentarios [4]. La intensidad, la duración y el tipo de entrenamiento han sido relacionados anteriormente con una actividad específica de regulación genética [5].

El objetivo de este trabajo es analizar la plasticidad de la expresión genética, inducida por diferentes patrones de entrenamiento seguidos por un grupo de corredores, en la respuesta fisiológica a la participación en una *ultra-trail*.

2. Materiales y métodos

2.1. Diseño del experimento

Un total de 16 corredores fueron reclutados y clasificados en dos regímenes de entrenamiento diferentes según las horas de ejercicio semanales: (i) *Activos*: de 3 a 10 horas y (ii) *Élite*: más de 10 horas.

Ocho hombres y dos mujeres formaron el grupo de activos con una media de edad de 38.7±4.7 años, mientras que tres hombres y tres mujeres pertenecían al grupo élite (38.0±1.4 años). Las características de los atletas se encuentran resumidas en la Tabla 1.

Todos los individuos eran atletas experimentados que participaron voluntariamente en el experimento, llevado a cabo durante la 4ª edición (2012) de la competición *Cavalls del Vent* (Parque Natural Cadí-Moixeró, Cataluña).

La carrera se desarrolló entre altitudes de 900 y 2510 metros con un desnivel positivo total aproximado de 5200 metros y una distancia de 82 km. El grupo activo corrió una distancia media de 37.3±14.1 km mientras que los élite alcanzaron una media de 60.3±23.9 km. Debido a las condiciones meteorológicas adversas que se dieron durante la competición, solo tres de los 16 participantes pudieron completar la prueba.

2.2. Procesado de muestras

Se obtuvieron muestras de sangre por venopunción en los periodos previo y posterior a la competición. Las muestras se adquirieron mediante tubos PAXgene Blood RNA siguiendo las indicaciones del fabricante (PreAnalytiX GmbH/QIAGEN, Suiza/USA). Las muestras y datos se enviaron a las instalaciones del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

(HSCiSP) de Barcelona, previa congelación a -80°C e identificación de las mismas.

El ARN fue aislado mediante el kit PAXgene Blood RNA (PreAnalytiX GmbH/QIAGEN, Suiza/USA). La calidad y cantidad de ARN se controló mediante un espectrómetro Nanodrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, USA). Los niveles de expresión para varias muestras se comprobaron mediante PCR en tiempo real para los genes IL-1 β y CD141 a fin de confirmar rendimientos comparables. El ARN se amplificó mediante el kit Ambion TotalPrep RNA Amplification (Life Technologies, Carlsbad USA) para ser finalmente medido por hibridización en la plataforma de microarrays HuGene2.0st (Affymetrix Inc., California USA) en las instalaciones del HSCiSP y así generar los correspondientes archivos CEL.

Id	Nivel de Entrenamiento	Género	Dist ¹ [km]	Edad [Años]
1 ²	Élite	Mujer	82	36
15	Élite	Mujer	82	38
2	Élite	Hombre	42	40
3	Élite	Mujer	82	39
7	Élite	Hombre	33	38
9 ²	Élite	Hombre	41	37
163	Activo	Hombre	50	45
164	Activo	Hombre	50	42
197	Activo	Hombre	25	37
256	Activo	Hombre	50	37
577	Activo	Hombre	25	42
735	Activo	Hombre	50	40
775 ²	Activo	Hombre	28	28
805	Activo	Hombre	50	36
838 ²	Activo	Mujer	31	42
957	Activo	Mujer	14	38

¹Dist: Distancia completada por el corredor.

²Disponibles solo los niveles de expresión antes de la carrera.

Tabla 1. Características de los corredores participantes en el experimento.

2.3. Análisis estadístico de los datos

Se seleccionaron aquellos biomarcadores candidatos de regular y controlar el sistema cardiovascular basándose en una elección previa de *pathways* (vías biológicas) de la base de datos KEGG PATHWAY [6]. Como resultado, se optó por un total de 13 *pathways* (ver Tabla 2) pertenecientes al sistema circulatorio (SC) y nervioso (SN).

Los archivos CEL disponibles (28 en total) se analizaron con el software R para análisis estadístico (v3.2.0) [7] y BioConductor v3.1 [8]. Los valores de intensidad en crudo fueron manipulados con el fin de obtener unos valores de expresión comparables desde un punto de vista biológico, libres de sesgo y sin variabilidad asociada al *microarray*. Con este propósito, se utilizó el algoritmo *Robust Multichip*

Average del paquete *oligo* v1.32.0 [9]. Se obtuvo un objeto *ExpressionSet* con los niveles de expresión de 53.617 *transcript clusters* por cada atleta. Sólo se consideraron para el estudio aquellos *transcript clusters* relacionados con la lista de 629 biomarcadores obtenida a raíz de la selección de vías biológicas de interés. Se realizó un control de calidad a dicho objeto para detectar posibles lecturas aberrantes.

KEGG Pathway id	Nombre del Pathway
hsa04260	Contracción muscular cardíaca (SC)
hsa04261	Señalización adrenérgica en cardiomiocitos (SC)
hsa04270	Contracción del músculo liso vascular (SC)
hsa04720	Potenciación a largo plazo (SN)
hsa04721	Ciclo sináptico vesicular (SN)
hsa04722	Señalización por neurotrofinas (SN)
hsa04723	Señalización endocannabinoide (SN)
hsa04724	Sinapsis glutamatérgica (SN)
hsa04725	Sinapsis colinérgica (SN)
hsa04726	Sinapsis serotoninérgica (SN)
hsa04727	Sinapsis GABAérgica (SN)
hsa04728	Sinapsis dopaminérgica (SN)
hsa04730	Depresión a largo plazo (SN)

Tabla 2. Lista de *pathways* relacionados con función cardíaca y su regulación nerviosa según base de datos KEGG PATHWAYS – categorías sistema circulatorio (SC) y sistema nervioso (SN).

Se aplicó un filtro no supervisado, basado en los valores de intensidad y variabilidad globales, con el fin de descartar aquellos genes no informativos. Se obtuvieron de esta manera 77 genes para el análisis posterior. En base al diseño del experimento, tres parámetros fueron identificados como posibles variables asociadas a la respuesta: género G , nivel de entrenamiento T y momento de toma de muestra – pre ó post carrera PP . Se ajusta un modelo de regresión lineal para el nivel de expresión de cada biomarcador (g_k) que considera las variables anteriores y un factor de interacción entre las dos últimas (1). Para ello se hace uso del paquete *limma* v3.24.10 [10].

$$g_k \approx \beta_0 + \beta_1 G + \beta_2 T + \beta_3 PP + \beta_4 (T \cdot PP) + \epsilon \quad (1)$$

Se define una matriz de contrastes específica para obtener las diferencias de expresión de relevancia. Dada esta matriz, se estima el valor de los coeficientes β_i y errores estándar del modelo original (1).

Se aplica un t-test moderado para los contrastes definidos mediante el método empírico de Bayes. Aquellos genes con expresión diferencial significativa fueron seleccionados y ordenados según su p-valor ajustado (5%) aplicando corrección FDR por test múltiple.

La base de datos STRING [11] se utilizó para visualizar las interacciones proteína-proteína codificadas por los genes priorizados previamente obtenidos.

Transcript	Gen	Regulación	p-val aju.	logFC	KEGG Pathways Id
16827366	ATP6V0D1	Up	2.52E-06	1.05	hsa04721
16690566	SORT1	Up	1.26E-05	1.42	hsa04722
16821614	COX4I1	Down	4.80E-05	-0.89	hsa04260
16859763	PIK3R2	Up	1.66E-04	0.86	hsa04261;hsa04722;hsa04725
16668286	GNAI3	Up	2.04E-04	0.86	hsa04261;hsa04723;hsa04724;hsa04725;hsa04726;hsa04727;hsa04728;hsa04730
16753670	IRAK3	Up	3.26E-04	1.35	hsa04722
16837391	KCNJ2	Up	4.13E-04	1.13	hsa04725
17007543	ITPR3	Down	5.62E-04	-0.82	hsa04270;hsa04720;hsa04723;hsa04724;hsa04725;hsa04726;hsa04728;hsa04730
17095111	GNAQ	Up	6.02E-04	0.77	hsa04261;hsa04270;hsa04720;hsa04723;hsa04724;hsa04725;hsa04726;hsa04728;hsa04730
16944096	ATP6V1A	Up	1.07E-03	0.83	hsa04721
16866718	UQCR11	Down	1.40E-03	-0.61	hsa04260
16821326	PLCG2	Up	1.77E-03	0.83	hsa04722
16986983	COX7C	Down	2.65E-03	-0.87	hsa04260
17002846	DUSP1	Up	5.12E-03	0.73	hsa04726
16866974	GNG7	Up	8.42E-03	0.64	hsa04723;hsa04724;hsa04725;hsa04726;hsa04727;hsa04728
16840876	VAMP2	Up	1.91E-02	0.41	hsa04721
16713085	KIF5B	Down	4.93E-02	-0.59	hsa04728
17070634	RIPK2	Down	4.98E-02	-0.53	hsa04722

Tabla 3. Genes priorizados con niveles de expresión diferencial en atletas de elite vs activos como respuesta al esfuerzo físico realizado en la carrera ultra-trail. Ordenados por p-valor ajustado (FDR).

3. Discusión de resultados

56 genes se encontraron diferencialmente expresados como respuesta al ejercicio físico realizado. 18 de ellos (ver Tabla 3) sólo fueron significativos para el grupo de corredores de élite mientras que permanecieron sin significancia estadística entre los activos. Esto puede sugerir que el régimen de entrenamiento indujo un efecto modulador en dicha respuesta. La Figura 1 muestra la red de interacción entre las proteínas codificadas por el conjunto de 18 genes priorizados.

Se observa de forma significativa una infra-regulación en los niveles de expresión de los genes UQCR11, COX7C y COX4I1 anotados en el *pathway* de contracción muscular cardíaca. Se relacionan con la cadena respiratoria mitocondrial (complejos III y IV), esto podría indicar una disfunción mitocondrial debida a una sobrecarga debida al ejercicio como se halló en anteriores experimentos con ratas [12] donde se analizó el cambio metabólico del miocardio como respuesta al ejercicio exhaustivo crónico.

El gen ITPR3 se encuentra infra-regulado. Éste codifica un receptor para un segundo mensajero en la cascada de mediación en la liberación de calcio (Ca²⁺) intracelular, regulador clave de la función mitocondrial. Esto podría revelar una mejor prevención del daño muscular evitando una posible sobrecarga de Ca²⁺ en la matriz mitocondrial, lo cual generaría una mayor tasa de especies reactivas de oxígeno (ROS) [13].

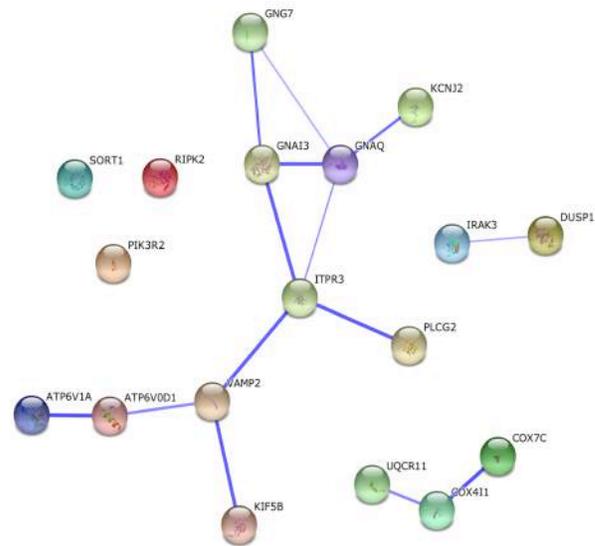


Figura 1. Red de interacciones entre proteínas codificadas por los 18 genes priorizados mostrados en la Tabla 3. Obtenida a partir de la base de datos STRING [11]. Las líneas de mayor grosor representan asociaciones más fuertes bajo códigos de evidencia heterogéneos.

Las cascadas de señalización intracelular por neurotrofinas se hallaron afectadas en base a la sobre-regulación de los genes IRAK3, PLCG2 y PIK3R2 genes cuyas señales promocionan la supervivencia celular [3].

Un estudio previo relaciona las neurotrofinas con la estabilidad y mantenimiento de la inervación simpática del corazón y en consecuencia, como indicador de un mejor control sobre la frecuencia cardíaca [14,15].

5. Conclusiones

La plasticidad en la expresión genética debida a un régimen de entrenamiento específico se ha analizado en términos de función cardíaca y su regulación nerviosa. Se ha detectado una respuesta biológica al esfuerzo físico modulada por un conjunto de genes que han sido identificados y relacionados con la cadena respiratoria mitocondrial y el *pathway* de señalización por neurotrofinas.

Los resultados mostrados generan una serie de hipótesis interesantes en futuros experimentos en los que una mayor población se vea involucrada.

Agradecimientos

Este trabajo fue subvencionado por el proyecto TEC2014-60337-R del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO). CIBER en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina es una iniciativa de ISCIII. Los autores forman parte del grupo consolidado de investigación 2014SGR-1063 de la Generalitat de Catalunya.

Referencias

- [1] Millet GP, Millet GY. Ultramarathon is an outstanding model for the study of adaptive responses to extreme load and stress. *BMC Medicine*, 2012, pp 10-77.
- [2] Melia U, Vallverdu M, Roca E, Brotons D, Irurtia A, Cadefau JA, Caminal P, Perera A. Heart Rate Variability in Ultra-Trail Runners. *Computing in Cardiology*, vol 41, 2014, pp 997-1000.
- [3] Mueller PJ. Exercise training and sympathetic nervous system activity: evidence for physical activity dependent neural plasticity. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, vol 34, 2007, pp 377-384.
- [4] Vance DD, Chen GL, Stoutenberg M, Myerburg RJ, Jacobs K, Nathanson L, Perry A, Seo D, Goldschmidt-Clermont PJ, Rampersaud E. Cardiac Performance, biomarkers and gene expression studies in previously sedentary men participating in half-marathon training. *BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation*, 2014, pp 6.
- [5] Timmons JA, Knudsen S, Rankinen T, Koch LG, Sarzynski M, Jensen T, Keller P, Scheele C, Volvaard NBJ, Nielsen S, Akerström T, MacDougald OA, Jansson E, Greenhaff PL, Tarnopolsky MA, van Loon LJC, Pedersen BK, Sundberg CJ, Wahlestedt C, Britton SL, Bouchard C. Using molecular classification to predict gains in maximal aerobic capacity following endurance exercise training in humans. *Journal Applied Physiology*, vol 108, 2010, pp 1487-1496.
- [6] Kanehisa M, Goto S. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research*, vol 28, 2000, pp 27-30.
- [7] R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- [8] Huber W, Carey VJ, Gentleman R, Anders S, Carlson M, Carvalho BS, Bravo HC, Davis S, Gatto L, Girke T, Gottardo R, Hahne F, Hansen KD, Irizarry RA, Lawrence M, Love MI, MacDonald J, Obenchain V, Oles AK, Pages H, Reyes A, Shannon P, Smyth GK, Tenenbaum D, Waldron L, Morgan M. Orchestrating high-throughput genomic analysis with Bioconductor. *Nature Methods*, vol 12, 2015, pp 115–121.
- [9] Carvalho BS, Irizarry RA. A Framework for Oligonucleotide Microarray Preprocessing. *Bioinformatics*, vol 16, 2010, pp 2363-2367.
- [10] Ritchie ME, Phipson B, Wu D, Hu Y, Law CW, Shi W, Smyth GK. limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Research*, vol 43, sup 7, 2015, e47.
- [11] Jensen LJ, Kuhn M, Stark M, Chaffron S, Creevey C, Muller J, Doerks T, Julien P, Roth A, Simonovic M, Bork P, von Mering C. STRING 8 – a global view on problems on proteins and their functional interactions in 630 organisms. *Nucleic Acids Research*, vol 37, 2009, pp D412-6.
- [12] Kadaja L, Eimre M, Paju K, Roosimaa M, Podramagi T, Kaasik P, Pehme A, Orlova E, Mudist M, Peet N, Piirsoo A, Seene T, Gellerich FN, Seppet EK. Impaired oxidative phosphorylation in overtrained rat myocardium. *Experimental & Clinical Cardiology*, vol 15, 2010, pp e116-127.
- [13] Brookes PS, Yoon Y, Robotham JL, Anders MW, Sheu SS. Calcium, ATP and ROS: a mitochondrial love-hate triangle. *American Journal of Physiology – Cell Physiology*, vol 287, sup 4, 2004, pp C817-C833.
- [14] Caporali A, Emanuelli C. Cardiovascular actions of neurotrophins. *Physiological Reviews*, vol 89, 2009, pp 279-308.
- [15] Habecker BA, Bilimoria P, Linick C, Gritman K, Lorentz CU, Woodward W, Birren SJ. Regulation of cardiac innervation and function via p75 neurotrophin. *Autonomic Neuroscience*, vol 140, 2008, pp 40-48.

Autómata celular para el estudio de la propagación de la bacteria *Escherichia Coli* O25:H4-ST131 productor de BLEE en residencias de mayores

A. Talaminos Barroso¹, L.M. Roa Romero^{1,2}, J. Calvillo Arbizu³, L. López Cerero³, J. Rodríguez Baño³, A. Pascual Hernández^{3,4}

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Sevilla

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

³ Unidad Intercentros de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva. Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla

⁴ Departamento de Microbiología, Universidad de Sevilla

Resumen

*En este trabajo se presenta el diseño e implementación de un modelo computacional basado en autómata celular para el estudio de los mecanismos de transmisión de la bacteria *Escherichia coli* O25b:H4-B2-ST131 productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en un entorno de residencia de mayores. El trabajo toma como base un modelo compartimental presentado previamente que fue desarrollado y validado a partir de la información suministrada por la Unidad de Enfermedades Infecciosas y Microbiología del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla. Tras la implementación del modelo presentado en este trabajo, se han efectuado algunas simulaciones que tratan de poner de manifiesto su utilidad en el análisis de los efectos de las características individuales en la diseminación de la bacteria.*

1. Introducción

El estudio de fenómenos epidemiológicos está cobrando una mayor importancia en la actualidad como fuente de información complementaria para la formulación de políticas de prevención en la sanidad pública. La monitorización, el análisis y la predicción del impacto de enfermedades infecciosas son algunos de los factores fundamentales para la identificación de procedimientos focalizados a la prevención y al control de brotes de infección [1].

Bajo esta perspectiva, el uso de modelos computacionales para estudiar los patrones de propagación de enfermedades ha adquirido una importante trascendencia en los últimos años, influyendo en políticas sanitarias de diversos países gracias al conocimiento generado por estos modelos [2]. Su uso en epidemiología ha permitido la simulación desde fenómenos de propagación entre grandes poblaciones hasta el contagio entre individuos particulares, sirviendo como herramienta predictiva para el análisis cuantitativo y el soporte para la toma de decisiones [3].

En modelado epidemiológico, la diseminación de enfermedades infecciosas es descrita generalmente mediante modelos compartimentales [4], agrupando a la población en función de diferentes estados epidemiológicos. Sin embargo, en estos modelos

compartimentales se asume que la distribución de la población es espacialmente homogénea, considerando a todos los individuos como una entidad única y no analizando los aspectos espaciales que influyen en el proceso de diseminación [5], tales como la densidad de la población o los focos de infección. Aunque esta asunción no es realista, facilita el análisis matemático y ofrece una aproximación razonable, aunque también existen dificultades para describir los mecanismos de interacción en una población donde los factores de contagio van cambiando en función de la zona en la que se encuentra el individuo. Una forma de afrontar esta problemática y contemplar la personalización de las características asociadas a un individuo es mediante el uso de modelos basados en autómata celular.

Un autómata celular [6] es un modelo discreto compuesto por una matriz de casillas (células) donde cada casilla toma un número finito de estados que van evolucionando en el tiempo en función de unas reglas de transición. La principal característica de este tipo de modelos es su compleja evolución global, basada en reglas y patrones de interconexión entre células. Esto da lugar a una gran variedad de posibles desarrollos que permite que los autómatas celulares sean una opción interesante para el la simulación de aplicaciones de muy diversa índole.

En este trabajo se presenta un autómata celular que toma como punto de partida un modelo compartimental SEIS (Susceptible - Expuesto - Infectado - Susceptible) presentado en [8] que fue aplicado al emergente grupo clonal O25b:H4-B2-ST131 [9] de la bacteria *Escherichia coli*. El objetivo final del modelo presentado en este trabajo es tratar de describir los mecanismos de transmisión en un escenario de residencias de mayores, profundizando en diversos aspectos asociados a la transmisión de la bacteria en pequeños reservorios de contagio.

2. Materiales y métodos

2.1. Descripción del modelo

Dimensionalmente los modelos basados en autómata celular pueden estructurarse utilizando una, dos o más

dimensiones [10]. Para este modelo se ha considerado un espacio celular de dos dimensiones por simplicidad y porque un dimensionamiento mayor aumenta significativamente el número de interacciones para cada individuo y no se adecúa al caso real que se pretende modelar.

La forma de interacción de los individuos dentro del espacio celular influye en los resultados de las simulaciones. En este sentido, en los autómatas celulares clásicos se definen dos tipos de interacción o configuración de vecindad: la vecindad de von Neumann y la vecindad de Moore. En la configuración de vecindad de von Neumann, el número de individuos vecinos para cada individuo es de $2\tau(\tau+1)$, mientras que para la configuración de Moore es de $(2\tau+1)^2$, siendo τ el radio de vecindad.

En el escenario de residencia de mayores se ha supuesto que un individuo mantiene contacto directo con unas cuatro personas, considerando a dos cuidadores y a otras dos personas que conviven en la residencia y que son cercanas al individuo. En consecuencia, la vecindad de Von Neuman con un radio de vecindad de uno es la configuración que más se ajusta al comportamiento del autómata celular para una interacción con cinco personas. Sin embargo, la configuración de Moore también ha sido considerada en el diseño del modelo con el objetivo de simular diferentes grados de hacinamiento.

El espacio celular del modelo está compuesto por un grupo de individuos que pueden tomar un conjunto finito de estados. Para este trabajo se han considerado los siguientes estados:

- Susceptible: los susceptibles son aquellos individuos que no han adquirido la bacteria, por lo que no tienen la capacidad de contagiar al resto de individuos que lo rodean.
- Susceptible contagiado: son aquellos individuos que han sido contagiados pero aún no han sido colonizados dado que existe un periodo de incubación de la bacteria. Al igual que los susceptibles, estos individuos tampoco tienen la capacidad de contagiar a los individuos cercanos.
- Colonizado: los colonizados representan aquellos individuos que han adquirido la bacteria pero no han desarrollado infección, por lo que no muestran síntomas de enfermedad. Desde el punto de vista del modelo, los individuos que se encuentran en este estado tienen la capacidad de contagiar la bacteria a los individuos vecinos.
- Enfermo: los individuos en este estado muestran síntomas evidentes de enfermedad y son trasladados al hospital, por lo que no tienen la capacidad de contagiar la bacteria a otros individuos.
- Fallecido: los individuos pueden fallecer por causas ajenas a la infección por *E.coli* sin necesidad de llegar a ser portador. El estado de fallecido es representado como un espacio vacío hasta la llegada de un nuevo individuo.

Para cada individuo, el paso de un estado a otro va a depender de unas determinadas reglas de transición. Estas reglas están asociadas principalmente a una serie de parámetros en relación a las condiciones ambientales del entorno y a las características propias de cada individuo, principalmente vinculadas a sus factores de riesgo. A continuación se describen cada una de las transiciones consideradas entre los estados, ilustradas en la Figura 1:

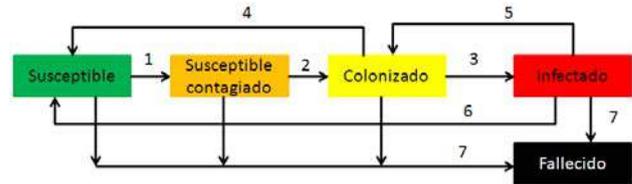


Figura 1. Transiciones para el modelo autómata celular propuesto de *E.coli* O25b:H4-B2-ST131 productor de BLEE en residencias de mayores.

- Transición 1: el paso de susceptible a susceptible contagiado de un determinado individuo va a depender por un lado de diversos factores asociados a los condicionantes ambientales del entorno, y por otro lado, a los individuos con capacidad de contagio que se encuentran más cercanos. Entre los condicionantes ambientales se encuentra el factor higiene, que incide favorablemente y de forma homogénea en todo el espacio celular, previniendo el contagio de la bacteria entre los individuos. Dentro de este contexto ambiental, se han distinguido también dos tipos de regiones especiales que tratan de abarcar distintas situaciones que pueden producirse en un entorno real: las zonas comunes y los brotes de infección. Las zonas comunes son regiones del espacio celular cuya localización exacta es conocida desde el inicio y simbolizan aquellos espacios públicos compartidos por la gran mayoría de individuos donde la bacteria puede transmitirse con mayor facilidad, como pueden ser los baños comunes o el comedor. Por otra parte, los brotes de infección son regiones indeterminadas del espacio celular que surgen de forma esporádica y donde la posibilidad de contagio aumenta durante una duración limitada.
- Transición 2: una vez que un individuo se contagia, existe un periodo de incubación antes de alcanzar el estado de colonizado.
- Transiciones 3 y 4: la transición del individuo del estado de colonizado a otros estados va a depender de los condicionantes internos del propio individuo. Estos condicionantes están asociados principalmente a los factores de riesgo, que van a incidir en que el individuo se desplace a infectado (transición tres) o regrese de nuevo al estado de susceptible (transición cuatro).
- Transiciones 5 y 6: tras la recuperación de la enfermedad, los individuos pueden retornar al estado de colonizado (transición cinco) o al de susceptible con posibilidad de recolonización (transición seis), ya que no existe un estado de inmunidad [11].
- Transición 7: esta transición afecta a todos los estados considerados, a excepción del estado

fallecido, y su significado alude al hecho de que cualquier individuo, independientemente del estado en el que se encuentre, puede pasar al estado de fallecido por cualquier circunstancia, ya sea debido a la bacteria o por otros motivos de salud.

2.2. Cuantificación

Considerando un espacio celular cuadrangular, se ha tomado una población inicial base de 256 individuos conviviendo en una residencia de mayores, donde inicialmente 50 son colonizados, 50 infectados y el resto susceptibles.

El estado de cada individuo es evaluado en cada iteración a partir de las reglas de transición previamente comentadas, donde una iteración representa 24 horas. El número de días considerados entre los diferentes estados (Tabla 1) se basan en los estudios clínicos recogidos por el personal de la Unidad de Enfermedades Infecciosas y Microbiología del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla.

Días de susceptible a susceptible contagiado, tras la adquisición de la bacteria	2
Días mínimo en estado de colonizado	5
Días mínimo en estado de colonizado	30
Días en estado de enfermo	14

Tabla 1. Número de días considerados para cada una de las transiciones.

Las probabilidades medias generales del modelo concernientes a la adquisición de la colonización, infección y recuperación de los individuos fueron tomadas del modelo SEIS presentado en [8], que fue validado a partir de datos reales de pacientes.

Por otra parte, los factores de riesgo considerados [12] se visualizan en la Tabla 2.

Factor de riesgo	Peso	Probabilidad de adquisición.	Probabilidad de pérdida.
Edad	1.05	0.01	0
Uso de Fluoroquinolona	1.29	0.05	0.05
Uso de Piperacilina	1.85	0.05	0.05

Tabla 2. Factores de riesgo considerados

Adicionalmente, se ha considerado una zona común ubicada en el centro del espacio celular en donde el factor de contagio es superior respecto al resto de casillas.

Por último, también se han establecido dos brotes de infección. El primero tiene una duración reducida en el tiempo, una probabilidad de aparición alta y un radio de acción pequeño. Por otra parte, el segundo tiene una probabilidad de aparición baja, una duración mayor y un radio de acción mayor también.

2.3. Codificación

El autómata celular se ha implementado en el lenguaje de programación Java, tomándose además las siguientes asunciones:

- Todos los individuos llevan asociados unos determinados factores de riesgo aleatorios iniciales que inciden en una mayor probabilidad de adquisición de la bacteria y desarrollo de la infección. Estos factores de riesgo pueden evolucionar en el tiempo, por lo que existe la posibilidad de que los individuos adquieran nuevos factores de riesgo o pierdan algunos de los que ya tienen.
- Todos los individuos tienen un alto grado de movilidad, de forma que cada uno de ellos se desplaza a una casilla adyacente en cada transición.
- Cuando pasa al estado enfermo o fallece la casilla del espacio celular permanece vacía.

3. Resultados

Una vez establecidos los valores de los parámetros, la simulación se ejecuta durante un periodo de tiempo suficientemente extenso hasta asegurar que las subpoblaciones consideradas tienden hacia valores estables.

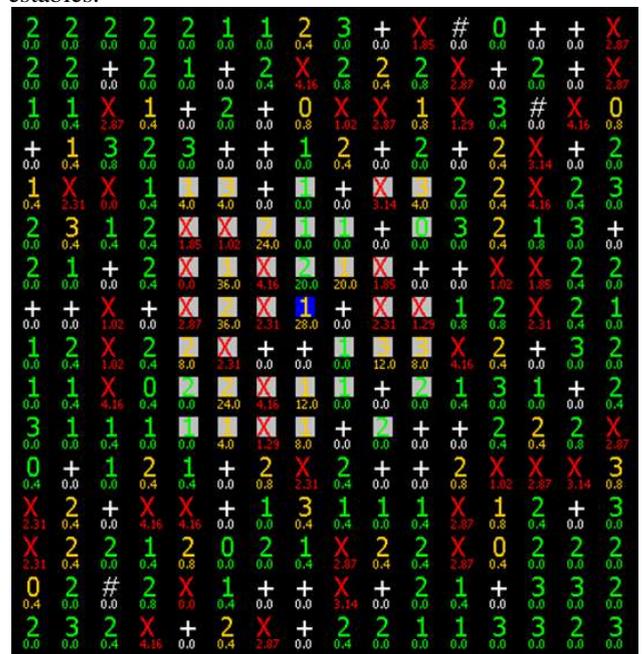


Figura 2. Comportamiento del modelo para un día específico.

La simulación se realiza en tiempo real, observándose la evolución de estado de cada uno de los individuos para cada iteración. Como ejemplo, en la Figura 2 se presenta el estado de cada uno de los individuos para una de las primeras iteraciones, donde se visualizan los individuos susceptibles (verde), susceptibles contagiados (naranja), colonizados (rojo) y infectados (+ blanco) y fallecidos (# blanco).

Por otra parte, todos los individuos susceptibles y susceptibles contagiados tienen asociado un número que representa el número de factores de riesgo que posee el propio individuo. Aunque la asignación de factores de riesgo a cada individuo se realiza de manera aleatoria al comienzo de la simulación, también existe la posibilidad de asignar específicamente qué factores de riesgo están asociados a un individuo o individuos determinados. Esto permite una mayor personalización con el objetivo de

adaptar las condiciones de inicio a un entorno específico de forma más realista.

La zona común se encuentra en el centro del espacio celular ocupando una superficie de 7x7 casillas, siendo la casilla con fondo azul el centro de la zona común, mientras que el resto de casillas afectadas por la zona común están representadas con fondo gris (a excepción de los infectados que se encuentran en el hospital). Todos los individuos influenciados por esta zona común poseen una mayor posibilidad de contagio.

Durante la simulación, puede surgir esporádicamente alguno de los dos brotes de infección que se han establecido previamente en la configuración. A nivel visual, estos brotes de infección son similares a las zonas comunes, aunque se ubican aleatoriamente dentro del espacio celular y tienen una duración limitada. Al igual que en las zonas comunes, todos los individuos influenciados por el radio de acción de este brote poseen una mayor posibilidad de contagiarse.

Además de visualizar el comportamiento de todos los individuos para cada transición, el modelo también permite el seguimiento en tiempo real de los parámetros asociados a un determinado individuo, así como la evolución en el tiempo de cada una de las subpoblaciones consideradas. En este sentido, en la Figura 3 se muestra la evolución en el tiempo del número de susceptibles, infectados y enfermos, observándose cómo se alcanza la estabilización aproximadamente en el primer mes de la simulación.

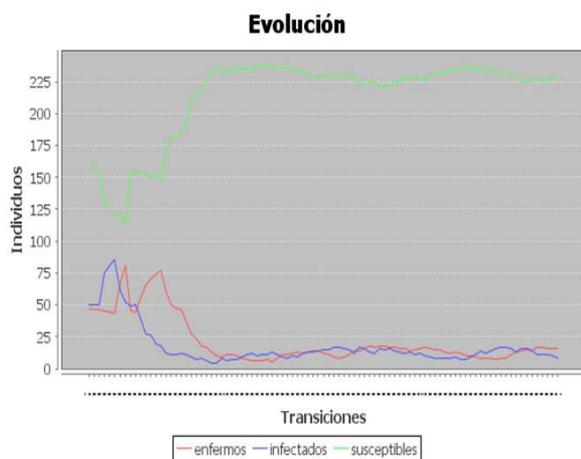


Figura 3. Evolución en el tiempo del número de susceptibles, infectados y enfermos.

4. Conclusiones

Se ha diseñado y desarrollado un modelo autómatas celular que simula algunos de los mecanismos involucrados en la transmisión de la bacteria *E.coli* O25b:H4-B2-ST131 productor de BLEE en un escenario de residencias de mayores. La personalización de las características particulares de los individuos permite una interacción más adecuada a las condiciones reales del escenario que se ha considerado. Aunque el modelo ha sido aplicado a una cepa específica de *E.coli*, los parámetros pueden ser adaptados para el estudio de la diseminación de otro tipo de bacterias en pequeños reservorios de contagio.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en parte por la Consejería de Economía, Innovación y Ciencia, Gobierno de Andalucía, bajo los proyectos P08-TIC-04069, P10-TIC-6214 y PI-0010-2013, en parte por el Fondo de Investigaciones Sanitarias, Instituto de Salud Carlos III, bajo los proyectos PI082023 y PI11/00111, en parte por el CIBER-BBN bajo los proyectos DIAB-Support, PLADEBACT y NEUROMON y en parte por la Asociación de Neumología y Cirugía Torácica del Sur (NEUMOSUR).

Referencias

- [1] D. Chen, B. Moulin, y J. Wu, *Analyzing and Modeling Spatial and Temporal Dynamics of Infectious Diseases*. John Wiley & Sons, 2014.
- [2] H. Heesterbeek, R. M. Anderson, V. Andreasen, S. Bansal, D. D. Angelis, C. Dye, K. T. D. Eames, W. J. Edmunds, S. D. W. Frost, S. Funk, T. D. Hollingsworth, T. House, V. Isham, P. Klepac, J. Lessler, J. O. Lloyd-Smith, C. J. E. Metcalf, D. Mollison, L. Pellis, J. R. C. Pulliam, M. G. Roberts, C. Viboud, y I. N. I. I. Collaboration, «Modeling infectious disease dynamics in the complex landscape of global health», *Science*, vol. 347, n.º 6227, p. aaa4339, mar. 2015.
- [3] J. J. O'Hagan, M. Lipsitch, y M. A. Hernán, «Estimating the per-exposure effect of infectious disease interventions», *Epidemiol. Camb. Mass*, vol. 25, n.º 1, pp. 134-138, ene. 2014.
- [4] N. Perra y B. Gonçalves, «Modeling and Predicting Human Infectious Diseases», en *Social Phenomena*, B. Gonçalves y N. Perra, Eds. Springer International Publishing, 2015, pp. 59-83.
- [5] H. Fukš y A. T. Lawniczak, «Individual-based lattice model for spatial spread of epidemics», *Discrete Dyn. Nat. Soc.*, vol. 6, n.º 3, pp. 191-200, 2001.
- [6] C. E. Shannon, «Von Neumann's contributions to automata theory», *Bull. Am. Math. Soc.*, vol. 64, n.º 3, pp. 123-129, 1958.
- [7] A. Talaminos, L.M. Roa Romero, J. Calvillo Arbizu, L. López Cerero, J. Rodríguez Baño, y A. Pascual Hernández, «Modelo computacional de la diseminación de *E. coli* O25b:H4/ST131», en *XVIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB)*, San Sebastián, 2012.
- [8] M.-H. Nicolas-Chanoine, X. Bertrand, y J.-Y. Madec, «*Escherichia coli* ST131, an Intriguing Clonal Group», *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 27, n.º 3, pp. 543-574, ene. 2014.
- [9] J. L. Schiff, «Scientific modeling with cellular automata», *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Stat.*, vol. 6, n.º 3, pp. 155-163, may 2014.
- [10] K. L. Woods, J. R. Johnson, S. Padkowsky, N. Mariano, R. Colon-Urban, M. Hassanein, W. Wehbeh, B. D. Johnston, C. Clabots, S. Zahid, y C. Urban, «Community-Associated *Escherichia coli* Harboring CTX-M β -Lactamases from Urine Cultures from Pediatric Patients», *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 56, n.º 4, pp. 2209-2210, abr. 2012.
- [11] L. López-Cerero, M. D. Navarro, M. Bellido, A. Martín-Peña, L. Viñas, J. M. Cisneros, S. L. Gómez-Langley, H. Sánchez-Monteserín, I. Morales, A. Pascual, y J. Rodríguez-Baño, «*Escherichia coli* belonging to the worldwide emerging epidemic clonal group O25b/ST131: risk factors and clinical implications», *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 69, n.º 3, pp. 809-814, mar. 2014.

Towards a microfluidic nephron-on-chip for personalized illness evolution studies

R. Paoli¹, E. Garreta², N. Montserrat², J. M. Campistol³, J. Samitier^{1,4,5}

¹ Nanobioengineering Laboratory, Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Barcelona, Spain, {rpaoli,jsamitier}@ibecbarcelona.eu

² Pluripotent stem cells and activation of endogenous tissue programs for organ regeneration, Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Barcelona, Spain, {egarreta,nmontserrat}@ibecbarcelona.eu

³ Nephrology Department, Hospital Clinic, Barcelona, Spain, jmcampis@clinic.ub.es

⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Zaragoza, Spain

⁵ Department of Electronics, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

Resume

Kidney toxicity is one of the most frequent adverse events reported during drug development. Many pathologies affecting its filtering and reabsorption ability are still on study. The lack of accurate predictive cell culture models and the unreliability of animal studies have created a need for a new approach to mimic kidney function in vitro.

Some attempts have been made to artificially reproduce part of kidney or nephron functionality, but they are all limited to partially replace the filtration function or only focusing immortalized human cell lines.

Here we present a first attempt to culture human primary cells proceeding from patient biopsy in a microfluidic device to mimic the tubular part of the nephron. This is a first step to broaden organ-on-chip applications towards personalized studies on illness evolution.

1. Motivation

Nephrotoxicity that leads to injury of the kidney is a major cause of drug attrition during pre-clinical, clinical, and post-approval stages of pharmacological development [1].

While it accounts for only 2% of drug screening failures in pre-clinical studies, this number rises up to 19% in Phase 3. However, 20% of drugs still produce acute renal failure in community and hospital settings [2,3]. Thus it has high societal cost and current detection methods do not show enough sensitivity to overcome it. Improved methods for prediction of nephrotoxicity and identification of injury in humans in pre-clinical studies and in all stages of the drug-development process are extremely important for patient safety in clinical practice.

On the other hand, the incidence rates of End-stage renal disease (ESRD) have increased steadily internationally since 1989 [4]. Three modalities are available as renal replacement therapy: kidney transplantation from cadaver or donors, peritoneal dialysis or hemodialysis [5]. Transplantation has to deal with typical main problems of this solution: organ rejection and donor shortage.

The vast majority of patients are treated with intermittent hemodialysis [6], where blood is circulated through an artificial kidney, also called hemodialyzer. Nonetheless, hemodialysis only provides renal filtration function [7] and, because of the non-physiologic manner in which it's performed, patients with ESRD on dialysis continue to have major medical, social and economic problems [8].

2. Introduction

Each human kidney is formed by about 0.8-1.2M of functional units called nephrons. The functional and anatomical structure of the kidney is quite complex, but each unit can be mainly divided into two parts (Fig. 1): the glomerulus, where about 20% of the incoming blood plasma (180L/day from both kidneys) is filtered together with some small proteins and nutrients, and the tubule, where most of the filtered water and useful substances are reabsorbed from ultrafiltrate into blood while concentrating remaining waste into urine to be excreted (1.5-2L/day).

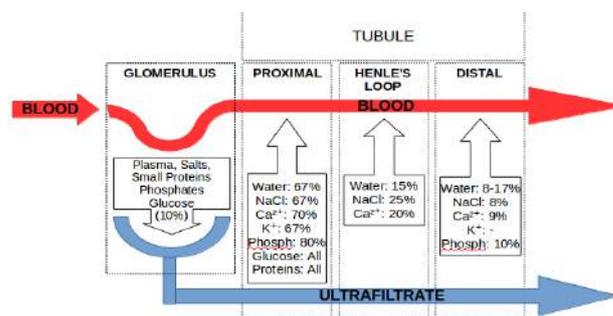


Figura 1. Nephron ultrafiltration and reabsorption

Glomerulus membrane acts as an incredibly selective filter in terms of molecule size (down to 4nm), charge and morphology. This biological membrane is formed by superposition of different layers; an important role is played by glomerular epithelial cells (podocytes), which form diaphragms with slit pores of 4×14nm (Fig. 2).

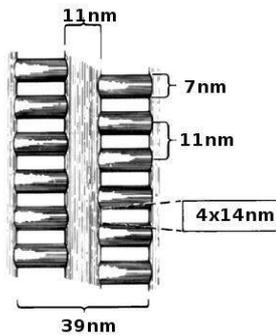


Figura 2. Glomerular slit pore diaphragm

Useful substances filtered from blood to ultrafiltrate by the glomerulus are recovered in most part during tubular transit. Reabsorption takes place both by osmotic pressure and active transport using molecular pumps present in the tubular epithelial cells.

2.1. Dialyzer miniaturization

At this moment, bioartificial kidney and wearable, miniaturized dialysis are the promising ESRD treatments available in the near future [9]. Davenport, Gura, and Ronco reported most published papers about wearable hemodialysis devices, achieving a compact low weight portable dialyzer. The device, which uses a standard dialyzer together with pulsatile mini-pump and dialysate regeneration system, is currently under clinical trials.

Other efforts focus on the use of novel nanomaterials approaches, like molecularly engineered polysulfone-based membrane [6] or ultrathin silicon membranes obtained by micromachining techniques [10,11].

Eventually, a mixed membrane-cells strategy was tried with promising results in order to improve dialyzer functionalities. Humes [7] research group developed a so called Renal tubule cell Assist Device, growing porcine renal proximal tubule cells along the inner surface of polysulfone immunisolating hollow fibers.

In 2013 a group at Huazhong university in China developed a similar device using microfluidic channels, human renal proximal tubule (HK-2) and human umbilical vein endothelial cells (HUVEC).

2.2. Organ-on-chip

Animal models reconstitute disease manifestations and phenotypes similar to those observed in humans, but the underlying molecular mechanisms can actually differ greatly between mice and humans with the same disease phenotype [12]. On the other end, human cells cultured on standard culture dishes might exhibit differentiated cell functions, but they commonly fail to mimic tissue- and organ-level structures and functions that are central to disease etiology [13].

In order to overcome these limitations, many researches have tried to move one step further, combining cell culture with microfluidics in order to reproduce more physiological characteristics of the system (i.e. tissue organization, mechanical stimulation, etc.) up to tissue or

organ functional unit level. These engineered in vitro models are named Organ-on-chip devices and move functionality mimicking one step beyond traditional 2D and 3D culture techniques [14].

First renal approach in this direction was made by Korean researchers [15], who cultured rat inner medullary collecting duct cells in a PDMS microfluidic device. Results showed better cell conformational polarization and better resistance to oxidative stress than static Transwell culture. Furthermore, molecular transport (water and Na uptake by Aquaporin 2) was found to be functional and responsive to hormone stimulations (Vasopressin, Aldosterone).

In 2013 Ingber's group [16] developed a microfluidic «human proximal tubule-on-chip» device that mimics conditions observed in the renal proximal tubule.

Results after 3-days show how Primary human proximal tubule cells (HK-2) submitted to physiological tubular flow resulted in enhanced differentiation, by means of increased primary cilium formation, alkaline phosphatase activity, albumin transport and glucose reabsorption. Furthermore, a more specific drug-induced toxicity response was found in «proximal tubule-on-a-chip» than in traditional culture, as cell are healthier at the baseline.

Other works in the literature are particularly focused to mimic a particular disease evolution interesting a particular part of the kidney.

Wei and colleagues developed a microfluidic platform plated with HK-2 cells to study calcium kidney stone formation [17]. After injecting a solution containing CaCl_2 and Na_3PO_4 , in situ formation of calcium phosphate stone deposits was detected in real time, enabling studies of mechanisms and kinetics of stone formation.

Other studies used type-I collagen gels as a scaffold to culture renal epithelial cells.

Jansson and colleagues cultured primary kidney epithelial cells isolated from cysts of autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) to study the role of ouabain in the evolution of the disease [18].

Moll and colleagues studied the role of HK-2 cells in renal fibrosis. They cultured renal cells on top of human dermal fibroblasts in order to investigate how interactions between the two cell types contribute to cisplatin-induced kidney injury [19].

2.3. State of art limitations

Actual renal organ-on-chip devices are limited to mimic tubular functionality. It would be interesting to obtain a more complete nephron model, including ultrafiltration step.

To obtain a better model for drug testing and illness studies, it would be interesting to culture patient primary cells obtained from biopsy. Main interest will be focused on tubular epithelial cells and glomerular podocytes as they are the ones most relevant in the evolution of renal failure.

In the case of podocytes culture, there are still unresolved problems to obtain a stable culture and microfluidics might help solving some of them, creating more suitable environments.

Glomerular filtration might be alternatively mimicked - with some limitations- by nanoporous negatively charged polymeric membranes, which might be able to bring similar selectivity to the complex glomerular barrier. While this solution might be not the ideal solution in drug-testing platform, it can result in interesting applications for dialyzer miniaturization and wearable/implantable bioartificial kidney development.

A more complete device might enable “on-chip” drug-toxicity or illness evolution studies concerning both sections of the nephrons, possibly helping to better understand illness etiology.

3. Culturing biopsy renal cells on a microfluidic device

3.1. Materials & Methods

The fabrication of the microfluidic device was carried out in the clean room facility of the Institute for BioEngineering of Catalonia (IBEC). All solvents and chemical were obtained from Sigma Aldrich unless otherwise specified. The SU-8 photoresist and developer were from MicroChem (Newton, MA).

The master is fabricated over glass slides using SU-8 negative photoresist. To replicate the master's microchannels, a PDMS prepolymer and curing agent mixture (ratio of 1:10, Sylgard®184, Dow Corning) is placed in a desiccator with vacuum applied in order to remove bubbles. Then, the mixture is poured on top of the master to fabricate a PDMS mould, cured at 65 °C for 3 hours. The casted PDMS was peeled off carefully and inlet and outlet holes are made using a Harris Uni-Core 0.75 mm puncher. Glass and the PDMS structures were activated in O₂ plasma and immediately pressed together to form a permanent bond.

Chips were then sterilized by autoclave. Channels were coated with fibronectin from bovine plasma by filling them with 15µg/ml solution and incubating them overnight.

The isolation and culture of primary renal proximal tubular epithelial cells have been described previously [20]. The ethics committee of “Hospital Clinic de Barcelona” approved the procedure, and signed consent forms are available upon request.

Cells, previously expanded in a standard culture flask, were trypsinized, counted, resuspended and seeded inside the chip using sterile disposable 1ml syringe, a 23G needle and PTFE interface tubing. Chips were then closed inside Petri dishes and incubated 37°C in humidified air with 5% CO₂.

Culture medium - DMEM supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS; Invitrogen), Glutamax (1 mM), penicillin/streptomycin, and non-essential amino acids

(100 µM) - was changed using high precision Nemesys low pressure syringe pump (Cetoni Gbmh).

Control flask-style chamber slides (Lab-Tek®) were used to perform standard culture procedure as a control.

Optical measurements for microfluidic analyses were performed using an inverted optical microscope (Olympus IX71) with an integrated CCD Hamamatsu camera.

3.2. Results

A first microfluidic prototype was designed and fabricated using PDMS polymer (Fig. 3).

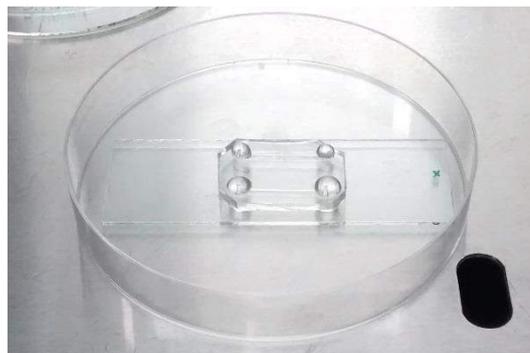


Figura 3. Microfluidic PDMS device.

Human proximal tubular cells proceeding from patient renal biopsies were successfully cultured on the microfluidic device.

The device was successfully functionalized with fibronectin from bovine source in order to improve cell adhesion.

Cells reached confluence 6h after seeding, showing same morphology and viability as control culture performed in standard chamber slide device (Fig. 4).

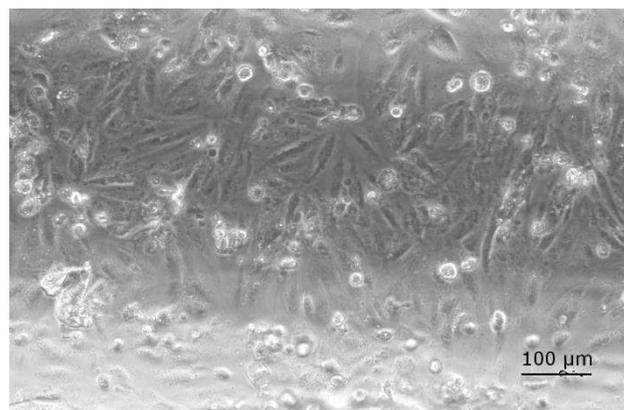


Figura 4. Primary cell proliferation inside the device.

3.3. Conclusions

Enabling the use of primary human cells from patients in kidney-on-chip devices broadens its applications towards personalized studies and screenings, improving the actual 2-D technology.

This work demonstrates that primary human cell cultures can be achieved without particular extra effort in comparison to immortalized cell lines. The work is

preliminary to application in more sophisticated microfluidic device in order to improve mimicking of real physiological condition.

3.4. Future work

Cultured cells functionality testing is ongoing with an improved device with integrated membrane. Studies will be aimed at quantifying reabsorption capabilities and other metabolic activities.

Further work will be made to improve the device including different cell types in order to reproduce different parts of the nephron.

Acknowledgements

The authors would like to acknowledge the technical support of David Izquierdo and Miriam Funes of IBEC Nanobioengineering group, and to thank IBEC Nanotechnology Platform staff for their generous help.

References

- [1] Bonventre, J. V et al. Next-generation biomarkers for detecting kidney toxicity. *Nature biotechnology* vol 28, 2010, pp 436–440 (ISSN: 1087-0156).
- [2] Naughton, C. A. Drug-induced nephrotoxicity. *American Family Physician* vol 78, 2008, pp 743–750 (ISSN: 0002838X).
- [3] Redfern, W. S. et al. Impact and prevalence of safety pharmacology-related toxicities throughout the pharmaceutical life cycle. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* vol 62, 2010, pp e29 (ISSN: 10568719).
- [4] Carpi, A., Donadio, C. & Tramonti, G. Progress in Hemodialysis - From Emergent Biotechnology to Clinical Practice. *InTech*, 2011 doi:10.5772/878 (ISBN: 978-953-307-377-4).
- [5] Eloot, S. (Ghent U. & Verdonck, P. (Ghent U. Wiley *Encyclopedia of Biomedical Engineering: Artificial Kidney*. Wiley 2006 doi:10.1016/j.psychres.2011.02.020 (ISBN: 0471740365).
- [6] Nissenson, A. R. et al. The human nephron filter: toward a continuously functioning, implantable artificial nephron system. *Blood purification* vol 23, 2005, pp 269–74 (ISSN: 0253-5068).
- [7] Humes, H. D. et al. The bioartificial kidney: current status and future promise. *Pediatric nephrology* (Berlin, Germany) vol 29, 2014, pp 343–51 (ISSN: 1432-198X).
- [8] Pino, C. J. & Humes, H. D. Stem cell technology for the treatment of acute and chronic renal failure. *Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine* vol 156, 2010, pp 161–168 (ISSN: 1878-1810).
- [9] Shin, S. J. Current status of bioartificial kidney. *Journal of Biomedical Science and Engineering* vol 07, 2014, pp 108–111 (ISSN: 1937-6871).
- [10] Ahmadi, M., Gorbet, M. & Yeow, J. T. W. In vitro clearance and hemocompatibility assessment of ultrathin nanoporous silicon membranes for hemodialysis applications using human whole blood. *Blood purification* vol 35, 2013, pp 305–13 (ISSN: 1421-9735).
- [11] Fissell, W. H. et al. High-Performance Silicon Nanopore Hemofiltration Membranes. *Journal of membrane science* vol 326, 2009, pp 58–63 (ISSN: 0376-7388).
- [12] Seok, J. et al. Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol 110, 2013, pp 3507–12 (ISSN: 1091-6490).
- [13] Benam, K. H. et al. Engineered In Vitro Disease Models. *Annual review of pathology* vol 10, 2015, pp 195–262 (ISSN: 1553-4014).
- [14] Bhatia, S. N. & Ingber, D. E. Microfluidic organs-on-chips. *Nature biotechnology* vol 32, 2014, pp 760–772 (ISSN: 1546-1696).
- [15] Jang, K.-J. & Suh, K.-Y. A multi-layer microfluidic device for efficient culture and analysis of renal tubular cells. *Lab on a chip* vol 10, 2010, pp 36–42 (ISSN: 1473-0197).
- [16] Jang, K.-J. et al. Human kidney proximal tubule-on-a-chip for drug transport and nephrotoxicity assessment. *Integrative Biology* vol 5, 2013, pp 1119 (ISSN: 1757-9694).
- [17] Wei, Z. et al. Engineering of polarized tubular structures in a microfluidic device to study calcium phosphate stone formation. *Lab on a chip* vol 12, 2012, pp 4037–40 (ISSN: 1473-0189).
- [18] Jansson, K. et al. Endogenous concentrations of ouabain act as a cofactor to stimulate fluid secretion and cyst growth of in vitro ADPKD models via cAMP and EGFR-Src-MEK pathways. *AJP: Renal Physiology* vol 303, 2012, pp F982–F990 (ISSN: 1931-857X).
- [19] Moll, S. et al. Epithelial cells as active player in fibrosis: findings from an in vitro model. *PLoS one* vol 8, 2013, pp e56575 (ISSN: 1932-6203).
- [20] Montserrat, N. et al. Generation of induced pluripotent stem cells from human renal proximal tubular cells with only two transcription factors, OCT4 and SOX2. *The Journal of biological chemistry* vol 287, 2012, pp 24131–8 (ISSN: 1083-351X).

Modelado predictivo de la estimulación neuronal óptica sobre redes neuronales en procesos neurodegenerativos

M. Zverev, F. Fanjul-Vélez, I. Salas-García, J. L. Arce-Diego

Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Santander, España, {fanjulf,arcedj}@unican.es

Resumen

El envejecimiento de la población ligado al aumento de la esperanza de vida está intrínsecamente relacionado con la incidencia de las patologías neurodegenerativas desarrolladas generalmente durante la vejez. Muchas de ellas sin una cura efectiva. Para dar respuesta a esta tendencia se ha promovido la definición de planes nacionales de salud que contemplan entre sus líneas de actuación el desarrollo de nuevos tratamientos. Entre estos últimos, las técnicas de estimulación cerebral no invasivas ofrecen actualmente resultados alentadores. Concretamente en este trabajo se estudia la estimulación neuronal óptica que permite estimular de forma no invasiva las regiones externas del cerebro. Se ha modelado matemáticamente diferentes redes neuronales para intentar determinar los parámetros de estimulación óptimos para tratar una determinada patología neurodegenerativa mediante el restablecimiento de la actividad de la red neuronal. Para ello se han modelado redes neocorticales tanto sanas como alteradas por diferentes grados de neurodegeneración. El modelo completo presenta una gran funcionalidad para determinar los parámetros de estimulación neuronal óptica adecuados para lograr patrones de actividad neuronal específicos que permitan tratar una patología neurodegenerativa particular.

1. Introducción

Según los datos de Eurostat, en 2013 el 18.2% de la población europea era mayor de 65 años. Para 2080 se prevé que este porcentaje aumente hasta el 28.7% [1], presagiando un aumento significativo de la incidencia de patologías fuertemente relacionadas con la vejez como son las enfermedades neurodegenerativas. Este hecho ligado a la falta de una cura efectiva para este tipo de patologías constituye un problema con importantes implicaciones sociales y un creciente agravamiento de sobrecarga del sistema sociosanitario. A pesar de que actualmente no existe cura para este tipo de enfermedades, diferentes técnicas de estimulación cerebral arrojan resultados prometedores para el futuro tratamiento de procesos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer [2]. Se ha observado que la aplicación de técnicas como la Estimulación Magnética Transcraneal (EMT), la Estimulación Transcraneal de Corriente Directa o la Estimulación Neuronal Óptica producen efectos beneficiosos sobre las funciones cognitivas cerebrales y como consecuencia una mejoría del paciente [3-5]. Los procesos neurodegenerativos se caracterizan por un empeoramiento progresivo de la actividad neuronal, la pérdida parcial o total de conexiones entre las neuronas y la muerte neuronal.

Existen varios modelos matemáticos de neuronas y redes neuronales para modelar los efectos de las patologías neuronales y su progresión [6, 7].

Este trabajo se centra concretamente en la Estimulación Neuronal Óptica que permite estimular las neuronas mediante la aplicación de radiación óptica. Este tipo de radiación no permite alcanzar regiones cerebrales muy profundas aunque si el objetivo de estimulación se encuentra en el neocórtex, esta técnica proporciona una estimulación cuyo carácter no invasivo la hace especialmente atractiva para su aplicación en órganos especialmente sensibles como es el cerebro [3] y cuya selectividad es más precisa que la de otras técnicas como la EMT. Una vez obtenida la distribución de radiación óptica en el neocórtex cerebral, es preciso analizar el efecto de la energía depositada sobre el comportamiento de las redes neuronales. En la sección 2 se presenta la fundamentación del modelo para estimulación neuronal óptica empleado en este trabajo. A continuación en la sección 3 se describe la aplicación del modelo y en la 4 se presentan los resultados obtenidos y su discusión. Finalmente, en la sección 5 se recogen las conclusiones.

2. Modelo de estimulación neuronal óptica

El método de Monte Carlo se ha venido empleando con frecuencia para obtener la distribución de la radiación óptica en varios tejidos biológicos como el cerebro humano [8]. En este caso particular se ha extendido el uso de un método de Monte Carlo que permite calcular la propagación de luz sobre una malla tridimensional de la cabeza humana [9]. Durante la propagación de un paquete de fotones ocurren múltiples eventos de esparcimiento. La energía de este paquete entre dichos eventos se atenúa de acuerdo a la ecuación (1), donde W es el peso del paquete que representa su energía, μ_e es el coeficiente de extinción y μ_a es el coeficiente de absorción del medio biológico. El ángulo del esparcimiento polar se calcula mediante la expresión (2), donde g es la anisotropía de esparcimiento [10] y ξ_2 es el número pseudo-aleatorio que define los eventos de esparcimiento y su localización con una distribución uniforme entre 0 y 1.

$$\Delta W = \frac{\mu_a}{\mu_e} W \quad (1)$$

La estimulación neuronal óptica actúa sobre una región pequeña del neocórtex que puede considerarse una pequeña red neuronal. Tanto las redes neuronales como

las propias neuronas se pueden estudiar mediante modelos matemáticos. El modelo más conocido de una neurona es el de Hodgkin y Huxley que describe el comportamiento neuronal a nivel fenomenológico en una célula real [11]. Posteriormente se han propuesto otros modelos más eficientes computacionalmente pero menos fieles a la realidad fisiológica [6]. En 2003 Izhikevich presentó un modelo simple mucho más eficiente que el de Hodgkin y Huxley que imita adecuadamente el comportamiento de una neurona pero ignora los fenómenos que lo definen. Por lo tanto el modelo de Hodgkin y Huxley es adecuado para estudiar un fenómeno determinado que afecta a una neurona, aunque si se requiere estudiar una red neuronal es preferible emplear el modelo de Izhikevich descrito en (3). Donde v representa la tensión de la membrana, u es la variable de recuperación, I es la intensidad de entrada y los parámetros a , b , c y d son constantes que definen el tipo y el comportamiento de la neurona [12].

$$\theta = \begin{cases} \text{acos} \left\{ \frac{1}{2g} \left[1 + g^2 - \left(\frac{1-g^2}{1-g+2g\xi_2} \right)^2 \right] \right\}, & g \neq 0 \\ \text{acos}(2\xi_2 - 1) & , g = 0 \end{cases} \quad (2)$$

$$\begin{aligned} v' &= 0.04v^2 + 5v + 140 - u + I \\ u' &= a(bv - u) \end{aligned} \quad (3)$$

if $v \geq 30mV$

then $\begin{cases} v \leftarrow c \\ u \leftarrow u + d \end{cases}$

3. Aplicación del modelo

Aunque muchos de los fenómenos subyacentes a la estimulación cerebral continúan sin conocerse hoy en día, Shapiro et al. han contribuido a esclarecer los efectos de la estimulación infrarroja sobre la neurona [13]. Así, durante la estimulación óptica, el tejido absorbe energía de los fotones de excitación y como consecuencia se produce un incremento de temperatura que induce una redistribución de iones cerca de la membrana neuronal y con ello un cambio de voltaje. Si el incremento de temperatura es lo suficientemente rápido, se puede despolarizar la neurona y comenzar un potencial de acción. Como se revisó previamente en la sección 2, es posible obtener la distribución de energía en el cerebro cuando se somete a estimulación óptica y más concretamente calcular la cantidad de energía que se deposita sobre una determinada región del cerebro para estimular un grupo específico de neuronas. Así, teniendo en cuenta las propiedades ópticas del tejido cerebral, se obtuvo la distribución de energía en el cerebro mediante el modelo presentado anteriormente. Para asegurar la precisión de los resultados, el proceso descrito se repitió 10^6 veces.

La generación de los potenciales de acción depende de las corrientes iónicas transmembrana en la célula nerviosa [11]. Al aumentar estas corrientes mediante la estimulación, aumenta la amplitud de los potenciales de acción, aunque el cambio en el mecanismo de su generación apenas es apreciable debido a que estas

corrientes se compensan (acomodación). Sin embargo las corrientes involucradas en las sinapsis no se compensan con otras. Este aumento puede ser integrado en el modelo de Izhikevich como un Factor de Estimulación (FE) que multiplica las corrientes de entrada. En este trabajo, se modeló una red neuronal pequeña (1000 neuronas) por lo que se asume que todas sus neuronas están uniformemente estimuladas. Para modelar el aumento de corriente iónica inducido por diferentes intensidades de estimulación se ajustó el valor del factor de estimulación.

Con objeto de modelar los efectos producidos por un proceso neurodegenerativo que implica tanto la muerte neuronal como la pérdida progresiva de sus conexiones con otras neuronas, se partió inicialmente de un modelo de red neuronal sana con un incremento progresivo de neuronas inactivas que representan la pérdida de comunicación con el resto de neuronas de la red. Así, el aumento del porcentaje de neuronas inactivas en la red se puede asociar con una mayor pérdida de sinapsis y muerte neuronal y por consiguiente con estadios cada vez más avanzados de la neurodegeneración. El modelo presentado anteriormente se aplicó sobre redes neuronales bajo diferentes estados de neurodegeneración para observar el efecto de la estimulación óptica sobre los patrones de activación neuronal temporales y sobre el contenido frecuencial.

4. Resultados y discusión

En la Figura 1 se representa la distribución de la radiación óptica obtenida sobre la malla tridimensional de cerebro humano. Como se puede observar el uso de radiación óptica presenta un alto grado de selectividad espacial, limitando los efectos del tratamiento a un área cerebral controlada que alcanza el córtex cerebral.

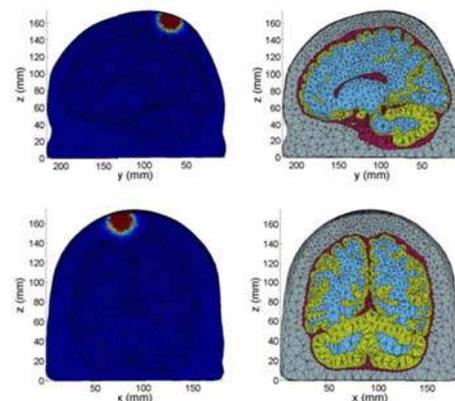


Figura 1. Distribución de la radiación óptica en la malla tridimensional de cabeza humana (láser HeNe CW 633 nm) en el plano sagital a $x=75.7$ mm (superior izquierda) y en el plano coronal a $y=67$ mm (inferior izquierda). En las imágenes de la derecha se representan las capas cerebrales correspondientes a cada plano.

En la Figura 2 se muestra la dinámica de los patrones de actividad asociados a una red neuronal sana y a una red neuronal deteriorada, obtenida con los modelos descritos. La gráfica superior representa los eventos de activación generados durante un segundo por cada neurona de una pequeña red neuronal sana compuesta de 1000 neuronas, tal y como se describe en [12]. En el resto de gráficas se

representa la actividad en la misma red neuronal pero alterada por un proceso neurodegenerativo que produce una inactivación o muerte neuronal del 60 %. En la gráfica central se puede observar una clara reducción de los eventos de activación, así como una pérdida de sincronización entre ellos. En la gráfica inferior se representa una red neuronal con el mismo grado de neurodegeneración que la anterior pero en este caso sometida a estimulación óptica. Lo que permite observar el restablecimiento de la sincronización entre los potenciales de acción inducidos por la estimulación y con ello un patrón de activación similar al de la red neuronal sana. La evaluación cualitativa de la dinámica neuronal obtenida permite observar la presencia de efectos de la estimulación con posibles aplicaciones terapéuticas, aunque se requiere un análisis más exhaustivo para determinar rigurosamente su alcance.

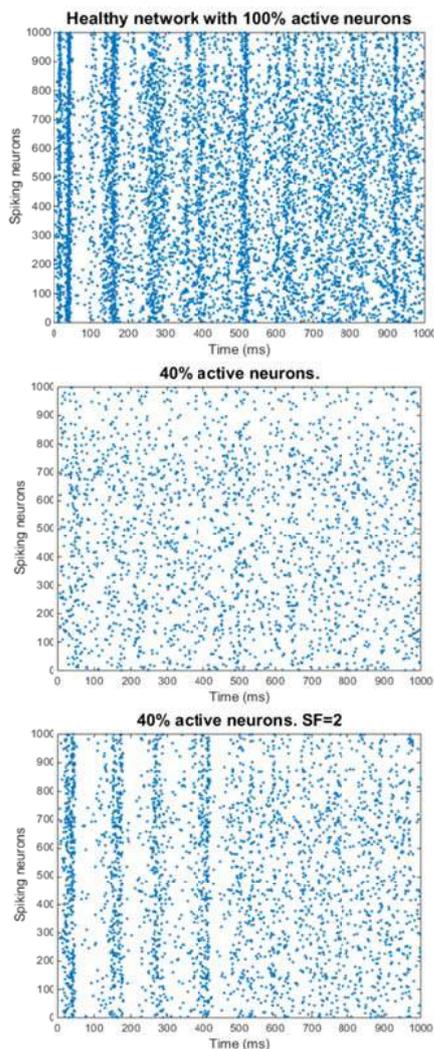


Figura 2. Patrón de actividad temporal de una red neuronal sana (superior) y de una red neuronal con el 60 % de las neuronas inactivas sin estimulación (centro) y sometida a un estímulo que induce el doble de corriente iónica.

Por otra parte, el análisis de la potencia en las bandas espectrales correspondientes a las ondas cerebrales puede proporcionar información de gran relevancia sobre los efectos de la estimulación. Pudiéndose emplear para comprobar si la estimulación provoca modificaciones

sobre el contenido frecuencial alterado por procesos neurodegenerativos específicos. Así, en los estadios iniciales de la enfermedad de Alzheimer la potencia de las bandas espectrales correspondientes a frecuencias altas (en particular la banda β) disminuye, por lo que en un principio se podría considerar como una estimulación eficiente a aquella que aumentase la actividad de la red neuronal en la banda β hasta restablecerla.

En el caso de redes neuronales con un estado de neurodegeneración muy avanzado, una estimulación intensa podría aumentar la actividad de redes adyacentes menos deterioradas y contribuir a la mejoría del paciente. Por este motivo es interesante estudiar también la estimulación de redes neuronales con un gran número de neuronas inactivas. En este trabajo la estimulación óptica se aplicó sobre una red neuronal con dos grados de neurodegeneración diferentes. En el primer caso, la red tiene un 20 % de neuronas aleatorias inactivas, mientras que en el segundo se desactivó el 60% de las neuronas. En ambos grados de neurodegeneración se aplicaron diferentes intensidades de estimulación que fueron ajustadas mediante la variación del FE (2, 5, 10). Para cada una de las redes neuronales estudiadas se ha obtenido la potencia en las bandas frecuenciales (δ , θ , α , β y γ) asociadas a las ondas cerebrales. Dichas potencias se representan en la Fig. 3, donde se observa una clara influencia del grado de neurodegeneración y de la intensidad de estimulación sobre la actividad neuronal. Como se indica en [7], en las etapas iniciales de la enfermedad de Alzheimer las potencias asociadas a las bandas α y β disminuyen, mientras que las potencias de las bandas δ y θ aumentan. Por lo que la degeneración cognitiva modelada mediante la red neuronal estudiada presenta un gran interés para estudiar la evolución de la neurodegeneración en patologías como el Alzheimer. Concretamente en la Fig. 3, considerando un determinado grado de neurodegeneración (20 % en la gráfica superior) y comparándolo con una red neuronal sana, se observa una disminución de la potencia en las bandas de frecuencia elevada y un incremento en las bandas de frecuencia baja. En un estado de neurodegeneración más avanzado (60 %) la potencia de la banda θ también disminuye aunque de forma despreciable. Cuando se dobla la corriente, la potencia aumenta en todas las bandas con el 80 % de las neuronas activas. Este incremento es tan significativo que la potencia en todas las bandas, excepto en la banda γ que se reduce, es mayor que en la red sana. La potencia en la banda δ no aumenta significativamente. Cuando el 40 % de las neuronas están activas, el aumento de la potencia en la banda θ y la disminución en la banda δ son despreciables. Las potencias en las bandas δ , θ , α y β son similares a las de la red sana, mientras que en la banda γ aumenta aunque no hasta alcanzar el nivel de potencia en la red sana.

Los efectos de la estimulación cuando se aumenta el FE a 5 en la red con un 40% de neuronas activas son similares a los observados cuando se aumenta este número al 80% y se dobla la corriente. Si se compara con la red neuronal sana, la variación de potencia en las bandas δ y γ es pequeña mientras que en las bandas θ , α y β es elevada. Además cuando el 80 % de las neuronas están activas, la

potencia en las bandas α , β y γ es inferior a la que había antes de la estimulación, mientras aumenta en la banda θ aunque permaneciendo baja. Por el contrario en la banda δ es extremada elevada comparada tanto con la red sana como con la no estimulada. El aumento de la estimulación óptica (SF=10) aumenta la potencia en la banda δ en ambos grados de neurodegeneración. Como se puede observar, la potencia en la banda γ generalmente es muy similar a la de la red sin estimulación y las potencias asociadas al resto de bandas disminuyen considerablemente cuando el 40 % de las neuronas están activas. Cuando el grado de degeneración es menor (80 % de neuronas activas), la potencia en las bandas θ , α aumenta mientras disminuye en la banda β . Al aplicar una estimulación que produce el doble de corriente iónica en la red más dañada (40 % de neuronas activas), la actividad de la red neuronal es similar a la de la red sana. Una estimulación más intensa altera considerablemente la actividad neuronal alejándola de los patrones de actividad de la red sana. En el estado de neurodegeneración menos agresivo (80 % de neuronas activas), la estimulación óptica fue demasiado elevada en todos los casos para restablecer la actividad neuronal.

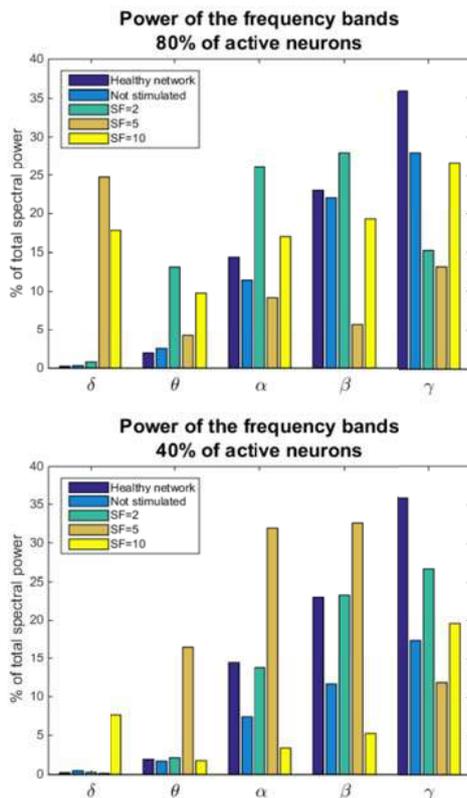


Figura 3. Potencia asociada a las bandas frecuenciales de las ondas cerebrales (expresada como porcentaje de la potencia espectral total) en la red neuronal con el 80% de neuronas activas (superior) y el 40% (inferior) con diferentes intensidades de estimulación.

5. Conclusiones

En este trabajo se ha empleado un modelo predictivo para estudiar el efecto de la Estimulación Neuronal Óptica sobre el patrón temporal y frecuencial de activación en redes neuronales con diferente grado de

neurodegeneración. Los resultados obtenidos presentan un gran potencial para determinar en un futuro los parámetros de estimulación neuronal óptica adecuados para lograr patrones de actividad neuronal específicos que permitan restablecer la activación neuronal alterada por una patología neurodegenerativa concreta.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto MAT2012-38664-C02-01, cofinanciado con fondos FEDER, y por la Fundación San Cándido.

Referencias

- [1] Statistical Office of the European Communities, Population structure and ageing, EUROSTAT. <http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Population_structure_and_ageing> (Consultada: abril 2015).
- [2] The Appropriate Use of Neuroimaging in the Diagnostic Work-Up of Dementia: An Evidence-Based Analysis. Vol 14. Ontario Health Technology Assessment Series, 2014.
- [3] Fanjul-Vélez F, Salas-García I, Ortega-Quijano N, Arce-Diego JL. FDTD-based Transcranial Magnetic Stimulation model applied to specific neurodegenerative disorders. *Comput. Meth. Prog. Bio.*, vol 118, sup 1, 2015, pp 34-43.
- [4] Guleyupoglu B, Schestatsky P, Edwards D, Fregnic F, Bikson M. Classification of methods in transcranial Electrical Stimulation (tES) and evolving strategy from historical approaches to contemporary innovations. *J. Neurosci. Methods*, vol 219, sup 2, 2013, pp 297- 311.
- [5] Wells J, Kao C, Mariappan K, Albea J, Jansen ED, Konrad P, Mahadevan-Jansen A. Optical stimulation of neural tissue in vivo. *Opt. Lett.*, vol 30, sup 5, 2005, pp 504-506.
- [6] Izhikevich EM. Which Model to Use for Cortical Spiking Neurons?. *IEEE Trans. Neural Netw.*, vol 15, sup 5, 2004, pp 1063-1070.
- [7] Abuhassan K, Coyle D, Maguire LP. Investigating the Neural Correlates of Pathological Cortical Networks in Alzheimer's Disease Using Heterogeneous Neuronal Models. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol 59, sup 3, 2012, pp 890-896.
- [8] Ortega-Quijano N, Fanjul-Vélez F, Salas-García I, Arce-Diego JL. Numerical Modeling of Optical Radiation Propagation in a Realistic Model of Adult Human Head. *Proc. IFMBE*, vol 41, 2013, pp 1697-1682.
- [9] Fang Q. Mesh-based Monte Carlo method using fast ray-tracing in Plücker coordinates. *Biomed. Opt. Express*, vol 32, sup 1, 2010, pp. 165-175.
- [10] Wang LH, Jacques SL, Zheng LQ. Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues. *Comput. Meth. Prog. Bio.*, vol 47, sup 2, 1995, pp 131-146.
- [11] Hodgkin AL, Huxley AF. A Quantitative Description of Membrane Current and Its Application to Conduction and Excitation in Nerve. *J. Physiol.*, vol 117, sup 4, 1952, pp 500-544.
- [12] Izhikevich EM. Simple Model of Spiking Neurons. *IEEE Trans. Neural Netw.*, vol 14, sup 6, 2003, pp 1569-1572.
- [13] Shapiro MG, Homma K, Villareal S, Richter CP, Bezanilla F. Infrared light excites cells by changing their electrical capacitance. *Nat. Commun.*, vol 3, sup 7, 2012,

Bioinstrumentación y Biomateriales

Viernes 6 de Noviembre

Regeneración ósea en fémur de conejo mediante el implante de una matriz bioactiva basada en recombinámeros de tipo elastina (ELRs)

A. Ibáñez-Fonseca^{1,2}, D.J. Coletta^{1,3}, L.R. Missana^{1,4,5}, G.E. Bumaguin³, E.J. Vitelli³, F. Garbino², F. Zabalza³, M.V. Jammal^{4,5}, S. Feldman³, J.C. Rodríguez-Cabello², F.J. Arias², M. Alonso²

¹ Ex-aequo.

² BIOFORGE, CIBER-BBN, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, aibanez@bioforge.uva.es.

³ LABOATEM, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina.

⁴ PROIMI-CONICET, Tucumán, Argentina.

⁵ Facultad de Odontología, Universidad de Tucumán, Tucumán, Argentina.

Resumen

En este trabajo se describe el diseño y bioproducción de dos nuevos polímeros proteicos recombinantes biocompatibles derivados de la elastina humana (ELRs, del inglés elastin-like recombinamers), capaces de formar hidrogeles a temperatura fisiológica, con el propósito de utilizarlos como matrices o estructuras que permitan una regeneración ósea adecuada en caso de defecto o lesión. Con este objetivo, mediante técnicas de ingeniería genética, en uno de ellos se incluyeron secuencias de adhesión celular (RGD), mientras que en el otro se fusionó la proteína morfogenética ósea-2 (BMP-2), con actividad osteoinductiva. Además, se incluyeron en ambos secuencias de reconocimiento por elastasa para mejorar la biodegradabilidad del material a medida que se produce la regeneración. Finalmente, se realizaron lesiones en fémures de conejos, se implantó la matriz de forma inyectable y se estudió la regeneración tras 3 meses post-implante, obteniéndose resultados satisfactorios tanto a nivel macroscópico (por rayos X y análisis tomográfico), como por histología, observándose una invasión celular de la matriz, facilitada por las secuencias RGD. La novedad de esta estrategia reside en la utilización de una matriz recombinante biocompatible e inyectable que combina distintas bioactividades con el objetivo de lograr una correcta regeneración tisular en la zona del defecto. Su inyectabilidad permite su utilización en medicina regenerativa de forma mínimamente invasiva. En conclusión, se presenta una matriz recombinante, biocompatible y biodegradable que se ha utilizado exitosamente como "scaffold" en zonas en las que haya ocurrido una lesión o defecto, permitiendo una correcta regeneración ósea.

1. Introducción

La necesidad de nuevas terapias que permitan una correcta regeneración de tejido óseo dañado, ha llevado, en los últimos tiempos, a la búsqueda de estrategias novedosas en este campo de la biomedicina, entre las cuales se pueden encontrar la terapia celular, la aplicación de factores de crecimiento o la síntesis de biomateriales. Dentro de este último grupo podríamos enmarcar a los materiales recombinantes o recombinámeros, de naturaleza proteica, obtenidos mediante técnicas de ingeniería genética y la

consiguiente expresión en organismos como *Escherichia coli*. Estos recombinámeros tienen la propiedad de ser susceptibles de un perfecto control en su diseño, además de poseer una elevada versatilidad al poder fusionar cualquier proteína o péptido a un determinado esqueleto polipeptídico, aportando una bioactividad concreta [1].

En concreto, los recombinámeros de tipo elastina (ELRs) termosensibles, obtenidos a partir de la repetición de un dominio presente en la elastina [2], han aportado en los últimos años numerosos avances en el campo de la biomedicina, y más concretamente en ingeniería de tejidos, en ensayos *in vitro* e *in vivo*. En este trabajo, se presentan dos nuevos recombinámeros con el mismo esqueleto de elastina, capaces de formar estructuras de tipo hidrogel por encima de una temperatura denominada de transición, con distintas bioactividades: uno de ellos conteniendo una secuencia de adhesión celular (RGD) que permite la interacción específica con las células, mientras que al otro se le ha fusionado la proteína morfogenética de hueso-2 (BMP-2), implicada en la formación *de novo* de hueso. Asimismo, ambos poseen secuencias de reconocimiento por elastasa, una proteasa que secretan numerosos tipos celulares, entre ellos las células que componen el tejido óseo, permitiendo así una degradación del material a medida que se produce la regeneración tisular.

Con el objetivo de comprobar su eficacia *in vivo*, se ha conseguido realizar un defecto femoral reproducible en conejo New Zealand, inyectando posteriormente una disolución de una mezcla de ambos ELRs que gelificó instantáneamente tras su aplicación. Los resultados, tanto morfológicos, por rayos X y análisis tomográfico, como histológicos, mostraron una buena regeneración ósea en la zona de lesión en comparación al control sin tratamiento.

2. Materiales y métodos

2.1. Síntesis de los ELRs bioactivos

Los recombinámeros utilizados en este estudio se obtuvieron mediante técnicas de ingeniería genética. En primer lugar, se construyó el gen que codifica para una secuencia polipeptídica derivada de la elastina con la siguiente composición de aminoácidos: [(VPGVG)₂-VPGEG-(VPGVG)₂]₁₀-(VGIPG)₆₀-[(VPGVG)₂-VPGEG-(VPGVG)₂]₁₀-(VGIPG)₆₀, siendo un polímero anfifílico con bloques hidrofílicos, con residuos de ácido glutámico, e hidrofóbicos, con isoleucina [3]. A este esqueleto se le fusionó, tanto en el interior como al final de la anterior secuencia, tres repeticiones del hexapéptido (VAPGVG)₃, reconocido específicamente por un tipo de proteasa, la elastasa. Posteriormente, por un lado se fusionó en el extremo C-terminal de la proteína una secuencia que contenía el tripéptido RGD (ELR-RGD), ampliamente utilizado por su interacción con integrinas presentes en la membrana plasmática de las células. Por otro lado, se fusionó la BMP-2 a otro recombinámero (ELR-BMP-2), aportándole capacidad osteoinductiva.

Estos genes fueron subsecuentemente introducidos en un vector de expresión que se utilizó para transformar bacterias *E. coli*. Posteriormente, se realizó un cultivo de estas bacterias en un biorreactor en condiciones controladas. Tras numerosos ciclos de purificación de calentamiento-enfriamiento, aprovechando la respuesta a temperatura de los recombinámeros, se obtuvo un producto final proteico liofilizado.

2.2. Caracterización fisicoquímica de los ELRs

Con el propósito de determinar tanto la pureza como el peso molecular de los ELRs, se realizaron análisis por electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), y por espectrometría de masas (MALDI-TOF).

Para la obtención del valor de temperatura de transición se utilizó la calorimetría de barrido diferencial (DSC), sobre una muestra de recombinámero disuelto en solución fisiológica (tampón fosfato, PBS).

2.3. Degradación *in vitro* de la mezcla de ELRs

Para analizar la degradación de los ELRs debida a la actividad de las secuencias reconocidas por elastasa, se realizó una disolución a 1 mg/mL de la mezcla de polímeros (con un 2% (m/m) de BMP-2). Posteriormente se añadieron distintas cantidades de elastasa, partiendo de una relación 1:1 de enzima:número de secuencias de reconocimiento, teniendo en cuenta que 1U de enzima actúa sobre un hexapéptido, y aumentando la relación hasta 10000:1. La incubación se produjo a 37°C durante distintos tiempos. Finalmente, se comprobó por SDS-PAGE la degradación de los ELRs.

2.4. Ensayo *in vivo*

Previamente al experimento *in vivo*, se disolvió la matriz en PBS frío, en condiciones de esterilidad, a una concentración final de 300 mg/mL y un contenido de ELR-BMP-2 del 2% (m/m), siendo el otro 98% restante el ELR-RGD. La disolución se mantuvo a 4°C al menos durante 24

h antes de la operación quirúrgica para asegurar su completa homogeneidad. Una vez disuelto, se cargaron más de 100 µL en una jeringuilla para su posterior uso, manteniéndola a 4°C en todo momento hasta la inyección.

En el ensayo con animales se utilizaron un total de 7 conejos New Zealand, a los cuales se les realizó, tras la debida anestesia general, un defecto en el cóndilo femoral, en una de las patas, de 6 mm de diámetro y 3 mm de profundidad con un taladro. 6 de ellos se utilizaron para la inyección de la matriz, mientras que el último se utilizó como control sin tratamiento. Se realizaron análisis periódicos de los animales para comprobar su estado de salud.

Tras tres meses post-implante, se llevó a cabo el sacrificio de los animales y se extrajo la epífisis femoral para su estudio por distintas técnicas de imagen e histológicas.

2.5. Técnicas de imagen

Se realizaron imágenes de rayos X (Dymon) y tomográficas (Toshiba Alexion) de los fémures extraídos.

2.6. Histología

Para el estudio histológico, se llevó a cabo la descalcificación del hueso y el posterior corte de las muestras, obteniendo secciones de 5 µm que se tiñeron con Hematoxilina/Eosina para su ulterior estudio por microscopía óptica.

3. Resultados y discusión

3.1. Caracterización fisicoquímica de los ELRs

La caracterización de los recombinámeros de tipo elastina confirmó que tenían un tamaño molecular similar al esperado y una pureza adecuada para su posterior uso, según los resultados obtenidos tanto por SDS-PAGE como por MADLI-TOF.

Asimismo, la temperatura de transición resultó ser en un caso (ELR-RGD) de 15,8°C, y en el otro (ELR-BMP-2) de 16,9°C, lo cual asegura la gelificación de la matriz resultado de la mezcla de ambos recombinámeros a temperatura fisiológica.

3.2. Análisis de la degradación

El estudio de la degradación dio como resultado la obtención de productos de ELR intermedios a tiempos cortos, llegando a una completa degradación tras una incubación prolongada a 37°C en todos los casos. Se observó una relación directa entre la proporción de enzima añadida en los tiempos de degradación, tal y como se podría esperar.

3.3. Implantación *in vivo* de la matriz recombinante

Momentos después de haber realizado el defecto femoral, se inyectó la matriz soluble fría en el mismo, con el objetivo de rellenarla. La operación fue satisfactoria en todos los casos, observándose una transición instantánea del material desde una fase líquida a hidrogel, quedando éste perfectamente contenido en la zona de la lesión.

En ningún caso se produjo reacción adversa alguna, lo cual se comprobó a través de los análisis bioquímicos, de temperatura y de comportamiento de los animales.

3.4. Análisis radiológico y tomográfico de los fémures extraídos

Los resultados radiológicos y tomográficos a 3 meses post-implante revelaron una correcta regeneración tisular, formándose tejido óseo *de novo* en todos los fémures tratados con la matriz, mientras que la muestra control sin tratamiento no mostró una reparación de la lesión, como se puede apreciar en la **Figura 1**.

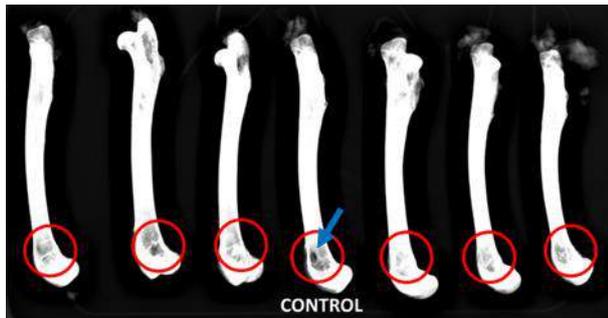


Figura 1. Imagen de rayos X de los fémures extraídos a 3 meses post-implante. La zona señalada con el círculo rojo corresponde a la zona de lesión, mientras que la flecha azul señala el defecto no regenerado en la muestra control.

3.5. Análisis histológico de la región regenerada

El estudio microscópico de la zona del implante dio como resultado la observación de hueso neo-formado similar al compacto en la periferia de la misma, desde la cual se desprendían numerosas partículas de hueso trabecular hacia el centro de la región del implante. Además, se pueden distinguir en las zonas donde se ha producido la regeneración restos de la matriz, sugiriendo una degradación de la misma a medida que se producía la formación ósea *de novo*. En algunos casos se han podido llegar a distinguir áreas de médula ósea hematopoyética separadas por hueso trabecular casi continuo.

4. Conclusión

En resumen, se han conseguido diseñar y bioproducir dos recombinámeros de tipo elastina biocompatibles, a los que se les han incluido diversas bioactividades a través de diversas secuencias proteicas, gracias a la tecnología del ADN recombinante, como un péptido para la adhesión celular (RGD) o una proteína osteoinductiva (BMP-2). Además, con el objetivo de mejorar la biodegradabilidad del material y disminuir su permanencia en el organismo a la vez que facilita la regeneración tisular, se han incluido secuencias de reconocimiento por proteasas tipo elastasa en ambos recombinámeros. Con ellos, ha sido posible obtener una buena regeneración ósea *in vivo* al utilizarlos para crear una matriz o hidrogel formado *in situ*, tras la provocación de un defecto en fémur de conejo, lo cual ha sido comprobado por diferentes técnicas de imagen de las muestras obtenidas después de 3 meses post-implante. Además, el análisis histológico reveló una casi completa degradación de la matriz, observándose solamente algunos restos. Por otro lado, estos mismos resultados permitieron

la observación de células y tejido neo-formado, sugiriendo una invasión por parte de las células del tejido circundante al defecto, lo cual sugiere un efecto de las secuencias RGD de adhesión celular.

Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación otorgada por el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) del Gobierno de España (PRI-PIBAR-2011-1403, MAT2012-38043, MAT2013-42473-R y MAT2013-41723-R), por la Junta de Castilla y León (VA152A12, VA155A12, VA313U14 y BIO/VA43/14) y por el CIBER-BBN, el Instituto de Salud Carlos III y la Junta de Castilla y León, dentro del “Centro en Red de Medicina Regenerativa y Terapia Celular de Castilla y León”.

Referencias

- [1] Rodríguez-Cabello JC, Pierna M, Fernandez-Colino A, Garcia-Arevalo C, Arias FJ. Recombinamers: combining molecular complexity with diverse bioactivities for advanced biomedical and biotechnological applications. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, vol 125, 2011, pp 145-79 (ISSN: 0724-6145).
- [2] Urry DW. Physical chemistry of biological free energy transduction as demonstrated by elastic protein-based polymers. *Journal of Physical Chemistry B*, vol 101, 1997, pp 11007-28 (ISSN: 10895647).
- [3] Martín L, Arias FJ, Alonso M, García-Arévalo C, Rodríguez-Cabello JC. Rapid micropatterning by temperature-triggered reversible gelation of a recombinant smart elastin-like tetrablock-copolymer. *Soft Matter*, vol 6, 2010, pp 1121-4 (ISSN: 1744683X).

Estudio computacional y validación experimental de la difusión del paclitaxel en arterias

J. Escuer Gracia¹, M.A. Martínez Barca^{1,2}, E. Peña Baquedano^{1,2}

¹ Applied Mechanics and Bioengineering. Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A).
Universidad de Zaragoza, {jescuer, miguelam, fany}@unizar.es

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

Resumen

En este trabajo se presenta un modelo numérico para describir el transporte de paclitaxel en la pared arterial. El modelo multicapa incluye cinco regiones: lumen, endotelio, espacio subendotelial, lámina elástica interna y capa media. Los parámetros de transporte para las distintas capas han sido obtenidos de la literatura. Todas las ecuaciones presentadas han sido discretizadas mediante el método de los elementos finitos (MEF) utilizando el software comercial COMSOL Multiphysics. Con respecto a los modelos de transporte existentes, el nuevo modelo desarrollado permite validar algunos de los ensayos experimentales existentes en la literatura, demostrando que se trata de un modelo útil para el estudio de la difusión de este fármaco en la arteria y que puede ayudar al diseño de nuevos dispositivos liberadores más eficientes.

1. Introducción

La aterosclerosis es una de las principales patologías que afecta a las arterias. Ésta consiste en la aparición de un depósito o placa formada por diversas sustancias (como el colesterol) en la zona interna de la arteria. Del crecimiento de dicha placa resulta el engrosamiento y endurecimiento de la pared arterial y, como consecuencia, el ralentizamiento del flujo sanguíneo. Actualmente, una de las principales alternativas terapéuticas son los métodos endovasculares que emplean dispositivos como balones o stent metálicos generalmente recubiertos de fármaco en una intervención denominada angioplastia transluminal percutánea (ATP). El recubrimiento de los dispositivos con sustancias antiproliferativas pretende evitar la migración y proliferación de las células musculares lisas (CML) en las zonas lesionadas. El paclitaxel (PTX) es uno de los fármacos más usados y ampliamente estudiados para este fin.

Los modelos computacionales son una herramienta muy importante para un mejor entendimiento de los factores físicos que influyen en los procesos de transporte de macromoléculas en los tejidos biológicos. En la literatura, existen varios modelos numéricos y matemáticos para el estudio del transporte de macromoléculas a través de la pared arterial. Estos modelos se clasifican habitualmente en tres categorías de acuerdo al nivel de descripción de la pared arterial. En los modelos más simples, denominados *wall-free*, se describe la pared arterial simplemente mediante una condición de contorno. Debido a su simplicidad, estos modelos solamente necesitan un número de parámetros relativamente pequeño, sin

embargo, no permiten obtener perfiles de concentración a lo largo de la pared arterial. Los modelos monocapa, algo más precisos que los anteriores, utilizan una capa simple y homogénea para aproximar la estructura de la pared arterial. Por último se encuentran los modelos multicapa, más complejos y de mayor precisión, los cuales consideran varias capas heterogéneas constituyendo la pared arterial. Debido a su complejidad, requieren de un gran número de parámetros para caracterizar las propiedades físicas de cada capa que no pueden ser medidos directamente en pacientes. Por esta razón, estos parámetros se caracterizan partiendo de la suposición de que las capas de la pared arterial son estructuras porosas cuyas propiedades físicas pueden ser identificadas por la teoría del medio poroso [1,2,3,4].

En este trabajo se presenta un modelo numérico multicapa constituido por cinco regiones (lumen, endotelio, espacio subendotelial, lámina elástica interna y capa media) que se va a utilizar para describir el transporte de paclitaxel en la pared arterial con el objetivo de validar alguno de los ensayos experimentales existentes en la literatura.

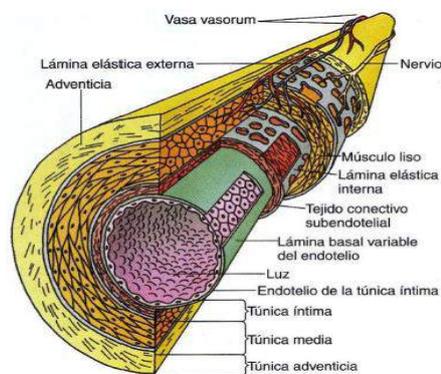


Figura 1. Estructura de la pared arterial [5]

2. Materiales y métodos

2.1. Modelo matemático

El punto inicial de este trabajo es crear un modelo numérico multicapa que describa la filtración de plasma y el transporte de fármaco desde el lumen a la pared arterial.

Hemodinámica

En el lumen arterial, el flujo sanguíneo se considera como un flujo estacionario, homogéneo, isotérmico,

incompresible, laminar y Newtoniano que puede ser descrito por las ecuaciones de Navier-Stokes y la ecuación de continuidad:

$$(\mathbf{u}_l \cdot \nabla)\mathbf{u}_l - \mu_b \Delta \mathbf{u}_l + \frac{1}{\rho_b} \nabla p_l = 0 \quad ; \quad \nabla \cdot \mathbf{u}_l = 0 \quad (1)$$

El subíndice “l” se utiliza para representar el lumen, por tanto, \mathbf{u}_l es el vector velocidad en el lumen; p_l es la presión en el lumen; y μ_b y ρ_b son la viscosidad dinámica y la densidad de la sangre respectivamente. El espacio subendotelial (SES) y la capa media han sido modeladas como capas porosas, y el flujo a través de ellas estará gobernado por la Ley de Darcy y la correspondiente ecuación de continuidad:

$$\nabla p_j = -\frac{\mu_p}{P_{Dj}} \mathbf{u}_j \quad ; \quad \frac{\partial(\rho_p \varepsilon_p)}{\partial t} + \rho_p \nabla \cdot \mathbf{u}_j = 0 \quad (2)$$

El subíndice “j” hace referencia al espacio subendotelial o a la capa media, siendo \mathbf{u}_j el vector velocidad transmural, P_{Dj} la permeabilidad de Darcy, μ_p la viscosidad dinámica, ρ_p la densidad del plasma, p_j la presión y ε_p la porosidad de la capa correspondiente, habitualmente tomadas de la literatura. Se aplican las siguientes condiciones de contorno:

- Un perfil de velocidad totalmente desarrollado (parabólico) en la entrada del lumen arterial:

$$\mathbf{u}_f = 2u_0 \left(1 - \left(\frac{r}{R}\right)^2\right) \quad (3)$$

Siendo u_0 la velocidad media a la entrada, R el radio interno de la arteria y r el radio de la arteria en la posición axial. Se ha considerado un valor de u_0 de 10^{-9} m/s para simular la situación de incubación. La naturaleza pulsátil del flujo sanguíneo no se ha tenido en cuenta.

- Se fija una presión de 100 mmHg a la salida del lumen [6].
- El endotelio y la lámina elástica interna se modelan como membranas semipermeables, describiendo el flujo de fluido J_v que pasa a través de ellas mediante la ecuación de Kedem-Katchalsky [7]:

$$J_{v,j} = L_{p,j} \Delta p_j \quad (4)$$

Donde $L_{p,j}$ es la conductividad hidráulica de cada membrana y Δp_j la diferencia de presión existente entre ambos lados de la membrana tratada.

- En todos los casos, la velocidad axial en la interfase lumen-pared arterial es cero ($w_l=0$).
- En el contorno de la adventicia (lámina elástica externa) se asume una presión de 30 mmHg [6].

Transporte de masa

El transporte de masa en el lumen arterial se describe a partir de la ecuación de convección-difusión:

$$\frac{\partial c_l}{\partial t} + \nabla \cdot (-D \nabla c_l) + \mathbf{u} \cdot \nabla c_l = 0 \quad (5)$$

donde c_l representa la concentración de fármaco en el lumen y D , el coeficiente de difusión. Para describir los procesos de transporte de masa en la pared arterial (en el

espacio subendotelial y en la capa media) se utiliza la ecuación de convección-difusión-reacción [6,8]:

$$\frac{\partial c_j}{\partial t} + \nabla \cdot (-D_j \nabla c_j) + \mathbf{u} \cdot \nabla c_j = R_j \quad (6)$$

donde c_j denota la concentración de fármaco en cada capa de la pared arterial promediada en el volumen y D_j el coeficiente de difusión efectiva para cada capa. El término R_j hace referencia a la reacción producida entre el fármaco y las células musculares de la pared arterial y se expresa mediante la siguiente ecuación [6,8]:

$$R_j = -\frac{1}{f_{cb}} \frac{\partial b}{\partial t} = -Da_2 \left(c_j(1-b) - \frac{1}{f_{cb} B_p} \right) \quad (7)$$

donde el factor f_{cb} se define como la relación entre concentración inicial de fármaco y la máxima densidad de enlaces (c_0/b_{max}), b es la concentración de fármaco unido a las células musculares, Da_2 el segundo número de Damköhler y B_p el potencial de enlace. En el límite entre la capa media y la adventicia (lámina elástica externa) se han aplicado diferentes condiciones de contorno, dependiendo del caso. En la interfase entre el lumen y la pared arterial (endotelio) y entre el espacio subendotelial y la capa media (lámina elástica interna), se utiliza la ecuación de Kedem-Katchalsky [7] para describir la discontinuidad de concentración de fármaco a través del endotelio y la lámina elástica interna.

$$J_{s,j} = P_j \Delta c_{\alpha,j} + s_j \bar{c}_{\alpha,j} J_{v,j} \quad (8)$$

donde J_s denota el flujo de fármaco a través de cada membrana, P_j es la permeabilidad de cada membrana y c_j a concentración promedio de la membrana considerada en cada caso.

2.2. Modelo computacional

Geometría del modelo

En todas las simulaciones realizadas se ha utilizado una geometría 2D axisimétrica correspondiente a una representación idealizada de un segmento recto de arteria coronaria. Se va a utilizar un modelo de pared arterial basado en el modelo de dos capas presentado por Formaggia et al. [9]. La arteria se modela como un tubo recto con un radio interior de 1.5 mm, que representa el radio del lumen [8]. La pared arterial se considera indeformable y compuesta por una estructura de dos capas, con el espacio subendotelial y la capa media definidos como dos dominios distintos, mientras que el endotelio y la lámina elástica interna son tratadas como membranas permeables de espesor despreciable. La adventicia se modela como una condición de contorno en la superficie exterior de la capa media. La longitud del modelo viene determinada por la distancia que se necesita para obtener un flujo completamente desarrollado, y ésta se ha considerado en 11 mm. Las dimensiones fisiológicas y geométricas específicas están basadas en valores típicos encontrados en la literatura. Los parámetros fisiológicos utilizados en la simulación numérica se proporcionan en la Tabla 1. El espesor de cada una de las capas aparece listado en la Tabla 2.

Parámetro	Uds.	Lumen	Endotelio	Espacio subendotelial	Lámina elástica interna	Capa media
Densidad (ρ)	kg/m ³	1060	-	1060	-	1060
Viscosidad (μ)	Pa·s	3.5·10 ⁻³	7.2·10 ⁻⁴	7.2·10 ⁻⁴	7.2·10 ⁻⁴	7.2·10 ⁻⁴
Permeabilidad de Darcy (P_D)	m ²	-	3.22·10 ⁻²¹	2.2·10 ⁻¹⁶	3.22·10 ⁻¹⁹	2·10 ⁻¹⁸
Conductividad hidráulica (L_p)	m ² ·s/kg	-	2.2·10 ⁻¹²	-	2.2·10 ⁻⁹	-
Porosidad (ϵ)	-	1	5·10 ⁻⁴	0.983	4·10 ⁻³	0.25
Permeabilidad membrana (P)	m/s	-	3·10 ⁻⁶	-	9.8·10 ⁻⁶	-
Difusividad radial (D^r)	m ² /s	4.2·10 ⁻¹²	-	1.7·10 ⁻¹¹	-	2·10 ⁻¹²
Disfusividad axial (D^z)	m ² /s	4.2·10 ⁻¹²	-	1.7·10 ⁻¹¹	-	5·10 ⁻¹¹

Tabla 1. Parámetros del modelo numérico[6]

Capa de la pared arterial	Espesor (mm)	Ref.
Endotelio	2·10 ⁻³	[4]
Espacio subendotelial	0.01	[4]
Lámina elástica interna	2·10 ⁻³	[4]
Capa media	0.5	[3]

Tabla 2. Espesor de cada capa de la pared arterial

Modelo numérico

Todas las ecuaciones presentadas han sido discretizadas mediante el método de los elementos finitos (MEF) utilizando el software comercial COMSOL Multiphysics 4.4 (COMSOL AB, Burlington, MA, USA). Para el transporte de momento se han utilizado elementos Lagrangianos de tercer orden para la velocidad y Lagrangianos de segundo orden para la presión (P3-P2). Para el transporte de masa se han utilizado elementos Lagrangianos de segundo orden, y para la ecuación de reacción elementos Lagrangianos discontinuos de segundo orden.

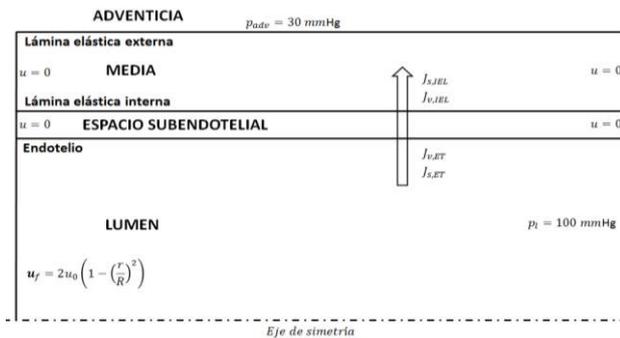


Figura 2. Geometría esquemática de la arteria.

Simulaciones realizadas

Mediante el modelo numérico desarrollado, se pretende validar el ensayo experimental propuesto en [10], donde varias muestras de arterias carótidas de ternera se incubaron en una disolución de paclitaxel a diferentes concentraciones (“bulk”) durante 72 horas, tiempo considerado suficiente para alcanzar el equilibrio. Se han tenido en cuenta dos posibles estados del fármaco en la pared arterial: el fármaco libre disuelto en el plasma y el fármaco unido a los receptores específicos de la matriz extracelular del tejido, siendo la concentración promedio en el volumen la correspondiente a la suma de estas dos cantidades. De acuerdo a los modelos propuestos en [10],

la concentración de fármaco libre se relaciona con la concentración total a través de un factor constante k, llamado coeficiente de partición, el cual se define como el cociente entre el fármaco unido al tejido y el fármaco disuelto en el fluido, considerando un equilibrio entre los dos estados del fármaco.

$$k(x) = c_T(x)/c_{Bulk} \tag{9}$$

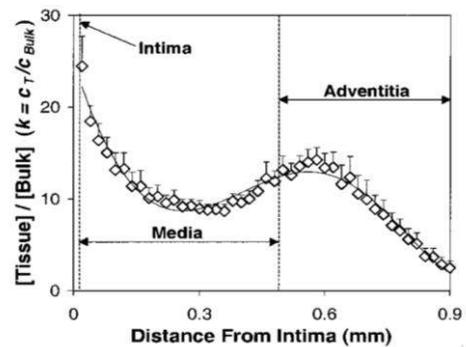


Figura 3. Distribución del paclitaxel a través de la pared arterial (experimental)[10]

3. Resultados

3.1. Validación experimental

En la Figura 4 se reproducen los resultados obtenidos en el ensayo experimental [10] para un tiempo de 72 horas. Para ello, se ha introducido una concentración inicial de paclitaxel de 0.06 mol/m³ y se ha fijado una concentración en el límite de la adventicia de 0.003 mol/m³.

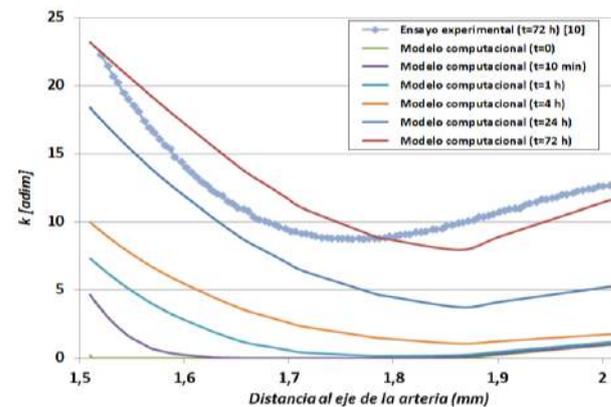


Figura 4. Comparativa entre el modelo experimental [10] y los resultados del modelo numérico para distintos instantes

El coeficiente de partición (k) es máximo en el espacio subendotelial, disminuyendo de forma considerable en las regiones más internas de la capa media. El coeficiente de partición vuelve a crecer de forma gradual hacia el límite entre la capa media y la adventicia. La Figura 4 muestra también la distribución de paclitaxel en la pared arterial para distintos instantes de tiempo, observándose como el valor de k aumenta con el tiempo.

3.2. Distribución transmural

La Figura 5 muestra los perfiles de concentración resultantes para el paclitaxel aplicando los parámetros indicados en la Tabla 2. Para esta simulación, en el límite entre la capa media y la adventicia (lámina elástica externa) se ha considerado la siguiente condición de contorno:

$$-\nabla(D_m \nabla C_m) = 0 \quad (10)$$

asumiendo que el transporte de fármaco a través de la adventicia es puramente convectivo. Los resultados demuestran como el endotelio es la principal resistencia para el transporte del fármaco del flujo sanguíneo a la pared arterial. Comparado con el endotelio, la lámina elástica interna no es una barrera tan importante para el transporte de masa, debido a que el radio de los poros de esta capa es varios órdenes de magnitud mayor que el radio de la molécula considerada. La principal razón por la que existe una diferencia de concentración de fármaco en el espacio subendotelial y la capa media es la diferencia en los valores de porosidad de esas dos capas.

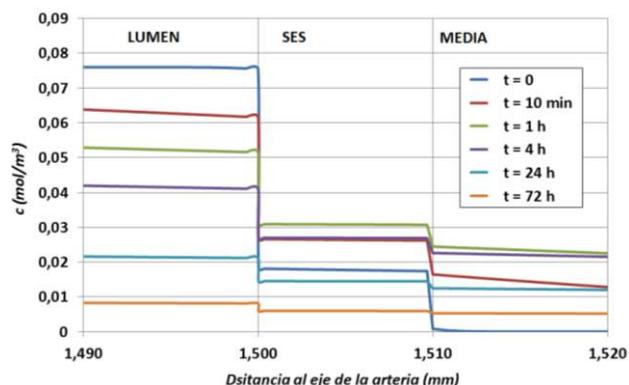


Figura 5. Distribución de concentración de paclitaxel a través de la pared arterial para diferentes instantes de tiempo

4. Conclusiones

En este trabajo se ha propuesto un modelo numérico basado en la teoría del medio poroso y en datos obtenidos de la literatura con el que se ha estudiado los procesos de transporte del paclitaxel en el flujo sanguíneo y en las diferentes capas de la pared arterial. El flujo sanguíneo en el lumen ha sido modelado mediante las ecuaciones de Navier-Stokes y las velocidades de filtración en la pared arterial se han calculado aplicando la Ley de Darcy. La descripción del transporte de masa en el lumen se ha realizado mediante la ecuación de convección-difusión, mientras que para el transporte en el espacio subendotelial

y en la capa media se ha utilizado la ecuación de convección-difusión-reacción. El endotelio y la lámina elástica interna han sido modelados como membranas porosas semipermeables y el flujo a través de ellas ha sido descrito mediante las ecuaciones de Kedem-Katchalsky.

Los resultados demuestran que el modelo presentado es válido para la reproducción de modelos experimentales. La condición de contorno en la adventicia es crucial para la obtención de los resultados. El modelo es útil para el estudio de la difusión de paclitaxel en la arterial y puede ayudar al diseño de nuevos dispositivos liberadores de fármacos más eficientes. Además se ha estudiado la evolución temporal cinética del fármaco.

5. Trabajos futuros

Algunos de las futuras líneas de trabajo que se derivan de este estudio son:

- Incluir la adventicia en el modelo computacional.
- Simulación de los procesos de difusión en arteria ilíaca con placa de ateroma.

Referencias

- [1] Karner G, Perktold K, Zehentner HP (2001) Computational modeling of macromolecule transport in the arterial wall. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering* 4(6):491–504.
- [2] Prosi M, Zunino P, Perktold K, Quarteroni A (2005). Mathematical and numerical models for transfer of low-density lipoproteins through the arterial walls: a new methodology for the model set up with applications to the study of disturbed luminal flow. *Journal of Biomechanics* 38(4):903–917.
- [3] Ai L, Vafai K (2006). A coupling model for macromolecule transport in a stenosed arterial wall. *International Journal of Heat and Mass Transfer* 49(9-10):1568–1591.
- [4] Yang N, Vafai K (2006). Modeling of low-density lipoprotein (LDL) transport in the artery—effects of hypertension. *International Journal of Heat and Mass Transfer* 49(5-6):850–867.
- [5] Gartner, LP, Hiatt JL (2002). *Texto y Atlas de Histología*. 3a. edición. Editorial Médica Panamericana.
- [6] Bozsak, F, Chomaz, JM, Barakat, AI (2014). Modeling the transport of drugs eluted from stents: physical phenomena driving drug distribution in the arterial wall. *Biomech. Model. Mechanobiol.* 13(2), 327–347.
- [7] Kedem O, Katchalsky A (1958). Thermodynamic analysis of the permeability of biological membranes to non-electrolytes. *Biochimica et Biophysica Acta* 27:229–246.
- [8] Tzafirri AR, Levin AD, Edelman ER (2009). Diffusion-limited binding explains binary dose response for local arterial and tumour drug delivery. *Cell Proliferation* 42(3):348–363.
- [9] Formaggia L, Quarteroni A, Veneziani A (eds) (2009). *Cardiovascular Mathematics*. Springer Milan.
- [10] Creel CJ, Lovich MA, Edelman ER (2000). Arterial paclitaxel distribution and deposition. *Circulation Research* 86(8):879–884.

Wireless Compact system with multi-ring Concentric Electrode for Clinically Friendly EHG Recording

Alberola-Rubio¹, G. Prats-Boluda¹, Y. Ye-Lin¹, J.M. Bueno-Barrachina¹, J.Valero², D. Desantes², A. Perales², and J. Garcia-Casado¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (CI2B), Universitat Politècnica de València, Valencia, España, {palberola, gprats, yiye,jgarciac}@gbio.i3bh.es

² Servicio de Obstetricia, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, Spain, perales_alf@gva.es

Abstract

Uterine activity monitoring is used to assess pregnancy and labor progress and to value maternal and fetal wellbeing. Previous research has proven that surface recordings of uterine myoelectrical activity (electrohysterogram, EHG) provide additional information regarding uterine dynamics, electrophysiological uterine condition and time to delivery than traditionally used external tocographic recordings (TOCO). Nonetheless such encouraging results have not been transferred to clinical application. In this work we present a novel EHG recording system which aims to simplify recording protocol and conditions so as to provide a clinically friendly use of this promising technique. The proposed system is made of an adhesive flexible multi-ring concentric electrode (CRE) and a battery powered compact recording system which permits wireless transmission and local data storage. For a preliminary verification of the proposed system to be used for EHG studies, two recording sessions of 1h were carried out on two women in labor state. Signals from the new system were simultaneously recorded with conventional EHG bipolar recording with disc electrodes and benchtop equipment, and TOCO signal from a commercial maternal monitor. Signals from CRE and the compact system proved to detect all uterine contractions identified in TOCO, and yielded similar spectral parameters, duration and signal quality to those of conventional EHG records. The proposed system is easy to use, simplifies electrode placement and permits full access to patient's bed which are desired requirements for its use in clinical environments.

1. Introduction

Labor is defined as regular uterine contractions accompanied by cervical effacement and dilatation and is the physiologic process by which a fetus is expelled from the uterus [1]. Monitoring uterine contractions during pregnancy is important to estimate labor progress. Uterine activity monitoring during labor is used to assess its evolution. It can be able to diagnose causes of dystocia due to defective, inefficient or inappropriate uterine activity and to obtain the well-being state of both mother and child [2]. Intrauterine pressure (IUP) measurement is the gold standard in contraction monitoring; however, its clinical application is limited since it requires rupturing the membranes to place a catheter inside the uterus, hence it can only be used during the final stages of labor. In addition its use has been associated with an increase of intrapartum infection, also cases of uterus perforation and placental abruption have been reported [1]. Tocography is currently the most used technique for monitoring uterine

activity. Tocodynamometer (TOCO) placed on maternal abdominal surface provides an indirect measurement of uterine contraction [1]. However TOCO does not supply reliable information since it depends of the subjectivity of the examiner [1,3]. Also, TOCO must often be recalibrated and repositioned to work correctly [4] and an uncomfortable tight strap is required to secure the pressure probe.

Electrohysterogram (EHG) is the recording of uterine electrical activity on abdominal surface, and it has been positioned as a new method for assessing uterine activity [1]. Previous studies have shown that the EHG signal and the electrical signal generated by the myometrial smooth muscle are synchronized in time, being therefore temporally related to the contractions of the uterus [5]. In addition, EHG signal temporal and spectral characteristics have been shown to provide reliable information to assess the contraction efficiency, time to delivery and to predict preterm delivery due to the fact that these characteristics varies over the time [1, 5]. Despite the good results obtained in research studies, electrohysterographic techniques are still not used in clinical practice. Recording conditions in research works e.g. arrays with large number of disc electrodes which require extensive wiring and time consuming preparation [6,7], additional bench equipment, etc are not desirable in the demanding conditions of clinical use. In order to promote EHG clinical application, the sensing electrode configuration and the required wiring and equipment should be simplified. In this work we propose the use of a multi-ring electrode and a compact wireless acquisition system, for a more friendly clinical use of EHG recordings. The use of a single multi-ring electrode would simplify electrode positioning and connections; and the ring shape would not introduce directionality bias of conventional bipolar recordings with disc electrodes. On the other hand, the compact recording system permits full access to the patients' bed. In this paper we present such system and we provide preliminary results of acquired signals and comparison of concentric ring EHG recording with conventional bipolar recordings with disc electrodes.

2. Material and Methods

2.1. EHG signal recording system

As indicated above, the proposed sensing electrode is a multi-ring concentric electrode. Concentric ring electrodes (CRE) permit to directly estimate the Laplacian potential

that is the second partial derivative of the body surface potentials, providing more detailed differentiation of concurrent dipole sources [8, 9]. Previous computational studies have proven that ring dimension is related with the sensitivity to the electric dipole depth and area sensed by these electrodes. Therefore, it would be expected that smaller rings would pick up more local information, whereas larger rings would pick up a more global one. Moreover signal amplitude and quality would also be higher the greater the ring dimension is. Considering all this we have designed a tripolar ring electrode, see fig. 1 made of: an inner disc of 10 mm radius, a middle ring of 30 and 35 mm internal and external radii, and an outer ring of 55 and 60 mm internal and external radii. CRE electrode were implemented in flexible substrate (SPEs Medica, Italy) which has proven to reduce skin-electrode contact impedance and provide more stable baseline drift for biosignals recording [10]. In addition, flexible electrodes are more comfortable for patient and less sensitive to motion artifacts [10].

On the other hand, so as to reduce the inconveniences of benchtop equipment that could disturb the access to the patient to perform other measurements or tests that are usually needed in clinical practice, it was developed a compact signal conditioning and recording system that permits to transmit wirelessly (Bluetooth) online signals and to storage them locally in a microSD card. The circuitry includes bandpass filtering between 0.1 and 150 Hz and a gain of 2059 V/V. Signals are digitized at 500 Hz with 24-bit resolution. Its dimensions are 80x42x10 mm³ and weights 17.9g. It is powered by a 3.7 V, rechargeable 1000 mAh, Lithium Polymer battery which ensures patients safety.

2.2. Signal acquisition

Recordings were carried out on 2 healthy women during active labor. Hospital Universitario y Politécnico La Fe Ethics Committee approved this study. Women signed written consent forms. Gestational ages were 39 and 41 weeks, and body mass index 24 and 31 kg/m². Recording sessions were 1 hour time duration. For each recording session, the skin was carefully prepared using an abrasive paste in order to reduce the skin-electrode contact impedance. CRE electrode was placed on abdominal surface on uterine median axis below the umbilicus. Reference and ground electrodes were placed on left and right hip respectively. Two bipolar concentric EHG (BC-EHG) signals were obtained from a CRE electrode connected to the above described compact recording system. Precisely, the differential voltage between the middle ring (U₂) and the inner disc (U₁), and between the outer ring (U₃) and the inner disc were analyzed

$$BC1 = U_2 - U_1 \quad (1)$$

$$BC2 = U_3 - U_1 \quad (2)$$

Simultaneously, conventional bipolar EHG recording (Bipolar) was obtained with two disposable monopolar Ag/AgCl electrodes (3M Red Dot 2235 Electrodes) placed on the uterine fundus recorded with commercial amplifier (15 LT, Grass Technologies). This EHG signal was recorded so as to have a conventional EHG recording for the comparison with BC-EHG recordings with the new

CRE. In Fig 1 it is depicted the CRE electrode and the disposable electrodes used to perform this preliminary study.

In addition, a tocodynamometer placed on abdominal surface was used to obtain tocographic signal. This signal was conditioned using the maternal –fetal monitor (Corometrics 170 series, GE Medical systems) and acquired at 4 Hz sampling frequency. This data were digitally stored in a portable computer for subsequent analysis.

2.3. Data analysis

The main energy distribution of EHG signals ranges from 0.1 to 4 Hz [11], therefore EHG signals were digitally filtered in such bandwidth by 5th order Butterworth filter to eliminate undesired components. Signals were subsequently resampled at 20 Hz to reduce unnecessary computational cost.

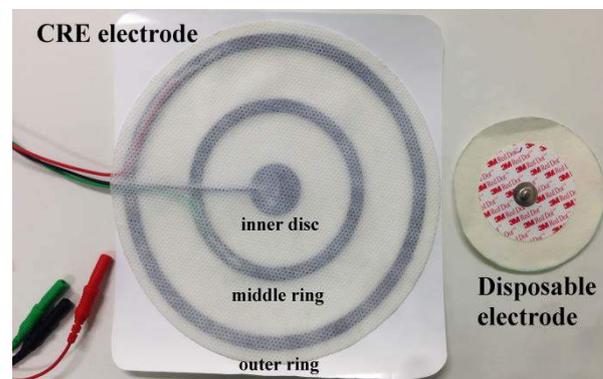


Figure 1. Middle: Concentric ring electrode (CRE). Right: Disposable electrode.

Experts visually identified all the uterine contractions on the different recordings. The bursts of uterine electrical activity corresponding to contractions were then manually segmented on EHG recording channels. So as to check the detection capability of the proposed EHG recording system, the number of contractions detected was compared with that of TOCO. Then, the contractions consistency index (CCI), also used by [4], was calculated

$$CCI = \frac{N_c}{\frac{1}{2}(N_T + N_E)} \quad (3)$$

Where N_T is the number of contractions detected by TOCO, N_E is the number of contractions detected in the conventional bipolar EHG, or BC-EHG and N_C is the number of consistent contractions.

Afterwards, in order to characterize the BC-EHG signals, a set of parameters described in literature was computed [1,12], which includes: duration, mean frequency (MF) and dominant frequency. MF was computed in [0.1 - 1] Hz bandwidth, whereas DF_1 was computed in frequency band [0.1 - 0.34] Hz and DF_2 in [0.34 - 1] Hz. In addition signal-to-noise ratio (SNR) of the burst of EHG was worked out to compare the signal quality among BC-EHG and conventional bipolar signals. SNR values the increase on the signal power during

contraction with respect to the basal tone, is computed by a method similar to that used by other authors [13]:

$$SNR = 10 \log_{10} \left(\frac{Power_{Burst}}{Power_{BS}} \right) dB \quad (4)$$

Where $Power_{Burst}[f]$ and $Power_{BS}[f]$ are the power of the EHG burst and basal tone, respectively.

Finally, all these parameters obtained from bipolar and BC-EHG signals were statistically compared using the paired t test ($\alpha = 0.05$).

3. Results

Fig 2 shows an example of BC-EHG and conventional bipolar recordings with disc electrodes acquired simultaneously with TOCO, during contractile activity period in active labor state. This figure shows that the rise of amplitude and frequency in EHG signal is associated with pressure rise in TOCO. The burst amplitude in BC-EHG is smaller than that of conventional EHG bipolar; order of tens of microvolts for the former, and hundreds of microvolts for the latter.

Table 1 shows the number of contractions identified in each recording channel: by TOCO and EHG signals BC1 and BC2, and conventional bipolar EHG. A total of 28 contractions were detected in TOCO recordings. All of them were all also detected in the signals from the outer ring of the CRE (BC2 EHG channel). However, the ring of smaller dimension (BC1) and conventional bipolar EHG performed slightly worse with a total of 25 and 26 detected contractions respectively.

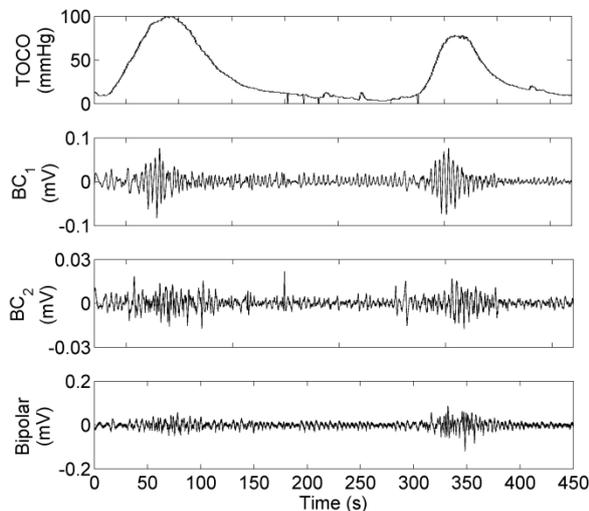


Figure 2. Example of recorded signals: TOCO: pressure on abdominal surface, BC1-EHG: concentric bipolar EHG 1. BC2-EHG: concentric bipolar EHG 2, Bipolar: conventional bipolar EHG with disc electrodes.

Table II shows the mean and standard deviation of the set of EHG parameters calculated. No statistical significant differences were observed in spectral parameters from the BC-EHG compared with conventional bipolar EHG. Likewise, no statistical differences were found in contraction duration and SNR comparing BC1-EHG and BC2-EHG with Bipolar EHG.

Channel	N_T	N_E	N_C	CCI
BC1	28	25	25	94%
BC2	28	28	28	100%
Bipolar	28	26	26	96%

Table 1. Contraction consistence index (CCI)

Feature	Bipolar	BC1-EHG	BC2-EHG
Duration (s)	77.47±19.80	84.58±22.53	88.51±18.41
MF (Hz)	0.38±0.05	0.35±0.09	0.34±0.04
DF1 (Hz)	0.23±0.06	0.18±0.05	0.23±0.05
DF2 (Hz)	0.48±0.04	0.43±0.04	0.48±0.05
SNR (dB)	4.80±3.20	6.40±4.55	6.79±3.30

Table 2. Mean and standard deviation of EHG contraction features

4. Discussion

In this paper, it was presented a preliminary study of the use of a multi-ring electrode (and a compact wireless acquisition EHG system for a more friendly clinical use of electrohysterographic recording and monitoring. In this way, it is combined the advantages of friendly portable systems and the benefits of concentric ring electrodes over conventional disc electrodes, such as enhancement of spatial selectivity and independence on the direction of signal propagation [13]. This latter could improve the estimation of propagation velocity which has proven to provide valuable information for the prediction of preterm delivery but suffers important bias when estimated from bipolar recordings with conventional disc electrodes [14]. In this regard propagation velocity could be estimated from the three unipolar recordings of the multi-ring electrode or with the two bipolar recordings proposed in this study without being affected by the direction of propagated wavefront. Moreover the use of a single electrode patch which is pregelled, flexible and adhesive significantly simplifies the recording protocol.

Nevertheless concentric ring electrodes present a high-pass filtering effect which could affect the ability to pick up uterine myoelectrical activity of very low frequency. In this work, spectral characteristics of BC-EHG signals were compared with those of simultaneous conventional bipolar recording with disc electrodes. The DF1 and DF2 yielded very similar results for all EHG channels, whereas MF in bipolar EHG was slightly higher that BC1-EHG and BC2-EHG, although without statistical significant differences. All the values were consistent compared with values reported for other authors in similar gestational [15]. Moreover, signal quality (SNR) of BC-EHG recorded with the CRE and compact system was similar to that of simultaneous signals from conventional disc electrodes and benchtop equipment, and to other works [15,13].

It was also studied the capability of detecting uterine contractions with the proposed EHG recording system, using the current clinical standard for contraction monitoring, which is tocodynamometry, as a reference. Preliminary results show that our system was able to pick up all the uterine contractions identified in TOCO.

Nonetheless the middle ring of the CRE missed 3 out of the 28 contractions. This would probably be due to the smaller dimension of this ring which results in a more local sensitivity to active dipoles. Such missed contraction may be originated in a distant area from the middle ring electrode location. Nonetheless results were similar to those of conventional bipolar records that missed 2 contractions. Also regarding contraction detection efficacy of EHG in comparison with clinically habitual TOCO recordings, previous studies have found that conventional bipolar EHG are more consistent in detecting contractions recorded by the gold standard IUP than TOCO signal [16]. In addition, the patients included in the present study reported feeling more comfortable with flexible substrate CRE electrodes, than with the TOCO probes that required tight straps to ensure contact and pressure with the maternal abdomen.

Nevertheless this work is a preliminary study, with two principal limitations. First and more relevant is that only 2 patients were recorded to check the feasibility of using this new system with CRE electrodes. Secondly, contraction consistence index of this proposed system would better be compared with IUP (gold standard) rather than TOCO (habitual clinical use). Finally, more subjects and additional signal characteristics must be involved and computed to confirm these preliminary results.

5. Conclusion

In this work we presented a new EHG recording system which simplifies recording protocol and conditions and hence is more likely to be accepted and used in clinical environments. Preliminary results reported suggest that uterine electrical activity can be picked up by our ad-hoc EHG recording systems, made of CRE electrodes and portable signal conditioning system, permitting to obtain EHG characteristic parameters and to monitor uterine contractions with better consistency than conventional bipolar recordings with disc electrodes. We consider this is a step forward in bridging the gap between the promising results of EHG in research, and its use in clinical practice.

Acknowledgement

Research supported in part by: a grant from the Conselleria d'Educació, Cultura i Esport, Generalitat Valenciana Conselleria (GV/2014/029), a grant from the Universitat Politècnica de Valencia (SP20120490) and by a VLC_Campus grant (Prematuro 2013-0507)

References

- [1] Schlembach D, Maner WL, Garfield RE, Maul H. Monitoring the progress of pregnancy and labor using electromyography. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, vol 144 Suppl 1, 2009, pp S33-S39
- [2] Bakker P, Kurver P, Kuik D, Van Geijn H. Elevated uterine activity increases the risk of fetal acidosis at birth. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol 196, sup 4, 2007, pp 313e1-313e6 (ISSN: 0002-9378).
- [3] Miles AM, Monga M, Richeson KS. Correlation of external and internal monitoring of uterine activity in a cohort of term patients. *American Journal of Perinatology*, vol 18, sup 3, 2001, pp 137-140 (ISSN: 0735-1631).
- [4] Euliano TY, Nguyen MT, Marossero D, Edwards RK. Monitoring contractions in obese parturients: electrohysterography compared with traditional monitoring. *Obstet Gynecol*, vol 109, sup 5, 2007, pp 1136-1140
- [5] Vinken MP, Rabotti C, Mischi M, Oei SG. Accuracy of frequency-related parameters of the electrohysterogram for predicting preterm delivery: a review of the literature. *Obstet Gynecol Surv*, vol 64, sup 8, 2009, pp 529-541
- [6] Lange L, Vaeggemose A, Kidmose P, Mikkelsen E, Ulbjerg N, Johansen P. Velocity and directionality of the electrohysterographic signal propagation. *PLoS One*, vol 9, sup 1, 2014, pp e86775
- [7] Hassan M, Terrien J, Muszynski C, Alexandersson A, Marque C, Karlsson B. Better Pregnancy Monitoring Using Nonlinear Correlation Analysis of External Uterine Electromyography. *Ieee Transactions on Biomedical Engineering*, vol 60, sup 4, 2013, pp 1160-1166 (ISSN: 0018-9294).
- [8] He B, Cohen RJ. Body surface Laplacian mapping of cardiac electrical activity. *Am J Cardiol*, vol 70, sup 20, 1992, pp 1617-1620
- [9] Besio W, Chen T. Tripolar Laplacian electrocardiogram and moment of activation isochronal mapping. *Physiol Meas*, vol 28, sup 5, 2007, pp 515-529
- [10] Prats-Boluda G, Ye-Lin Y, Garcia-Breijó E, Ibañez J, Garcia-Casado J. Active flexible concentric ring electrode for non invasive surface bioelectrical recordings. *Meas Sci Technol*, vol 23, sup 125703, 2012, pp 1-10
- [11] Maul H, Maner WL, Olson G, Saade GR, Garfield RE. Non-invasive transabdominal uterine electromyography correlates with the strength of intrauterine pressure and is predictive of labor and delivery. *J Matern Fetal Neonatal Med*, vol 15, sup 5, 2004, pp 297-301
- [12] Fele-Zorz G, Kavsek G, Novak-Antolic Z, Jager F. A comparison of various linear and non-linear signal processing techniques to separate uterine EMG records of term and pre-term delivery groups. *Med Biol Eng Comput*, vol 46, sup 9, 2008, pp 911-922
- [13] Ye-Lin Y, Alberola-Rubio J, Prats-Boluda G, Perales A, Desantes D, Garcia-Casado J. Feasibility and analysis of bipolar concentric recording of electrohysterogram with flexible active electrode. *Ann Biomed Eng*, vol 43, sup 4, 2015, pp 968-976
- [14] Rabotti C, Oei SG, van 't Hooft J, Mischi M. Electrohysterographic propagation velocity for preterm delivery prediction. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol 205, sup 6, 2011, pp E9-E10 (ISSN: 0002-9378).
- [15] Maner WL, Garfield RE. Identification of human term and preterm labor using artificial neural networks on uterine electromyography data. *Ann Biomed Eng*, vol 35, sup 3, 2007, pp 465-473
- [16] Euliano TY, Nguyen MT, Darmanjian S et al. Monitoring uterine activity during labor: a comparison of 3 methods. *Am J Obstet Gynecol*, vol 208, sup 1, 2013, pp 66

Mimicking spleen's red pulp complex hydrodynamic behavior on-chip

L.G. Rigat-Brugarolas^{A,B}, A. Elizalde-Torrent^C, H.A. del Portillo^{C,D},
A. Homs-Corbera^{A,B} and J. Samitier^{A,B,D}.

^A Nanobioengineering group, Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Barcelona, Spain;

^B Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Zaragoza, Spain;

^C Barcelona Centre for International Health Research (CRESIB, Hospital Clínic-Universitat de Barcelona)/ISGlobal, Barcelona, Spain;

^D Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA), Barcelona, Spain and

^E Department of Electronics, Barcelona University (UB), Martí I Franques, 1, Barcelona, Spain.

Abstract

The spleen, a secondary lymphoid organ located in the upper left part of the abdomen, is a complex three-dimensional branched vasculature exquisitely adapted to perform different functions, such as an innate specialization in filtering non-healthy erythrocytes from the bloodstream. Known as the "black box of the abdominal cavity", its structure contains an extraordinary microfluidic network, composed by a fast and slow circulations, compartmentalized parenchyma and the interendothelial slits, the narrowest constrictions of our body.

In this framework, splenomegaly, a pathological enlargement of this organ, is a landmark of malaria infection and many other haematological disorders. However, due to technical and ethical constraints, the role of the spleen in many diseases remains vastly unknown.

In order to tackle this issue, and taking into account these physiological features, we have designed and developed the first microfluidic device of a human splenon-on-a-chip, mimicking the hydrodynamic behavior of the organ, to evaluate and simulate its activities, mechanics and physiological responses. Different physiological structures have been translated into engineering elements that can be combined to integrate the splenon model.

This biomimetic-chip based platform should help in have a deeper understanding of the underlying molecular hostage mechanisms of Plasmodium vivax and contribute to vaccine development and drug testing of malaria and other blood pathologies.

1. Introduction

Constant evolution and improvements on areas such as biomedical engineering have made it possible to partially close the gap between conventional *in vitro* cell cultures and animal model-based studies [1][2][3], that are usually time-consuming, costly, with ethical issues and often does not accurately predict the adverse effects in humans. Toward a more reliable output, several platforms, in the interface between nanobio and tissue engineering, have been developed in the past years with

the aim to supplement or supplant animal studies or at least try to prioritize them.

Research in microfluidic devices that represents organ models is still in its infancy, but offers a tantalizing glimpse into future of drug testing and biological hypotheses evaluation.

In this sense, many efforts have been directed toward developing different bio-chip based systems that permit the investigation of both biological and physical features of different haematological diseases, such as malaria.

However, although it has a remarkable role in different haematological pathologies, only few works in this field are focused on the spleen. Moreover being the largest lymph organ in our body and, therefore, having an outstanding importance in blood filtering, it may play a crucial role in malaria. The spleen is a complex three-dimensional branched vasculature exquisitely adapted to perform different functions containing closed/rapid and open/slow microcirculations, and a compartmentalized parenchyma [4]. On account of this, the spleen is essential for removing old, abnormal and rigid red blood cells (RBCs) that are unable to pass through the interendothelial slits.

Taking into account all those features, we have designed and developed the first microfluidic device of a human splenon-on-a-chip (the minimal functional unit of the red pulp facilitating blood-filtering and destruction of non-healthy RBCs) in order to study the tasks undertaken by this organ in different blood pathologies [5].

Our starting point consisted in translating splenon physiology to the most similar microfluidic network, mimicking the hydrodynamic behavior of the organ, to evaluate and simulate the activities, mechanics and physiological responses and, therefore, enable us to study biological hypotheses. Different physiological features have been translated to engineering elements that can be

combined to integrate a biomimetic microfluidic spleen model. The device is fabricated in polydimethylsiloxane (PDMS), a biocompatible polymer.

2. Materials and Methods

2.1. Device design

A two-layer microfluidic device was designed to translate a simplified but accurate version of spleen's red pulp physiology using standard photo-lithographic and soft-lithographic techniques customized for fabricating a multilayer platform. The device consists in two main sections that represent both slow flow and fast flow channel (open/slow and close/fast microcirculations).

The measures were calculated taking into account that, in physiological conditions, the 90% of the blood circulates through the fast-flow section while the remaining 10% circulates through the slow compartment. The adjusted structure was designed in the basis of the classical fluidic resistance (R_H) model by imposing geometric relations on the two lab-on-a-chip branches.

2.2. Device fabrication

The fabrication of the splenon-on-a-chip consists of a multi-step procedure designed to obtain different heights using different photoresists by means of photo-lithographic and soft-lithographic techniques customized for fabricating a multilayer platform. All works were carried out in the clean room facility of the Institute for BioEngineering of Catalonia (IBEC).

The master is fabricated over glass slides. A thoroughly cleaning protocol based on chemical baths and surface activation process is used for the slides. The process starts with three consecutive solvent baths. Then, after dehydration, the glass surface is subjected to O_2 plasma power to improve photoresist adhesion.

The process principally englobes spinning, curing and developing different SU-8 family photoresists for building the slow-flow channel. The fabrication of the master three-dimensional mold is finished by laminating and developing an Ordyl film that shapes the fast-flow channel.

To replicate the master's microchannels, a PDMS pre-polymer mixture in a curing agent-to-PDMS ratio of 1:10 (Sylgard[®]184, Dow Corning) is poured on top of the SU-8/Ordyl master to fabricate a PDMS mould. After cleaning, both the PDMS structures and a glass slide were chemically modified in O_2 plasma and immediately pressed together to form a permanent bond, obtaining the final device (Figure 1).

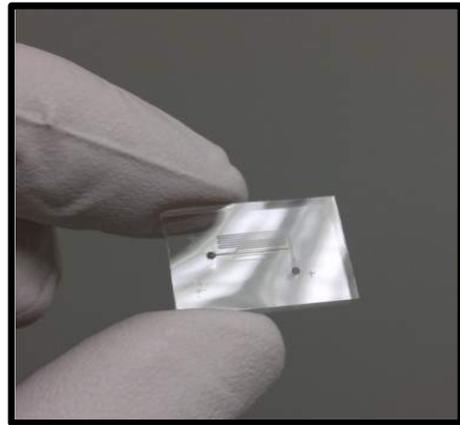


Figura 1. Splenon-on-a-chip biomimetic platform

2.3. Blood specimens

Blood specimens were collected during normal course from donors at the Blood and Tissue Bank (Barcelona), after written consent and in accordance with the ethics Committee protocols of the Blood and Tissue Bank. Upon receipt, RBCs were washed twice with incomplete Roswell Park Memorial Institute medium (RPMI) and re-suspended at a 50% haematocrit in the same medium for experimental purposes.

2.4. Experimental system operation

Briefly, the experimental setup consists in a syringe pump used to introduce the human whole blood sample into the splenon-on-a-chip at a pre-determined flow rate. The experiments were carried out at room temperature (25°C) and the sample at physiological temperature of 37°C.

Tubes were inserted into the access holes, which were slightly smaller than the outer diameter of the tubing to form a pressure seal between the tubing and the hole.

Concerns regarding the formation of bubbles inside the device were faced during the experimentation. Consequently, precautions were taken before each experiment while handling blood samples with the syringe, eliminating all possible bubble formation both in the syringe and the tubing connected to the microfluidic device. With this methodology, bubble apparition inside the device was prevented.

Optical measurements were performed using an inverted optical microscope (Olympus IX71) with an integrated CCD Hamamatsu camera.

2.5. Measurements of cell deformability

Optical microscopy and intravital imaging were used to obtain deformability measurements of individual cells in the slow compartment as well as while passing through the slits using the ImageJ processing and analysis software.

The deformation measurement is therefore defined as the percentage of difference between the length in microns of a single cell in the slit and the length in the pillar matrix zone.

2.6. Statistical analysis

The median and the quartiles of the length and the deformation of the cells were analyzed using Microsoft Excel and the IBM SPSS statistics program. Because statistical analysis entails comparing two different cell populations, the non-parametric Mann–Whitney U statistical test was used.

3. Results

Microfluidics analyses confirmed that 90% of the blood circulates through a fast-flow compartment whereas the remaining 10% circulates through a slow compartment (Figure 2). Moreover, RBCs and reticulocytes going through the slow-flow compartment squeeze at the end of it through $2\mu\text{m}$ physical constraints resembling interendothelial slits to reach the closed/rapid circulation.

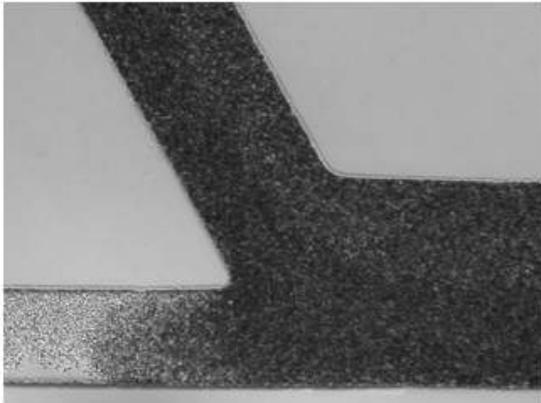


Figura 2. Blood Flow Division inside the splenon-on-a-chip

Preliminary results showed significant statistical differences in terms of cell deformability between old vs. fresh RBCs ($p=0.001$) and non-parasitized vs. *P. Yoelii* parasitized reticulocytes ($p=0.006$) when passing through the $2\mu\text{m}$ constrictions simulating the IES.

4. Discussion

The minimal functional unit of the red pulp, able to maintain filtering functions, has been termed as splenon. In this work, we present a multilayered microfluidic device of a human splenon-on-a-chip for advance in the study of the role and the importance of the spleen in different haematological pathologies.

The rheological properties of RBCs during blood disorders, including malaria, have been studied using various techniques. To demonstrate the validity of our methodology, we showed that old RBCs are less deformable than freshly drawn RBCs (as expected), which is consistent with previous studies. Moreover, to better capture, model and quantify the deformability and passage of infected RBCs through the IES we used the peripheral blood of BALB/c mice experimentally infected with the *P. yoelii* 17X-GFP strain, that has a tropism for reticulocytes in the same way as human malaria *P. vivax*.

Many successful devices have been already developed in the area of organ-on-a-chip. However, the construction of a functional human splenon-on-a-chip represents a first

step in the long-term goal of constructing a functional 3D model of the human splenon-on-a-chip that could be useful for drug testing purposes or biological hypotheses evaluation.

5. Conclusions

We have developed a newfangled microfluidic device of a human splenon-on-a-chip that mimics the hydrodynamic behavior of the organ, resembling the interendothelial slits and the fast/slow microcirculation. This biomimetic-chip based platform should help in have a deeper understanding of the underlying molecular hostage mechanisms of *Plasmodium vivax* and contribute to vaccine development of malaria or other haematological disorders.

Acknowledgements

Funded by the EXPLORA Programme of the Ministry of Economy and Competitiveness of the Government of Spain (SAF2012-35133). Part of this work was also supported by the technology transfer program of the Fundación Botín and by the European Community's Seventh Framework Programme (grant agreement N° 242095). We thank David Izquierdo, Miriam Funes and IBEC Nanotechnology platform staff for their technical help in this project.

References

- [1] Sung JH, Esch MB, Prot JM, Long CJ, Smith A, Hickman JJ and Shuler ML. Microfabricated mammalian organ systems and their integration into models of whole animals and humans, *Lab Chip*, 13, 2013, pp 1201-1212 (DOI:10.1039/C3LC41017J).
- [2] Huh D, Hamilton GA and Ingber DE. From 3D cell culture to organs-on-chips, *Trends in Cell Biology*, 12, 2011, pp 745-754 (DOI: 10.1016/j.tcb.2011.09.005).
- [3] M.L. Kovarik, P.C. Gach, D.M. Ornoff, Y. Wang, J. Balowski, L. Farrag and N.L. Allbritton. Micro total analysis systems for cell biology and biochemical assays, *Anal. Chem*, 84, 2012, pp 516-540 (DOI: 10.1021/ac202611x).
- [4] Del Portillo HA, Ferrer M, Brugat T, Martin-Jaular L, Lacerda MVG. The role of the spleen in malaria, *Cellular Microbiology*, 3, 2012, pp 343–355 (DOI: 10.1111/j.1462-5822.2011.01741).
- [5] Rigat-Brugarolas LG, Elizalde-Torrent A, Bernabeu M, De Niz M, Martin-Jaular L, Fernandez-Becerra C, Homs-Corbera A, Samitier J, and del Portillo HA. A functional microengineered model of the human splenon-on-a-chip, *Lab Chip*, 14, 2014, pp 1715–1724 (DOI: 10.1039/c3lc51449h).

The influence of assist gas type in fiber laser cutting of F562 35N LT cobalt-chromium alloy for coronary stents

N. Alamilla Mejía¹, J. Ibarra Medina¹, C. A. Rodríguez¹

¹ Escuela de Ingeniería y Ciencias, Tecnológico de Monterrey, Ave. Eugenio Garza Sada #2501 Sur, Monterrey, MEXICO 64849. ciro.rodriguez@itesm.mx

Abstract

Cobalt-chromium alloys represent an ideal material for coronary-stent fabrication. These alloys possess superior properties to those of stainless steel, such as higher density, radiopacity, elastic modulus and tensile properties. Despite this, there is a lack of thorough research on the manufacturing of cobalt-chromium-based stents, and on the aspects which can lead to an optimum exploitation of their properties. In particular, in the laser cutting of cobalt-chromium tubes; which is a crucial process step which defines the quality of any stent; very little attention has been paid to the influence that different types of cutting gases have on the quality aspects and on the material properties of the manufactured stent. Oxygen has been the apriori gas of choice in laser cutting of cobalt-chromium stents, but up to date no study has reported the use of other cutting gases.

This paper presents an analysis of the fiber laser cutting of F562 35N LT cobalt-chromium tubes for stent production using three different types of cutting gases: argon, nitrogen and oxygen. Cuts were made using the three gases and the impact of the type of gas on the cutting quality and material properties was assessed in terms of kerf-cut width, surface roughness, heat affected zone, as well as microstructure and chemical composition. Clear differences on these aspects were evident, indicating that the type of gas used in laser cutting impacts the final stent quality on cobalt-chromium alloys. Oxygen had detrimental effects on the properties of the material.

Key words: coronary stent, cobalt-chromium alloy, laser cutting, assist gases, kerf width, roughness, heat affected zone, microstructure.

1. Introduction

A coronary stent is a tiny mesh tube which is implanted in an obstructed artery to restore blood flow. Since their introduction in medical practice, the use of coronary stents has represented an important advancement in the treatment of coronary artery diseases. Coronary stents are very effective in treating acute artery closure and in reducing the need for performing coronary artery bypass surgery.

Stents are manufactured using biomaterials such as stainless steel, nitinol, cobalt-chromium, titanium, tantalum alloys, platinum-iridium alloys, and polymers [1]. Albeit stainless steel is the most widely used material in stents production, cobalt chromium alloys offer better metallurgical and surface properties. Cobalt-chromium alloys have been developed and used in applications ranging from aircraft engines to surgical implants. They are noted for their high strength, good corrosion resistance, and good wear resistance. The main cobalt-chromium alloys used in medical devices manufacturing are ASTM F75, ASTM F90, ASTM F99, ASTM F1058, and ASTM F562 [2]. The Food and Drugs Administration (FDA),

approved ASTM F562 (MP35N/35N LT), F1058 (Elgiloy/Phynox), and F90 (L605) alloys for making stents. These alloys have been chosen due to their biocompatibility, strength, high resistance to fatigue, corrosion resistance, and Magnetic Resonance Imaging (MRI) compatibility [3]. ASTM F562 is a wrought Co-Ni-Cr-Mo alloy. This alloy is stronger and denser than 316L stainless steel, allowing stent designs with thinner struts, increased flexibility, good radiopacity despite thinner struts, and better deliverability without compromising radial strength [4].

The manufacture of stents is widely made by laser cutting of tubes. Laser cutting allows high cutting quality, high geometrical accuracy, flexibility, cost effectiveness in large batch production, low material wastage, and low levels of noise [5]. In laser cutting a high power laser is focused on the surface of a workpiece, thus absorbing energy which is converted into heat. The produced heat melts or vaporizes the material. An assist gas is used to expel the molten material and vapor from the cutting region. The most widely used lasers for stents fabrication are Nd: YAG, CO₂ and fiber lasers. Among these, fiber lasers stand as superior tools as they offer important advantages such as lower maintenance costs and superior beam quality (lower Beam Parameter Product, lower divergence) which can lead to higher quality cuts characterized by smaller kerf width and heat affected zone [6].

Various studies have investigated the laser cutting of coronary stents. Teixidor et al. [7] experimented with laser cutting techniques for 316L stainless steel coronary stent manufacturing. Muhammad et al. [8] studied the cutting of nitinol and platinum-iridium alloy tubes. O'Brien et al. [9] cut platinum-enhanced 316L stainless steel tubes. Baumeister et al. [10] compared the effect of fiber laser cutting of stainless steel sheets for stents manufacturing using oxygen and nitrogen as assist gases, but they only focused on studying the kerf width. There are few studies which focus on the laser cutting of cobalt-chromium alloys for coronary stents fabrication. Sudheer et al. [11] presented a study of laser cutting of L605 cobalt-chromium and 316LVM stainless steel coronary stents using a modulated pulsed Nd: YAG laser and oxygen as a process assist gas. They were able to achieve precision on the stent features, but did not analyze the effect of the processing gas on the surface and on the bulk of the stent. They have used oxygen as the processing gas, but up to now no study has analyzed how the use of alternative gases might impact the behavior of the laser cutting process. This paper investigates the effect of argon, nitrogen, and oxygen in

laser cutting process of cobalt-chromium alloy tubes. Their impact on the cutting quality and material properties of the stent are analyzed.

2. Experimental procedure

The aim of the work was to determine the effects of assist gases on cutting quality factors and material properties. Kerf width, surface roughness, Heat Affected Zone (HAZ), chemical composition and microstructural were analyzed.

2.1. Materials

The raw material used in this work was F562 35N LT cobalt-chromium alloy tubing (Minitubes, France). The tubes had a 3mm inner diameter and a 220 μm wall thickness.

2.2. Equipment

An Ytterbium IPG Photonics fiber laser was used for tube cutting. Its main characteristics are presented in Table 1. A 4-axis gantry system was used for positioning the tubes. Figure 1 shows the set-up used in the experiments.

Characteristics	Condition	Units
Operation mode	Pulsed/CW	
Wavelength (λ)	1070.0	nm
Maximum average power (Pulsed)	150.0	W
Maximum average power (CW)	250.0	W
Maximum peak power (P _{peak})	1500.0	W
Pulse duration	0.2-10.0	ms
Maximum pulse energy	15.0	J

Table 1. Characteristics of laser source.

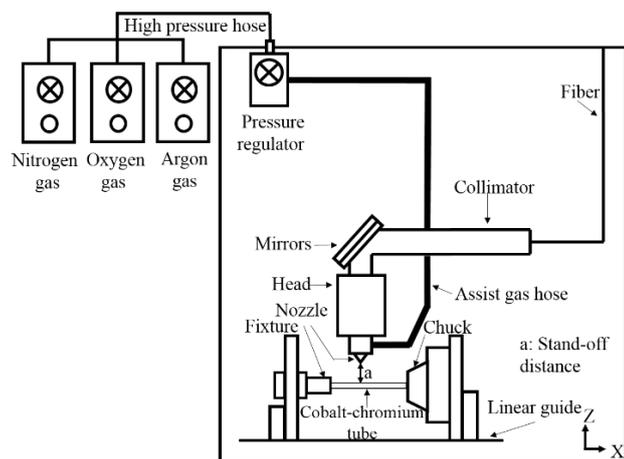


Figure 1. Schematic set-up of the laser cutting system.

2.3. Laser cutting

The F562 35N LT cobalt-chromium tube was clamped in the chuck. The gas pressure was kept constant at 150 psi throughout the experiments and for the three gases. The stand-off distance between the nozzle tip and workpiece was 0.254 mm. Two cutting patterns were made on the tube: 1) cutting straight lines on the longitudinal direction

of the tube and, 2) a tube cut off by cutting the circumference of the tube. Table 2 shows the parameters, which were analyzed in order to study the behavior of the process and to optimize the cutting quality. Three different processing gases were employed throughout the experiments: argon, nitrogen and oxygen. These gases were delivered to the cutting area via a coaxial nozzle, with the purposes of removing the molten material from the cut kerf and protecting the optical equipment. Tubes were initially cut using oxygen and a given set of parameters. Afterwards, the same parameters were repeated using nitrogen and argon. Finally, three stent-like meshes were cut with the three gases in order to assess the overall aspect of the as-cut stent-like geometry.

Parameters	Magnitude	Units
Power	100-170	W
Frequency	300-1500	Hz
Duty cycle	15-35	%
Cutting speed	200-1000	mm/min

Table 2. Laser cutting parameters.

2.4. Characterization

The kerf width characterization of laser cut samples was conducted using a Zeiss SteREO Discovery V8 stereoscopic microscope. A Zeiss Axio CSM 700 confocal microscope was used for measuring the average surface roughness (R_a), according to DIN EN ISO 4287 standard. Measurements of the HAZ were performed with a VEGA3 SB TESCAN Scanning Electron Microscope (SEM). Microstructure images were obtained using an OLYMPUS BX51 optical microscope. The chemical composition was analyzed by Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS) using the SEM microscope previously mentioned.

3. Results and discussion

This section presents the results of the laser cutting carried out using oxygen, nitrogen and argon. Kerf width, surface roughness, microstructure, chemical composition, and Heat Affected Zone (HAZ) were measured.

3.1. Kerf width

Figure 2 shows the behavior of kerf width in relation to the cutting speed for the three gases. With regards to the use of oxygen, it can be observed that the kerf width increased as the cutting speed increased. At high cutting speeds (600 to 1000 mm/min) the kerf width increases markedly, while at cutting speed below of 600 mm/min the kerf width shows a more constant behavior, with a slight reduction of the kerf width within the range of 200 to 600 mm/min. Above 600 mm/min, the kerf width presents a trend similar to the results obtained by Teixidor et al. [7]. The minimum kerf width was obtained at a power of 125W, frequency of 400 Hz, duty cycle of 20%, and a cutting speed of 600 mm/min. The minimum kerf width was 26.5±0.4 μm. This is very close to the minimum kerf, 22.5±0.5 μm, reported by Sudheer et al. [11] in the laser cutting of L605 cobalt-chromium alloy.

In the laser cutting with nitrogen and argon as assist gases, the kerf width had a similar behavior as with oxygen. Below of 600 mm/min the kerf widths show a stable behavior while above it, an increasing trend was observed. Among the three gases, the minimum kerf width was obtained with oxygen. Baumeister et al. [10] studies the fiber laser cutting of stainless sheets using nitrogen and oxygen as assist gases, and the minimal kerf widths were obtained with oxygen. As oxygen is applied in order to increase the overall available energy, this would lead to a wider kerf. Nevertheless, they assumed that the minimum kerf was obtained with oxygen due to the excellent beam quality and the balance point of heat transfer in combination with a high cutting speed and the smaller kerf.

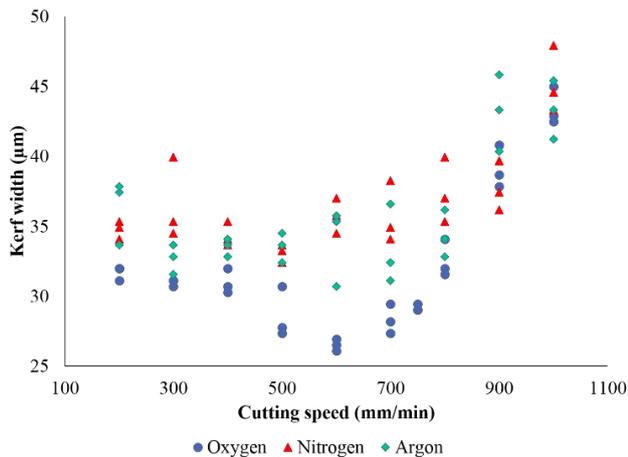


Figure 2. Effect of cutting speed on kerf width. Power: 125W, frequency: 400 Hz, duty cycle: 20%.

3.2. Surface roughness

The average surface roughness (R_a) was measured on cuts made according to the pattern number two, as described earlier. Roughness was measured in the midsection of the tube thickness, to the left and right of the cut edge surface. The measurements were taken in three different places on the cut edge surface.

Figure 4 shows the relation between average surface roughness (R_a) and cutting speed. It can be seen that for the case of oxygen, roughness tends to be constant at a cutting speed below of 600 mm/min, but it then rises markedly.

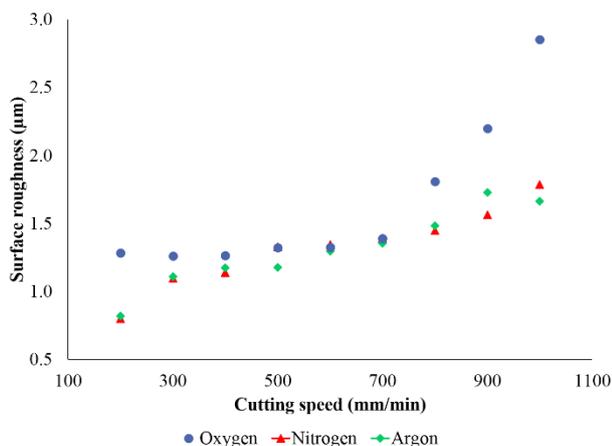


Figure 3. Effects of cutting speed on roughness surface. Power: 125W, frequency: 400 Hz, duty cycle: 20%.

For the case of nitrogen and argon, a stable growing trend with increasing cutting speed is observed. A close roughness value for the three gases is observed around a cutting speed of 600 mm/min. Higher cutting speed resulted in higher surface roughness. Average surface roughness values are between 0.80 μm and 2.85 μm . The minimum R_a was obtained at a power of 125W, frequency of 120 Hz, duty cycle of 20%, and a cutting speed of 200 mm/min using nitrogen gas. Overall, nitrogen and argon lead to lower surface roughness than oxygen. Figure 4 shows the as-cut surface of tubes using the three gases. There is a clear change in color in the case of oxygen, which is an indicative of a notable surface modification effect due to the gas.

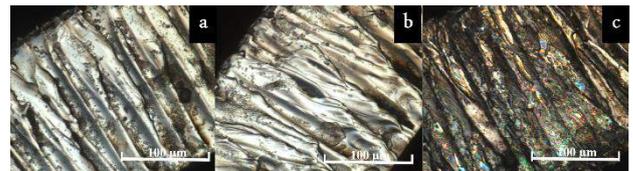


Figure 4. View of a cut surface with a) argon, b) nitrogen, and c) oxygen. Power: 125 W, frequency: 400 Hz, duty cycle: 20%, and cutting speed: 600 mm/min (X219).

3.3. Microstructure and chemical composition

Three samples were selected, one for each processing gas used but with the same laser cutting parameters. They were mounted in resin, sanded, and polished. Subsequently, they were submerged in distilled water and placed in an ultrasonic cleaning bath for 3 minutes. Electrolytic etching according to ASTM E407 standard was used in order to reveal the microstructure.

Figure 5 shows the microstructure of the raw F562 35N LT cobalt-chromium alloy tube (no laser processing) and of the three laser cut samples using the three gases. The microstructural analysis showed that the microstructure of F562 35N LT cobalt-chromium alloy is modified depending of the assist gas used in the fiber laser cutting process. This alloy has a microstructure in austenitic phase with precipitates. Figure 5 (a, b) shows that the microstructure generated by the laser cutting with nitrogen and argon gases is similar to the microstructure of the raw tube (d) with a grain size of 8.6 according to comparative method of ASTM E112. On the other hand, the tube cut with oxygen gas has a microstructure in austenitic phase with a low amount of precipitates. This suggests that the use of oxygen promotes the dissolution of carbides as well as an increase in the grain size of 8.6 to 7.6.

For the EDS analysis, samples were cleaned with a 1:1 acetone and distilled water solution. The results showed that the use of oxygen in laser cutting affected the chemical composition of the F562 35N LT cobalt-chromium alloy. The percentage in weight of chromium increased from 19.8% to 31.4% as compared to the raw material. The cobalt and nickel presence decreased from 33.0% to 18.1%, and from 36.8% to 28.4%, respectively. The samples cut with argon and nitrogen gases did not present a significant change in their chemical composition; accordingly the mechanical properties can be preserved.

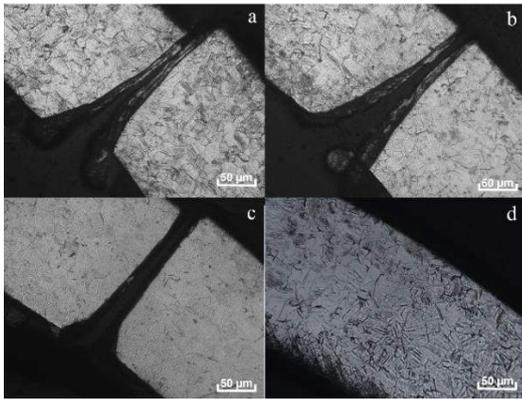


Figure 5. Microstructure of F562 35N LT cobalt-chromium alloy using a) argon, b) nitrogen, and c) oxygen in laser cutting, d) microstructure of raw material (X200).

3.4. Heat affected zone (HAZ)

The width of the heat affected zone was measured in three points on the edge of cutting: near of upper kerf, lower kerf and in between them. As shown in Table 3, the smallest HAZ was obtained using argon as the assist gas. Nitrogen caused the widest HAZ, while oxygen generated porosity on the cut surface.

Gas	In upper kerf (μm)	Midsection (μm)	In lower kerf (μm)
Argon	8.12	10.72	8.68
Nitrogen	23.52	14.96	9.01
Oxygen	14.56	11.50	8.65

Table 3. Width of the heat affected zone generated by the gases.

3.5. Stents

Coronary-stent geometries of F562 35N LT cobalt-chromium alloy were manufactured using argon, nitrogen, and oxygen as assist gases. The stents have a length of 8 mm, outer diameter of 3 mm, and struts of 200 μm in thickness. Figure 6 (c) shows that the stents cut with oxygen presented an opaque appearance due to the oxidation effect and surface modification (Figure 4 (c)). A clean surface was observed with argon and nitrogen.

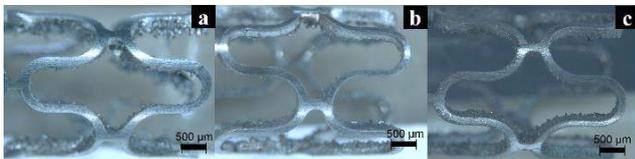


Figure 6. Stents of F562 35N LT cobalt-chromium alloy using a) argon, b) nitrogen, and c) oxygen as assist gases (X10).

4. Conclusions

This paper studied the fiber laser cutting of F562 35N LT cobalt-chromium alloy tubes for stent fabrication using argon, nitrogen, and oxygen as assist gases. Kerf width, average surface roughness (R_a), Heat Affected Zone (HAZ), microstructure and chemical composition were analyzed. Key findings can be summarized as follows:

- The kerf width was significantly affected by cutting speed. A good surface quality was obtained at lower cutting speed.
- The minimum kerf width was obtained using oxygen, while the minimum average surface roughness was generated using nitrogen, and the smallest HAZ was obtained using argon.
- Argon and nitrogen did not affect substantially the microstructure nor chemical composition of the cobalt-chromium alloy. Oxygen has detrimental effects on the stent material such as a notorious surface modification, oxidation as well as microstructural and chemical composition changes.
- Argon is ideal to assist the fiber laser cutting of F562 35N LT cobalt-chromium alloy for coronary stents because it allows a good balance between surface quality and material properties.

Acknowledgments

The Center of Innovation in Design and Technology at Tecnológico de Monterrey supported this work. Thanks to Regina Elizabeth Vargas for her contribution in the microstructure analysis.

References

- [1] Kathuria YP. An overview on laser microfabrication of biocompatible metallic stent for medical therapy. *Proceedings of SPIE*, vol. 5399, 2004, pp. 234-244, 2004 (ISSN: 1605-7422).
- [2] ASM International. Handbook of materials for medical devices. Davis & Associates, 2003, pp. 31-37 (ISBN: 0-87170-790-X).
- [3] Mani G, Feldman MD, Patel D, and Agrawal MD. Coronary stents: A material perspective. *Biomaterials*, vol. 28, issue 9, 2007, pp. 1689-1710 (ISSN: 0142-9612).
- [4] Sketch MH, Ball M, Rutherford B, Popma J, Russell C and Kereiakes DJ. Evaluation of the Medtronic Cobalt-Chromium Alloy Coronary Stent System. *The American Journal of Cardiology*, vol. 95, issue 1, 2005, pp. 8-12 (ISSN: 0002-9149).
- [5] Milos M. and Miroslav R. Applications of the Taguchi Method for optimization of laser cutting: A review. *Romanian Association of Nonconventional Technology*, pp. 51-57, 2013 (ISSN: 1454-3087).
- [6] Kratky A, Schuöcker D, and Liedl G. Processing with kW fibre lasers-Advantages and limits. *XVII International Symposium on Gas Flow, Chemical Lasers, and High-Power Lasers*. Proceedings of SPIE, 2009 (ISBN: 9780819473653).
- [7] Teixidor D, Ciurana J, and Rodríguez CA. Dross formation and process parameters analysis of fibre laser cutting of stainless steel thin sheets. *Advanced Manufacturing Technology*, vol. 71, issue 9, 2013, pp. 1611-1621 (E-ISSN: 0268-3768).
- [8] Muhammad N, Whitehead D, Boor A, Oppenlander W, Liu Z, and Li L. Picosecond laser micromachining of nitinol and platinum-iridium alloy for coronary stent application. *Materials Science and Processing*, vol. 106, issue 3, pp. 607-617, 2011 (ISSN:0947-8396).
- [9] O'Brien BJ, Stinson JS, Larsen SR, Eppihimer MJ, and Carroll WM. A platinum-chromium steel for cardiovascular stents. *Biomaterials*, vol. 31, 2010, pp. 3755-3761 (ISSN: 0142-9612).
- [10] Baumeister M, Dickmann K, and Hault T. Fiber laser micro-cutting of stainless steel sheets. *Material Science and Processing*, vol. 85, issue 2, 2006, pp. 121-124 (ISSN: 0947-8396).
- [11] Sudheer S, Kothwala D, Prathibha S, Chhaya E, Raval A, and Kotadia H. Laser microfabrication of L605 cobalt-chromium cardiovascular stent implants with modulated pulsed Nd:YAG laser. *Journal of Micro/Nanolithography, MEMS, and MOEMS*, vol. 7, issue 3, 2008, pp. 1-9 (E-ISSN: 1932-5134).

Análisis de la precisión del medidor de diuresis automático FOM-200™

S. Antelo¹, A. Otero¹, G. Caffarena¹, R. García -Carmona¹, A. Iriarte¹, R. Raya¹

¹ Universidad San Pablo CEU, Urbanización de Montepíncipe, Boadilla del monte, 28668 Madrid, España,

{santelocabello02@gmail.com, abraham.otero@gmail.com}

Resumen

La gran mayoría de los parámetros fisiológicos de los pacientes admitidos en una unidad de cuidados críticos son medidos y supervisados automáticamente por dispositivos de monitorización. Esto libera al personal asistencial de una carga de trabajo considerable, además de evitar errores en una tarea monótona y repetitiva. Probablemente el parámetro fisiológico más relevante que todavía se mide de modo manual en las unidades de cuidados críticos es la producción de orina del paciente. La orina del paciente se acumula en un contenedor graduado transparente. Cada hora una enfermera debe caminar hasta la cama del paciente, tomar una medida del contenedor graduado que anota en la hoja de enfermería y vaciar dicho contenedor. La medición automática de este parámetro no sólo descargaría de trabajo al personal asistencial y eliminaría posibles errores en esta tarea, sino que además abre las puertas a una supervisión más continua de la producción de orina que puede permitir identificar situaciones de riesgo vital de un modo más temprano y mejorar el pronóstico del paciente. Recientemente tanto desde el mundo empresarial como académico se han propuesto varios medidores automáticos de diuresis. En este artículo se evalúa la precisión de uno de estos dispositivos: el medidor de diuresis automático FOM-200™.

1. Motivación

Las unidades de cuidados críticos actualmente disponen de dispositivos comerciales de monitorización capaces de medir de modo automático la gran mayoría de los parámetros fisiológicos de los pacientes. A menudo también permiten supervisar si los parámetros permanecen dentro de un rango de valores considerados como adecuados para cada paciente y disparan una alarma en caso contrario. Estos dispositivos descargan al personal asistencial de un volumen de trabajo considerable, dado que eliminan la necesidad de estar continuamente midiendo y supervisando los parámetros fisiológicos del paciente [1]. Por otro lado, dado el carácter monótono y repetitivo de esta tarea, es propensa a fallos [1]. Su automatización mediante dispositivos electrónicos minimiza estos fallos.

La producción de orina (PO) es probablemente el parámetro fisiológico más relevante que todavía es medido y supervisado manualmente por el personal asistencial. La PO es el mejor indicador del estado de los riñones del paciente. Si se está produciendo una cantidad adecuada de orina, los riñones tendrán un nivel de perfusión y oxigenación correcto. En el caso contrario, el paciente se encuentra en un estado patológico [2].

Cuando la PO es demasiado baja (< 0.5 ml·kg/h) el paciente padece oliguria, o anuria en caso de que sea nula.

La disminución en este valor puede deberse a deshidratación, fallo renal o retención de orina. Cuando la PO es demasiado alta (> 1 ml·kg/h) el paciente padece poliuria. Este aumento es debido a que el equilibrio hidroeléctrico del organismo se ve alterado y se tiende a producir una cantidad de orina mayor de lo normal. La PO es necesaria para calcular el balance hídrico del paciente y es empleada en múltiples protocolos terapéuticos para comprobar cómo el paciente reacciona al tratamiento [2]. Dos ejemplos son la resucitación de quemados y la resucitación del shock séptico [3].

Para medir de la PO se inserta un catéter a través de la uretra del paciente hasta llegar a la vejiga. Dicho catéter está conectado a un contenedor graduado. Cada hora una enfermera debe visitar la cama del paciente, tomar una medida de dicho contenedor, anotarla en la hoja de enfermería y vaciar el contenedor. Dado que este proceso requiere la manipulación de fluidos corporales, previamente la enfermera debe colocarse guantes. Esta tarea puede requerir hasta 2 minutos de tiempo del personal de enfermería. Suponiendo una unidad con 10 pacientes, esto supone 20 minutos a la hora, 8 horas al día [4, 5].

En los últimos años han aparecido medidores de diuresis automáticos [4, 5]. Además de permitir ahorrar tiempo del personal asistencial y eliminar posibles fallos derivados de la medición manual, la medición automática de la PO permite tomar medidas de un modo más continuo e identificar valores patológicos de un modo más temprano. Esto tiene el potencial de permitir adelantar acciones terapéuticas y mejorar el pronóstico del paciente. En la literatura clínica podemos encontrar varios artículos que muestran el interés de realizar una medición de la PO minuto a minuto, en vez de cada hora [6, 7, 8, 9]. Obviamente, esta medición minuto a minuto no puede ser llevada a cabo sin contar con un dispositivo de medición automática.

En este artículo realizamos una validación en laboratorio de la precisión de las medidas de un dispositivo capaz de medir de manera automática la PO: el FOM-200™ (Biometrix medical, Tel Aviv, Israel). La sección 2 presenta el montaje experimental y el análisis de los datos realizado. La sección 3 recoge los resultados obtenidos. La sección 4 contiene una discusión de los resultados. Finalmente se termina con unas conclusiones y líneas de trabajo futuro.

2. Materiales y métodos

FOM-200TM cuenta con un array de sensores ópticos situados en una carcasa en la cual encaja un contenedor graduado de plástico similar al de los medidores de diuresis manuales (ver Figura 1). Estos sensores proporcionan medidas continuas de la altura de la columna de orina acumulada en el contenedor graduado, mediciones que son mostradas en una pantalla (ver Figura 1). Dicha pantalla también permite revisar el histórico de medidas de PO horarias del paciente, almacenándose hasta 24 horas de mediciones.

La carcasa que contiene los sensores ópticos dispone de un sistema de apertura capaz de vaciar automáticamente el contenedor graduado. Esto sucede una vez cada hora, de tal modo que en cada momento el contenedor contiene la orina acumulada durante la última hora. En caso de que el paciente produzca más orina que el volumen del contenedor graduado, éste también se vaciará automáticamente y se continuará registrando la medida horaria. Por tanto, el uso de este medidor elimina completamente la necesidad de que el personal asistencial visite la cama del paciente cada hora, tanto para medir la PO como para vaciar el contenedor donde se recoge la orina. Sólo se requiere intervención por parte del personal asistencial cuando la bolsa plástica donde se recoge la orina evacuada del contenedor graduado se llena (ver Figura 1). Típicamente esta acción se realiza una vez cada 24/48 horas.

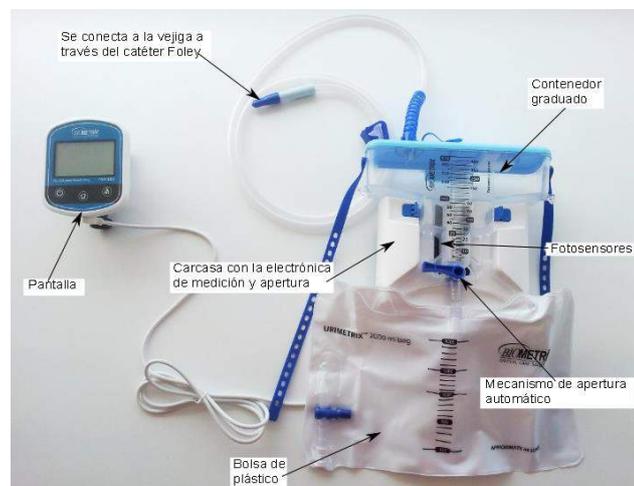


Figura 1. FOM-200TM

2.1. Montaje experimental

En los test se empleó una solución salina de composición conocida y densidad aproximadamente igual a la de la orina. Para simular la producción de orina del paciente empleamos un contenedor plástico de tres litros al cual se le realizó un pequeño orificio en su parte inferior. A dicho orificio se le conectó un gotero. Regulando el gotero es posible simular distintas tasas de producción de orina, lo que nos permitirá estudiar escenarios de oliguria, poliuria y producción normal de orina (ver Figura 2).

Para evaluar la precisión de las medidas del FOM-200TM se colocó el dispositivo sobre un soporte instalado en el plato de una báscula industrial de alta precisión (PGW

4502e, Adam Equipment Inc., Suiza). La báscula tiene una precisión garantizada por el fabricante de 0.01 gramos (≈ 0.01 ml). Las medidas proporcionadas por la báscula se considerarán la referencia contra la cual se contrastarán las medidas proporcionadas por el FOM-200TM. Dado que se conoce la densidad del líquido empleado en el test es posible calcular su volumen a partir de las mediciones de la báscula.

La báscula cuenta con un puerto serie que permite tomar medidas de modo automático. Dicho puerto se conectó a través de un cable serie con un PC. Se desarrolló una aplicación de escritorio escrita en Java que se ejecutaba en el PC y tomaba una medida de la báscula cada minuto. Las medidas, junto con el instante temporal en el cual se realizaron, se guardan en un fichero ASCII en el PC.

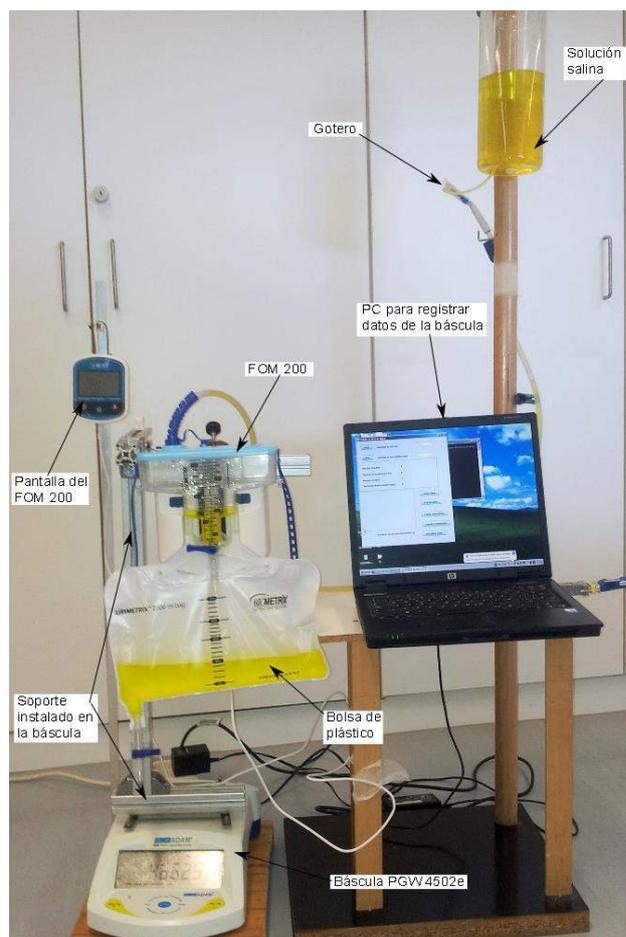


Figura 2. Montaje experimental

Para la adquisición de las medidas del FOM-200TM se empleó una videocámara que grababa continuamente la pantalla del dispositivo. El video se descargaba a un PC y se reproducía, transcribiendo manualmente las mediciones mostradas en la pantalla del FOM-200TM. La sincronización con las medidas de la báscula se realizaba mediante las marcas temporales del archivo ASCII generado en el PC.

Empleando el gotero se simulaban distintas tasas de producción de orina. Asumiendo un paciente de 80 kg de masa corporal, se supondrá que $PO < 40$ ml se correspondía con oliguria, $40\text{ml} \leq PO \leq 80\text{ml}$ se correspondía con producción normal y $PO > 80$ ml se

correspondía con poliuria. En total se simularon 120 h de oliguria, 36 h de producción normal y 38 h de poliuria. Se simularon más horas de oliguria ya que en este escenario es cuando es más relevante tener una precisión elevada en las medidas de la PO.

2.2. Análisis de datos

Actualmente el protocolo estándar de medición de PO en las unidades de cuidados críticos consiste en tomar una medida manual horaria de la PO de cada paciente. Para analizar la precisión de las medidas horarias calculamos el valor absoluto de la diferencia entre el valor proporcionado por la báscula (la referencia) y el valor proporcionado por el FOM-200TM para la PO producida en cada hora.

Dada la creciente evidencia en la literatura científica sobre el interés en proporcionar medidas más continuas (típicamente minuto a minuto) de la PO [6, 7, 8, 9], también se analizó la precisión de las medidas minuto a minuto estudiando la diferencia en valor absoluto entre el valor de la báscula y del FOM-200TM. Tanto en el caso del error minuto a minuto como en el error horario el error promedio se estimó como:

$$Error = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |x_i - y_i| \quad (1)$$

siendo N el número de horas/minutos. Para comprobar si dichas medidas tienen algún tipo de sesgo que pudiese ser ocultado por la operación de valor absoluto, en el caso de las mediciones minuto a minuto también calculamos la diferencia entre la medida de la báscula y del FOM-200TM sin valor absoluto:

$$Diferencia = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i - y_i \quad (2)$$

Debido al diseño del FOM-200TM el array de sensores ópticos que proporcionan las medidas de la PO comienza ligeramente por encima de la válvula que permite vaciar automáticamente el contenedor graduado. Por tanto existe un pequeño volumen ciego entre la válvula y el principio del array de sensores que no es posible medir. Hasta que el volumen se llena el FOM-200TM proporciona una medición de 0 ml. Para cuantificar dicho volumen ciego, para cada vaciado del contenedor graduado registramos el volumen de PO (proporcionado por la báscula) que se había producido justo antes de que el FOM-200TM proporcionase la primera medida diferente de 0 ml.

3. Resultados

La Tabla 1 muestra el valor promedio ($\mu \pm \sigma$) del error en valor absoluto (Ecuación 1) en las medidas horarias (primera columna) y en las medidas minuto a minuto (segunda columna) para las tres condiciones experimentales estudiadas: oliguria (120 h), producción normal (36 h) y poliuria (38 h). La tercera columna muestra el valor promedio de la diferencia minuto a minuto sin calcular el valor absoluto entre las medidas de la báscula y del FOM-200TM (Ecuación 2). Las unidades de la tabla son mililitros.

	Error abs. horario	Error abs. minuto a minuto	Diferencia minuto a minuto
Oliguria	2.88±4.70	0.528±0.858	0.05±0.06
PO Normal	3.87±2.50	0.787±0.979	0.02±0.02
Poliuria	2.08±1.09	0.794±0.789	0.04±0.04

Tabla 1. Error en valor absoluto de las medidas horarias y minuto a minuto, y diferencia entre las medidas minuto a minuto de la báscula y del FOM-200TM

Para comprobar si la precisión del dispositivo se ve afectada por la tasa de producción de orina se compararon los errores horarios, minuto y minuto, y las diferencias minuto a minuto en los tres escenarios estudiados (oliguria, producción normal y poliuria) mediante el t-test Student. Los resultados indican que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los tres escenarios. También se empleó el t-test Student para comprobar si las diferencias minuto a minuto eran diferentes de cero, y por tanto las medidas del FOM-200TM están afectadas por sesgo. Los valores de las diferencias no son estadísticamente diferentes del valor nulo, por lo que concluimos que las medidas no tienen sesgo.

La Tabla 2 muestra el valor promedio del volumen de PO acumulado en el contenedor graduado después de cada apertura de la válvula de vaciado y justo antes de que el FOM-200TM proporcionase la primera medida diferente de 0 ml; esto es, la Tabla 2 muestra el volumen ciego promedio.

	Oliguria	PO Normal	Poliuria
Primera medida	5.45±1.57	5.48±0.570	6.77±1.32

Tabla 2. Valor promedio de PO después de cada vaciado justo antes de obtener la primera medida diferente de 0 ml.

4. Discusión

El error en las medidas horarias de FOM-200TM se encuentra en torno a 3 ml (ver Tabla 1) en los tres escenarios estudiados (oliguria, producción normal y poliuria). Se trata de un error muy bajo que probablemente se encuentra en el entorno de la precisión que, en condiciones ideales, puede obtenerse visualmente con un medidor de diuresis manual. No obstante, en la práctica estas medidas casi nunca se toman en condiciones ideales. No es raro el escenario en el cual un ingreso en una unidad de cuidados críticos requiere la atención del personal asistencial durante un largo período de tiempo. Es posible que durante este tiempo llegue el momento de tomar la medición horaria de diuresis de los pacientes. Pero esto no será posible, sino que tendrá que retrasarse hasta que el ingreso haya sido resuelto. El contenedor graduado no siempre está colocado de un modo perfectamente vertical, y no siempre la medida se toma colocando los ojos a la misma altura que la columna de líquido del contenedor. También se producen errores

derivados de fallos por parte del personal asistencial en el cierre de la válvula que permite vaciar el contenedor graduado, lo que hace que durante una hora completa no se registre PO [5]. En la práctica los errores en la medición manual de la PO pueden llegar a ser tan elevados como un 26% [5]. Por tanto, es de esperar que la introducción de este dispositivo en una unidad de cuidados críticos no sólo libere al personal asistencial de la monótona y repetitiva tarea de tomar manualmente las medidas de la PO de cada paciente, sino que incremente la precisión en dichas medidas.

El error en las mediciones minuto a minuto se encuentra ligeramente por encima de 0.5 ml en los tres escenarios estudiados. Nuevamente, se trata de una medida de gran precisión, más de lo que es posible obtener de modo manual. Al calcular el valor promedio de la diferencia minuto a minuto entre las medidas del FOM-200TM y de la báscula hemos obtenido valores promedios que según un t-test son compatibles con el valor nulo (ver tercera columna de la Tabla 1). Esto apunta a la inexistencia de sesgo en las medidas.

En vista de estos resultados podemos concluir que FOM-200TM es un dispositivo adecuado para realizar una monitorización minuto a minuto de la PO de pacientes críticos, lo que tiene el potencial de identificar situaciones patológicas en etapas más tempranas y mejorar el pronóstico de los pacientes [6, 7, 8, 9].

La principal limitación del FOM-200TM relativa a su precisión se debe a la existencia de un volumen ciego localizado entre el fin del array de foto detectores y la válvula que permite vaciar el contenedor graduado. Hasta que el paciente produce aproximadamente 6 ml de orina (ver Tabla 2) el FOM-200TM no proporciona una primera medición de la PO. Esto no supone una limitación para su uso en la rutina clínica como un instrumento que ahorra tiempo al personal asistencial e incrementa la precisión de las medidas horarias; una PO por debajo de 6 ml en una hora significa que el paciente padece una severa oliguria, siendo irrelevante en la práctica si la producción exacta fue de 2 o 4 ml. Pero sí podría impactar el uso del dispositivo en ciertos escenarios como, por ejemplo, un test clínico cuyo objetivo sea estudiar la utilidad de la diuresis medida minuto a minuto en pacientes con oliguria.

5. Conclusiones y trabajo futuro

FOM-200TM permite automatizar la medición de la producción de diuresis horaria de pacientes críticos, liberando al personal asistencial de una cantidad considerable de trabajo repetitivo (aproximadamente, 2 minutos por cada hora y paciente). Las medidas horarias proporcionadas por FOM-200TM son más precisas que las que se toman en la rutina clínica sobre este parámetro. Además, el hecho de disponer de una medición electrónica de la diuresis permite su incorporación automática en la historia clínica electrónica del paciente, evitando la introducción manual de este dato.

La precisión de FOM-200TM para las medidas minuto a minuto es muy elevada, si exceptuamos la limitación

derivada del volumen ciego de 6 ml de orina. Cuando informamos a Biometrix Medical sobre este resultado nos comunicaron que han desarrollado un nuevo modelo del dispositivo que minimiza este problema empleando un nuevo diseño para la válvula de apertura. Hasta la fecha los autores no hemos podido evaluar este dispositivo.

Respecto a líneas de trabajo futuro, tenemos intención de evaluar en laboratorio el nuevo dispositivo de Biometrix haciendo un énfasis especial en el estudio del volumen ciego. En una segunda etapa esperamos llevar a cabo un estudio clínico para valorar la usabilidad y el impacto que tiene introducir en una UCI este dispositivo.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Biometrix Medical por haber proporcionado gratuitamente la unidad de FOM-200TM empleada en este estudio. Ninguno de los autores tiene ninguna relación, posee acciones o tiene intereses económicos relativos a Biometrix Medical. Este trabajo ha sido financiado por la Universidad CEU San Pablo a través del proyecto PPC12/2014 y por el MINECO a través del proyecto CARE-U.

Referencias

- [1] Otero, A, Félix P, Barro S, Palacios F. Addressing the flaws of current critical alarms: a fuzzy constraint satisfaction approach. *Artificial intelligence in medicine*, vol. 47, 2009, 219-238.
- [2] Brunzel, N.A. *Fundamentals of Urine and Body Fluid Analysis*; W.B. Saunders Company, 1994. 419
- [3] Mitra, B; Fitzgerald, M; Cameron, P.; Cleland, H. Fluid resuscitation in major burns. *ANZ Journal of Surgery*, vol. 76, 2006, pp 35-38.
- [4] Otero A, Akinfiyev T, Fernández R, et al. A Device for Automatically Measuring and Supervising the Critical Care Patients Urine Output. *Sensors*, vol. 10, 2010, pp 934-51.
- [5] Hersch M, Einav S, Izbicki G. Accuracy and ease of use of a novel electronic urine output monitoring device compared with standard manual urinometer in the intensive care unit. *Journal Critical Care*, vol 24, 2009, pp 629-33.
- [6] Otero A, Cardinal-Fernández P, Rojas Y, et al. On the minute by minute variations of urine output: a study in a porcine model. *Journal of nephrology*, vol.27, 2014, pp 1-6.
- [7] Klein Y, Grinstein M, Cohn SM, Silverman J, Klein M, Kashan H, Shamir MY. Minute-to-minute urine flow rate variability: a new renal physiology variable. *Anesthesia & Analgesia* vol 115, 2012, pp 843-47.
- [8] Shamir MY, Kaplan L, Marans RS, et al: Urine flow is a novel hemodynamic monitoring tool for the detection of hypovolemia. *Anesthesia & Analgesia*, vol 112, 2011, pp 593-96.
- [9] Panagiotou A, Garzotto F, Gramaticopolo S, et al: Continuous real-time urine output monitoring for early detection of acute kidney injury. *Contributions to nephrology*, vol. 171, 2011, pp 194-200.
- [10] Otero A, Palacios F, Akinfiyev T, et al. A low cost device for monitoring the urine output of critical care patients. *Sensors*, vol. 10, 2010, 10714-10732.

Miscelánea

Viernes 6 de Noviembre

Simulador para el entrenamiento y la evaluación del conocimiento sobre la sintomatología, diagnóstico y tratamiento del asma.

I.C. Muñoz Ortega¹, A.M. Hernández Valdivieso¹, A.F. Zuluaga²

¹ Grupo de Investigación GIBIC, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia, Calle 67 N.º 53-108, Medellín, Colombia, isabelc.munoz@udea.edu.co, alher.hernandez@udea.edu.co

² CIEMTO, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Carrera 51D #62-29, Medellín, Colombia, andres.zuluaga@udea.edu.co

Resumen

La organización mundial de la salud (OMS) calcula que en la actualidad 235 millones de personas en el mundo padecen de asma. Dicha enfermedad no posee cura, sin embargo puede ser controlada a partir de un diagnóstico acertado y un tratamiento apropiado. Cada paciente se debe manejar como un caso individual, por lo que si el tratamiento no es indicado y administrado adecuadamente se pueden desencadenar afecciones que pueden limitar la vida e incluso llevar a la muerte [1]. El desarrollo de herramientas que faciliten la difusión del conocimiento sobre la sintomatología, el diagnóstico y la dinámica del efecto farmacológico contribuirá de manera importante a mejorar la calidad de la atención del paciente con asma.. En este artículo se presenta una aplicación informática que permite el entrenamiento y la evaluación en el manejo de diferentes casos de asma, en particular orientada a la interpretación de herramientas diagnósticas y el efecto de los fármacos más utilizados.

1. Introducción

La organización mundial de la salud (OMS) reportó que en el 2013 aproximadamente 235 millones de personas se encontraban afectadas con asma, teniendo como una de sus causas la contaminación atmosférica, situación que ha ido en aumento tanto en países desarrollados como en países en vías de desarrollo. Además, 14% de las enfermedades causadas por contaminación ambiental están relacionadas con neumopatías o infecciones graves de las vías aéreas [1]. La prevalencia de la patología en Europa Occidental es del 18%, en Europa Central del 32% y en Estados Unidos del 19% [2]. En Colombia el 10% de la población sufre de asma, en mayor proporción la población infantil y aproximadamente el 48% de los pacientes ha sido incapacitada laboralmente por lo menos un día a causa del asma. Por otro lado en España se reporta que las enfermedades respiratorias son la cuarta causa de absentismo laboral [3][4]. Teniendo en cuenta estas cifras y el impacto económico en los diferentes países, se considera el asma como un problema grave de salud pública en el mundo.

“Global Initiative for Asthma” (GINA 2015) indica que: “El asma es una enfermedad heterogénea, generalmente caracterizada por la inflamación crónica de las vías respiratorias. Se define por la historia de síntomas respiratorios como sibilancias, dificultad para respirar,

opresión en el pecho y tos, que varían en el tiempo y en intensidad, junto con la limitación del flujo aéreo espiratorio variable” [5].

Dentro de las causas de la obstrucción de la vía aérea se encuentra la contracción del músculo liso bronquial [6]–[8], la cual es tratada mediante fármacos broncodilatadores que se unen a los receptores β_2 del músculo liso bronquial, conocidos como β_2 -agonistas. Los β_2 -agonistas se clasifican como SABA o de acción corta, como el salbutamol (albuterol) y los LABA o de acción prolongada, como el salmeterol [9]. En algunas ocasiones la acción de estos fármacos es potenciada usando fármacos anticolinérgicos como el Bromuro de Ipratropio [10].

Se recomienda el uso de los fármacos por vía inhalatoria para reducir efectos secundarios, ya que a pesar del gran beneficio de los β_2 -agonistas, estos no difieren entre los receptores β_2 del músculo liso bronquial y los receptores β_2 del músculo cardíaco, provocando efectos adversos como taquicardias o arritmias [10] [11].

El éxito en el tratamiento del asma, se basa en su correcto diagnóstico. Debido a que los síntomas no son exclusivos de esta enfermedad, sumada al desconocimiento por parte del personal asistencial, algunas personas permanecen sin diagnóstico y por tanto sin un tratamiento. La prueba más común para diagnosticar y monitorear el asma es la espirometría, la cual arroja como resultado una serie de variables y gráficos que permiten cuantificar la función pulmonar tras la realización de una espiración forzada como: FVC (capacidad vital forzada), FEV₁ (volumen espiratorio forzado en el primer segundo), FEF_{25-75%} (flujo mesoespiratorio), FEV₁% (estandarización del fev1 sobre la fvc) y PEF (pico de flujo espiratorio) [12] [13].

En este artículo se presenta el desarrollo de un simulador orientado a la difusión de conocimiento acerca de la sintomatología, diagnóstico y manejo del asma, además del efecto de algunos fármacos sobre el sistema cardiorrespiratorio.

2. Metodología

La estrategia para desarrollar el simulador consistió en realizar una revisión bibliográfica, posteriormente implementar los diagramas de flujo de los procedimientos clínicos y la validación con ayuda del personal médico del

Centro de Información y Estudio de Medicamentos y Tóxicos (CIEMTO) de la Universidad de Antioquia. La estructura de la aplicación tiene dos módulos (ver Figura 1). Un módulo de entrenamiento donde se le permite al usuario observar la variación de parámetros cardiorespiratorios según la gravedad del asma, además de la selección del tratamiento. Y un módulo de evaluación, el cual permite medir el conocimiento por medio de la valoración de diferentes casos clínicos del asma. A continuación se describe con detalle cada uno de ellos.

2.1. Módulo de Entrenamiento

Patología

A partir de la clasificación propuesta por la “Global Initiative for Asthma (GINA)” y “the American Medical Association (AMA)” presentada en la Tabla 1 [12]–[14], se seleccionan 3 niveles de gravedad del asma (Leve, Moderada y Severa) para ser incluidas en el módulo de entrenamiento de la aplicación. El nivel de asma intermitente generalmente no presenta inconvenientes en su estudio y tratamiento, por lo tanto no se considera.

Clasificación	Función Pulmonar
Asma Intermitente	FEV ₁ o PEF > 80% predicha
Asma Leve Persistente	FEV ₁ o PEF > 80% predicha
Asma Moderada Persistente	FEV ₁ o PEF entre 60%-80%
Asma Severa Persistente	FEV ₁ o PEF < 60% predicha

Tabla 1. Clasificación del Asma según Global Initiative for Asthma (GINA) y the American Medical Association (AMA) [12]–[14]

Para el cálculo de los valores espirométricos de referencia se utilizan modelos dependientes de la raza y datos antropométricos. Para la población latinoamericana y específicamente la colombiana, el modelo que más se adapta es el modelo de Hankinson para mexicano-americanos [15]–[17]. En la Tabla 2 se presenta la ecuación y las constantes para hombres adultos mayores de 20 años.

Variable	a	b	c	d
FEV ₁	0.6306	0.02928	0	0.00015104
FVC	0.2376	0.00891	0.000182	0.00017823
PEF	0.0870	0.06580	0.001195	0.00030243
FEF _{25-75%}	1.7503	0.05018	0	0.00014473

$$\text{Variable} = a + b * (\text{Edad}) + c * (\text{Edad})^2 + d * (\text{Talla})^2$$

Tabla 2. Ecuación y valores de las constantes para el cálculo de los valores espirométricos de referencia para hombres adultos, con la edad en años y la talla en centímetros (cm).

Diagnóstico

Parte fundamental del entrenamiento en el conocimiento del asma, es aprender a interpretar correctamente las herramientas diagnósticas. Se selecciona la espirometría como prueba diagnóstica de interés para incluir en la aplicación, debido a que se cataloga como una de las

pruebas principales para la evaluación de la función pulmonar y por lo tanto fundamental en el diagnóstico y monitoreo de diferentes enfermedades respiratorias. A parte de los valores espirométricos el informe de espirometría contiene una serie de gráficos de flujo inspiratorio y espiratorio que aportan información valiosa sobre la mecánica ventilatoria del paciente. A partir de los valores de función pulmonar característicos en cada nivel de gravedad del asma, se crea un modelo que permita obtener los gráficos de Tiempo-Volumen y Volumen-Flujo para cada caso. Para la curva Tiempo-Volumen las ecuaciones encontradas fueron:

$$\text{Volumen}(t) = FVC \times (1 - e^{-(t/\tau)}) \tag{1}$$

$$\tau = \frac{-1}{\log(1 - \frac{FEV_1}{FVC})}$$

Tratamiento

A partir de estudios realizados para la evaluación de los efectos de fármacos sobre el sistema cardiorrespiratorio en pacientes asmáticos, como el presentado por Bennet et al (1994) y Rodrigo et al (2000) [11], [18], y por ser actualmente unos de los tratamientos más utilizados [5], [19], se seleccionaron los fármacos β₂-agonistas, salbutamol y salmeterol, para ser estudiados en el simulador. También se incluyó el fármaco anticolinérgico bromuro de ipratropio para estudiar su efecto en mezcla con salbutamol.

2.2. Módulo de Evaluación

Para el módulo de evaluación del simulador se seleccionan casos clínicos reales de pacientes asmáticos para incluirlos precargados en la aplicación, con la posibilidad además de crear y cargar casos clínicos nuevos por parte del usuario. Alrededor del caso clínico el usuario se enfrenta a una serie de preguntas que permiten medir el conocimiento de la patología desde la sintomatología, pasando por el diagnóstico, hasta la selección del tratamiento adecuado.

3. Resultados

En la Figura 2 se presenta la interfaz gráfica del módulo de entrenamiento y módulo de evaluación del simulador. Con el fin de presentar las características del simulador, ha sido seleccionada una simulación para cada módulo, descritas a continuación.

3.1. Módulo de Entrenamiento

Este módulo contiene un panel de selección de escenario, sujeto sano y paciente asmático, uno con parámetros de referencia y otro con la información antropométrica del caso simulado. Para un paciente asmático la aplicación permite seleccionar tres niveles de gravedad (leve, moderada y severa) y simultáneamente presenta el resultado de la espirometría (ver Figura 2), además permite la selección de fármacos, Salbutamol, Salmeterol y Salbutamol + Bromuro de Ipratropio, con su respectivo selector de dosis, permitiendo ver el efecto sobre parámetros cardiovasculares y respiratorios a medida que aumenta la dosis total en 24 horas.

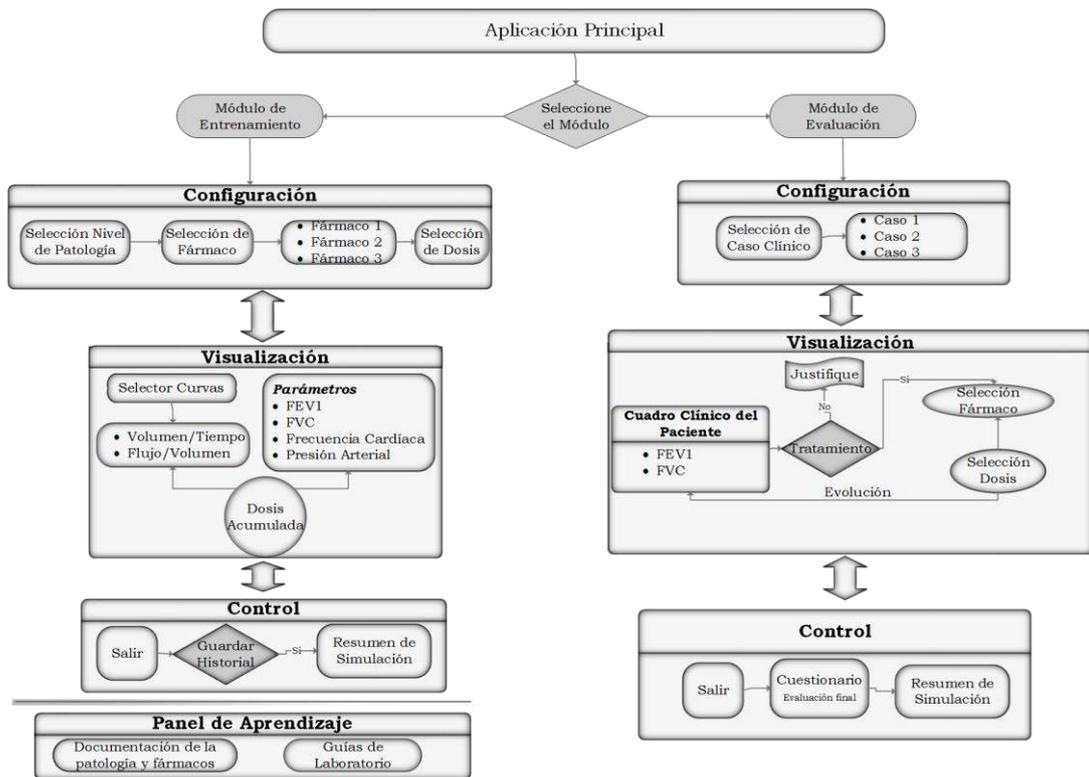


Figura 1. Diagrama de bloques del simulador para el entrenamiento y la evaluación en el conocimiento de la sintomatología, diagnóstico y tratamiento del asma.



Figura 2. Interfaz gráfica de cada uno de los módulos del simulador para el entrenamiento y la evaluación del conocimiento en la sintomatología, diagnóstico y tratamiento del asma. En la panel izquierdo el módulo de entrenamiento y en el panel derecho el módulo de evaluación

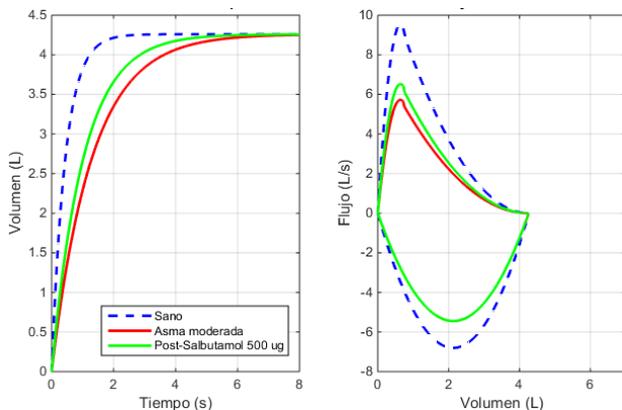


Figura 3. Gráficos espirométricos para un nivel de asma moderado comparado con un sujeto sano y con el resultado de administrar 500 ug de salbutamol inhalado, en el lado izquierdo se presenta la curva de volumen con respecto al tiempo y al lado derecho la curva de flujo con respecto al volumen.

3.2. Módulo de Evaluación

En este módulo el usuario podrá seleccionar algunos casos clínicos preconfigurados en el simulador, podrá crear nuevos casos o cargar algunos creados previamente. En el panel de caso clínico se presenta información antropométrica del paciente, la sintomatología, los antecedentes y la valoración clínica. Paralelamente al caso clínico aparecen preguntas relacionadas con el diagnóstico, la clasificación de la patología y el tratamiento óptimo del paciente. Al finalizar la simulación se entrega un reporte al usuario del resultado de su prueba. En la Tabla 3 se presentan las características de un paciente asmático generadas por el simulador al seleccionar el caso clínico 1, sobre el cual se generan 7 preguntas para valorar la habilidad del usuario en diagnosticar la patología, su clasificación, la interpretación de herramientas diagnósticas y la selección del tratamiento adecuado. En la Figura 2 se presenta el resultado de la espirometría y el test broncodilatador para el caso clínico mencionado.

Caso Clínico	
Sexo	Femenino
Edad	74 años
Peso	55 Kg
Talla	160 cm
Síntomas	Desde hace 4 meses presenta clínica de disnea y grandes esfuerzos, tos y sibilancias nocturnas autoescuchadas
Valoración	Normal, se destaca sibilancia aislada en la auscultación.
Antecedentes	La paciente nunca ha fumado y no presenta historia de alergias ni antecedentes familiares de interés

Tabla 3. Caso clínico precargado en el módulo de evaluación del simulador

4. Conclusiones

El simulador para el entrenamiento y la evaluación del conocimiento en la sintomatología, diagnóstico y tratamiento del asma, es una aplicación diseñada y desarrollada para facilitar el aprendizaje, dirigida tanto a usuarios expertos como neófitos. La aplicación contiene modelos matemáticos de las curvas espirométricas y modelos de decisión que permiten simular diferentes niveles de gravedad del asma observando los cambios en el sistema cardiorrespiratorio antes y después de aplicar cualquier tipo de tratamiento.

En este artículo se ha presentado una de las diferentes simulaciones que permite realizar la aplicación, obteniendo resultados acordes con la literatura y bien valorados por personal médico del Centro de Investigación y Estudio de Medicamentos y Tóxicos (CIEMTO) de la Universidad de Antioquia.

La extensión futura de este trabajo incluye la incorporación de patologías asociadas, otros medicamentos y características de interactividad propias de los dispositivos móviles que aumenten la satisfacción del usuario en su experiencia con el uso de la aplicación.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Fondo Nacional de Regalías de Regalías de la República de Colombia mediante el proyecto titulado “Fortalecimiento de plataforma tecnológica para la formación especializada en el área de la salud y el desarrollo de tecnología biomédica”, código interno Ruta N 139C.

Referencias

- [1] Página web de la Organización Mundial de la Salud (OMS). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs307/es/>. (Consultada: Abril 2015).
- [2] Cisneros C, Melero C, Almonacid C, Perpiñá M, Picado C, Martínez E, Pérez L, Soto JG, Urrutia I, García G. Guidelines for Severe Uncontrolled Asthma. *Arch. Bronconeumol English Ed*, vol 51, sup 5, 2015, pp 235-246 (ISSN: 1579-2129).
- [3] Página web de la Fundación Neumológica Colombiana. <http://www.neumologica.org/INFORMACIONASMAIRESALUD.htm> (Consultada: Mayo 2015)
- [4] Vicente T, Prieto L, López AA, Pérez C, Ramírez MV, Santamaría C, Terradillos MJ, Capdevila LM. Síntomas respiratorios de rinitis y asma en población laboral española. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, vol. 52, sup 1, 2014, pp 50-59
- [5] Página web de la Global Initiative for Asthma (GINA 2015). <http://www.ginasthma.org/>. (Consultada Abril 2015)
- [6] Vargas MH. Fisiopatología del asma. *Neumol. Cir. Torax*, vol. 68, sup 2, pp. 111-115, 2009. (ISSN: 0004-4830).
- [7] García S, Pérez S. Asma: Concepto, fisiopatología, diagnóstico y clasificación. *Pediatr. Integr.*, vol. 16, sup. 2, pp. 117-130, 2012 (ISSN: 1135-4542).
- [8] Lewis M, Short L, Lewis KE. Autonomic nervous system control of the cardiovascular and respiratory systems in asthma. *Respir. Med.*, vol. 100, su. 10, pp. 1688-1705, 2006. (ISSN: 0954-6111)
- [9] Oscanoa TJ. Seguridad de los beta 2 agonistas (β_2) en asma bronquial. *Revista de la Facultad de Ciencias Medicas.*, vol. 71, no. 1, pp. 43-53, 2014
- [10] Patiño NM. Farmacología médica/Medical Pharmacology. Vol 1. Ed. Médica Panamericana, 2008 (ISBN: 978-968-7988-44-3).
- [11] Bennett J, Smyth E, Pavord I. Systemic effects of salbutamol and salmeterol in patients with asthma. *Thorax*, vol. 49, pp. 771-774, 1994.
- [12] García F, Calle M, Burgos F, Casan P, Del Campo F, Galdiz JB, Giner J, González N, Ortega F, Puente L. Spirometry. *Arch. Bronconeumol (English Ed)*. vol. 49, sup 9, pp. 388-401, 2013.(ISSN: 1579-2129).
- [13] Becerril M, Pérez R, Martínez N. Tratamiento del asma persistente y de difícil control: actualización de la terapia anti IgE. *Rev. Alerg. México*, vol. 58, sup 1, pp. 1-18, 2011. (ISSN: 0002-5151).
- [14] Taylor DR, Bateman ED, Boulet LP, Boushey H, Busse W, Casale TB, Chanez P, Enright PL, Gibson PG, De Jongste JC, Kerstjens M, Lazarus SC, Levy ML, O'Byrne PM, Partridge MR, Pavord ID, Sears MR, Sterk PJ, Stoloff SW, Szeffler SJ, Sullivan SD, Thomas MD, Wenzel SE, Reddel HK. A new perspective on concepts of asthma severity and control. *Eur. Respir. Journal.*, vol. 32, sup. 3, pp. 545-554, 2008. (ISSN: 0903-1936).
- [15] Hankinson JL, Odencrantz JR, Fedan KB. Spirometric reference values from a sample of the general U.S. population. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 159, sup 1, pp. 179-87, Jan. 1999. (ISSN: 1073-449X)
- [16] Rojas M, Dennis R. Valores de referencia para parámetros de espirometría en la población adulta residente en Bogotá, DC, Colombia. *Biomédica*, vol 30, pp. 82-94, 2010
- [17] Pérez R, Valdivia G, Muiño A. Spirometric reference values in 5 large Latin American cities for subjects aged 40 years or over. *Arch. Bronconeumol.*, vol. 42, sup 7, pp. 317-325, 2006.
- [18] Rodrigo GJ, Rodrigo C. First-line therapy for adult patients with acute asthma receiving a multiple-dose protocol of ipratropium bromide plus albuterol in the emergency department. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 161, sup 6, pp. 1862-1868, 2000. (ISSN: 1073-449X).
- [19] Bermeo A, Velasco V. Guía para el tratamiento de la crisis asmática. *Arch. Med. Urgenc. México*, vol. 5, sup 2, pp. 60-69, 2013

Dispositivos de Control Físicos para la Interacción con Contenidos Virtuales para Neurorehabilitación Funcional de la Extremidad Superior

J. Ontiveros Ravell^{1,2}, M. Almenara³, F. Molina Nájera^{1,2}, M.A. Villán-Villán^{1,2}, I. Soriano³, C. Molleja³, E. Opisso³, J. Medina Casanovas³, J.M. Tormos Muñoz³, E.J. Gómez Aguilera^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSIT, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España

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

{jontiveros, fmolina, mvillan, egomez }@gbt.tfo.upm.es

³ Institut Guttmann, Instituto Universitario de Neurorehabilitación-UAB, Barcelona, España

{ malmenara, isoriano, cmolleja , eopisoo, jmedina, jmtormos } @guttman.com

Resumen

La utilización de entornos y contenidos virtuales interactivos de rehabilitación han adquirido un gran interés en el área de neurorehabilitación. El objetivo del presente trabajo es diseñar y desarrollar dispositivos de control específicos para la interacción con contenidos virtuales de rehabilitación de pacientes con Daño Cerebral Adquirido. Los dispositivos desarrollados en este trabajo han sido diseñados expresamente para servir de mecanismo de interacción en 2 contenidos virtuales de neurorehabilitación basados en actividades de terapia ocupacional utilizadas en hospital Institut Guttmann.

1. Introducción

El Daño Cerebral Adquirido (DCA) se ha convertido en un grave problema en los países desarrollados, siendo actualmente una de las causas principales de discapacidad [1]. Las secuelas del DCA suelen ser de gravedad, lo que representa un gran impacto en la vida de los afectados. Las dos principales causas de DCA son el Accidente Cerebrovascular (ACV) y el Traumatismo Craneoencefálico (TCE). Además, en el caso de los TCE, existe un gran índice de personas afectadas que se encuentran en edades muy tempranas [2].

Se ha demostrado que los individuos que tienen acceso a programas intensivos de rehabilitación se recuperan de manera más rápida, acortando las estancias hospitalarias [3]. Sin embargo, este tipo de tratamientos obliga a disponer de un ratio pacientes/terapeuta muy bajo, lo que obliga a que los tratamientos de neurorehabilitación tengan un coste asociado muy elevado. Además, se debe de tener en cuenta que los tratamientos actuales se basan exclusivamente en la experiencia de los terapeutas y en valoraciones cualitativas. Por esta razón, disponer de tecnologías con contenidos virtuales para la rehabilitación, como son los videojuegos, que puedan cuantificar los parámetros de ejecución de las actividades ha suscitado un gran interés en el área de la neurorehabilitación funcional [4].

En la literatura podemos encontrar varios antecedentes de sistemas para rehabilitación funcional basados en contenidos virtuales. En el trabajo realizado por David Jack [5], encontramos un sistema de realidad virtual para la rehabilitación de la mano en pacientes con DCA, este sistema utiliza dos dispositivos de entrada de mano, un guante para la captura del movimiento en 3D y un guante de feedback de

fuerza, para permitir al usuario interactuar con los ejercicios de rehabilitación. Los sensores industriales de movimiento [6] y en particular los sensores utilizados por la industria del entretenimiento [7], como es el WiiMote, han demostrado ser útiles como herramientas de rehabilitación. El Wiimote, permite detectar su posición y movimiento en el espacio, eliminando algunas de las dificultades que existían anteriormente con las herramientas de captura de movimiento basadas en video. Además, dispositivos físicos como el Wiimote también presentan la ventaja de proporcionar feedback háptico [8].

En la actualidad existen otro tipo de dispositivos de captura de movimiento basados en cámaras de profundidad que están siendo utilizados como herramientas de rehabilitación, siendo el más popular el Ms Kinect. Estos dispositivos presentan un gran potencial, pero también existen ciertas limitaciones que derivan de la necesidad de disponer de dispositivos físicos que permitan establecer mecanismos de interacción natural, en los que es necesaria la existencia de feedback háptico [9]. Por esta razón, a la hora de diseñar nuevas actividades de rehabilitación basadas en entornos virtuales, se considera necesario el uso de distintos tipos de dispositivos de captura de movimiento e interacción que sean complementarios.

Por otro lado, utilizar dispositivos de interacción genéricos que se encuentren disponibles en el mercado, como los dispositivos de interacción de videojuegos, conlleva una desventaja ya que se trata de elementos adaptados que no están concebidos desde su etapa de diseño para cubrir todas las necesidades terapéuticas requeridas en actividades de rehabilitación. Esto hace que muy probablemente existan limitaciones que no satisfagan en su totalidad las terapias de los pacientes, por lo que una solución más adecuada sería la creación de dispositivos de interacción que tengan presentes estas necesidades en su diseño.

El presente trabajo tiene como objetivo principal el diseño y desarrollo de dispositivos de control para interactuar con los contenidos virtuales en entornos de neurorehabilitación funcional. En concreto se han creado mandos de interacción para ser utilizados en actividades de terapia ocupacional, que junto con un contenido virtual específico, permitan al paciente realizar actividades que favorezcan su rehabilitación.

2. Materiales y Métodos

Previamente al desarrollo de los dispositivos de control se realizó un análisis de las necesidades que debían ser cubiertas para garantizar una adecuada interacción entre los usuarios y los contenidos virtuales. Los dispositivos diseñados han sido desarrollados para ser incluidos en dos contenidos virtuales. El primer contenido consiste en una actividad de disociación de dedos, mientras que el segundo es una actividad de coordinación bimanual. Para que los dispositivos se adecuen a las necesidades de las actividades se definieron varios modelos con características bien especificadas y especialmente enfocadas a dichas actividades.

2.1. Actividad disociación de dedos

Esta actividad se enfoca en la estimulación de la movilidad de ambas manos mediante movimientos disociados de los dedos. Para poder llevar a cabo la actividad se ha diseñado un mando adaptado con botones individuales que deben ser pulsados por el paciente. La actividad tiene los siguientes objetivos: mejorar la coordinación óculo-manual, mejorar la movilidad de los dedos y la coordinación motora fina, y estimular a nivel propioceptivo y sensitivo los dedos.

Para el diseño del mando de control se han utilizado los siguientes componentes.

- Sensor resistivo de fuerza: Componente capaz de medir la fuerza aplicada a través del cambio de su resistencia interna.
- Neo-Pixels: Led RGB programable que incorpora un microcontrolador lo que permite su utilización en conexión en serie entre módulos.
- TinyDuino: Placa de desarrollo basada en el procesador ATMEL Atmega328P.
- Módulo bluetooth: Dispositivo de conexión inalámbrica que permite la transmisión bidireccional de información entre dispositivo y PC.

Para poder ejecutar la actividad de forma adecuada es necesario poder medir la fuerza que el paciente ejerce al presionar cada uno de los botones del mando. Por esta razón se han utilizado múltiples sensores de fuerza (FSR) capaces de medir hasta 100N (equivalente en masa de 10 kg). Para poder integrar estos sensores en el control, la conexión se realiza mediante una configuración de resistencia en pull-down que ajusta el voltaje a una escala conocida. En éste arreglo cuando la resistencia del FSR desciende, la resistencia total del FSR y de la resistencia pull-down desciende de 100Kohm a 10 Kohm , con lo que la corriente que fluye a través de ambas resistencias incrementa y provoca que el voltaje que circula a través de la resistencia de 10Kohm aumente.

FUERZA (Kg)	FUERZA (N)	FSR RESISTENCIA	FSR +R Ohm	Corriente FSR+R	Voltage R
Ninguna	Ninguna	Infinita	Infinita	0 mA	0 V
0,02 Kg	0,2 N	30 Kohm	40 Kohm	0,13 mA	1,3 V
0,10 Kg	1 N	6 Kohm	16 Kohm	0,31 mA	3,1 V
1 Kg	10 N	1 Kohm	11 Kohm	0,45 mA	4,5 V
10 kg	100 N	250 Ohm	10,25 Kohm	0,49 mA	4,9 V

Tabla 1 - Voltaje analógico aproximado en el sensor de fuerza/resistencia con una fuente de 5v y una resistencia pull-down de 10Kohm.

Como se puede ver esto resulta en una resistividad casi lineal pero que no provee un voltaje lineal, lo que se debe a la ecuación de voltaje:

$$V_o = V_{cc} (R / (R + FSR))$$

Donde V_o es el voltaje de salida, V_{cc} el voltaje de alimentación (+5v), R la resistencia pull-down y FSR la resistencia actual del sensor. Como se puede observar el voltaje es proporcional a la inversa de la resistencia FSR .

Estos valores de la señal analógica del sensor deben ser interpretados y procesados, para lo que se utiliza el conversor analógico-digital (ADC) de la placa TinyDuino.

El TinyDuino es un placa de desarrollo basada en un procesador Atmega328P y gracias a su versatilidad y facilidad de programación permite realizar el control adecuado y una medición acertada de los sensores conectados a él, con la ventaja del tamaño reducido que lo hace ideal para el desarrollo de mandos de control .

La información recibida por el TinyDuino a través de su ADC se convierte de un dato medido en voltaje a un dato representado en unidades de fuerza (Newton). Mediante la caracterización adecuada y apoyándose de las curvas de calibración del FSR se pueden estimar los valores esperados en la entrada del conversor ADC.

Para facilitar la interpretación de las instrucciones que el paciente visualiza en la pantalla del PC, en donde se ejecuta el contenido virtual, se han incluido en los mandos leds programables (NeoPixels) que ofrecen feedback óptico. Este tipo de elementos permite realizar el control de una gran cantidad de leds RGB con una sola salida analógica de la placa de desarrollo *Figura 1*.

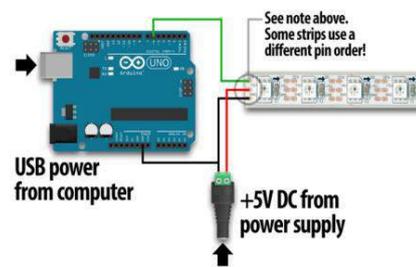


Figura 1 - Conexiones NeoPixel a placa de desarrollo

La ventaja de esta configuración es que permite dejar libres una mayor cantidad de salidas y entradas para ser empleadas en otras tareas como el envío y recepción de datos a dispositivos externos.

Para la comunicación entre PC y todo el sistema se ha utilizado un módulo bluetooth que permite intercambiar información entre los contenidos virtuales ejecutados en el ordenador y el mando. A través del PC se envían las instrucciones para el encendido y configuración de los NeoPixel, los cuales responden de acuerdo a las diferentes instrucciones que les son enviadas y que se encuentran configuradas en el contenido virtual. Por su parte, el mando envía al PC los datos obtenidos de los sensores de fuerza, gracias a lo cual se indica al PC como debe responder el contenido virtual si un botón ha sido presionado y con una determinada fuerza.

La comunicación entre el dispositivo y el software de control para la activación de los NeoPixel se realiza de la siguiente

manera. El software de control alojado en el PC enviará al dispositivo un comando con el siguiente formato:

efecto#(tiempo)#(botón)#(R)#(G)#(B)#!

Donde el primer término de la instrucción es el efecto luminoso que se debe de ejecutar (ejemplo: fadeIn), el segundo es el tiempo que dura este efecto en mili segundos (ejemplo:1500 = 1.5 segundos), el tercero es el número de botón que debe responder al comando (ejemplo: 2) y los últimos tres elementos corresponden al color que se debe visualizar en formato RGB (ejemplo: 255,255,255 = Blanco). Los efectos que se pueden indicar son los siguientes.

- Fade In (fadeIn): Consiste en el apagado gradual de los led lo que crea el efecto de ir desvaneciendo el color.
- Fade Out (fadeOut): Consiste en el encendido gradual de los led que crea el efecto de ir intensificando el color.
- Fade In Out (fadeInOut): Consiste en el apagado y encendido gradual de los led lo que crea el efecto de ir desvaneciendo e intensificando el color a manera de un parpadeo ralentizado.
- Blink Led (blinkLed): Consiste en el encendido y apagado del led.

El envío de datos hacia la PC consiste en la lectura procesada de los FSR , estos datos se envían como valores de fuerza para poder ser utilizados como respuesta a las instrucciones enviadas por la actividad ejecutada en el ordenador.

El diseño completo del sistema consiste en la implementación de 5 sensores de fuerza que representan los cinco dedos de la mano, 5 NeoPixel para el feedback óptico, una placa de desarrollo TinyDuino y un módulo bluetooth para la comunicación. Esto se considera por duplicado ya que utilizará un módulo independiente para cada mano. Esquema eléctrico del sistema *Figura 2*.

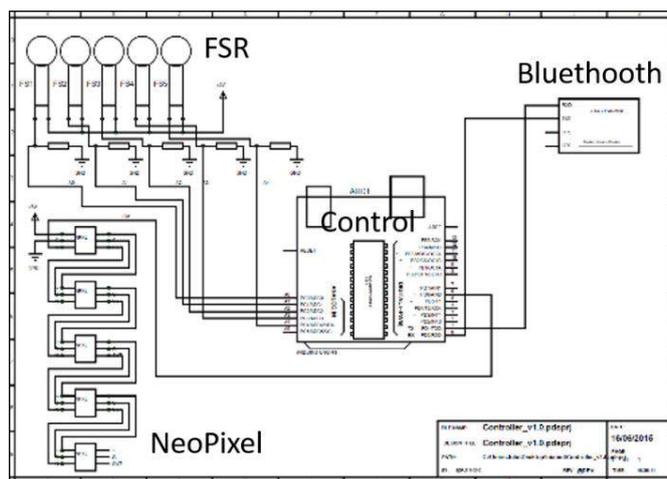


Figura 2 - Esquema eléctrico del sistema.

Para facilitar las interconexiones entre todo el sistema se diseñó un circuito que condensa las conexiones de todo los sensores y NeoPixel para después distribuir las hacia la placa de desarrollo.

2.2. Actividad de coordinación bimanual

Esta actividad consiste en la conducción o guiado de objetos mediante la utilización de un mando con forma de volante o timón que permite realizar el control de una actividad virtual. La actividad tiene como objetivos: el mejorar la coordinación bimanual y la atención.

Como control para esta actividad se ha optado por un modelo en forma de timón que facilita el agarre del mando así como su manipulación.

Para el diseño electrónico del mando de control se han utilizado los siguientes componentes:

- Acelerómetro: Módulo capaz de medir la aceleración en los ejes X, Y, Z.
- TinyDuino: Placa de desarrollo basada en procesador ATMEL Atmega328P.
- Módulo bluetooth: Dispositivo de conexión inalámbrica que permite la transmisión bidireccional de información entre dispositivo y PC.

El acelerómetro se comunica con la placa de control a través de un convertidor analógico, digital o interfaz de conexión modulada por ancho de pulsos (PWM).

El acelerómetro utilizado para el sistema es el BMA250, módulo ultra pequeño, tri-axial, con sensor de aceleración de bajo-g con interfaces digitales. El sensor permite medir las aceleraciones en 3 ejes perpendiculares y así obtener la inclinación, el movimiento, los impactos y vibraciones en el dispositivo. El sensor BMA250 integra características que facilitan su uso especialmente en el área de aplicaciones para la detección de movimiento, como los mandos para el control de juegos de video y HMI (Human Media Interface).

Para realizar la comunicación con la placa de desarrollo el acelerómetro utiliza el bus I2C para comunicarse. Para poder enviar los datos interpretados por la placa de desarrollo se ha utilizado un módulo de conexión inalámbrica que permite realizar una comunicación inalámbrica entre el PC y el dispositivo. Los datos recibidos por el PC son interpretados para tomar las decisiones que se ven reflejadas en la actividad de coordinación bimanual.

3. Resultados

Como resultado del trabajo se han desarrollado dos dispositivos de control para la interacción con contenidos virtuales que permiten realizar de una manera más adecuada las actividades de rehabilitación asociadas a dichos contenido virtuales. Los mandos se han ajustado a los requisitos de las actividades de rehabilitación.

Una ventaja de los dispositivos de control desarrollados con respecto a los mandos que se pueden encontrar de manera comercial, ha sido la libertad que presenta el desarrollo de las actividades de rehabilitación al no encontrarse con limitantes de diseño como las que se encuentran comúnmente cuando se adaptan mandos comerciales a actividades específicas, en vez de desarrollar mandos específicos a actividades concretas. Otra ventaja muy importante del desarrollo de mandos específicos, es que dan la posibilidad de realizar adaptaciones específicas para la medición de parámetros útiles durante la evaluación terapéutica, como puede ser la fuerza de presión de los dedos en el dispositivo de control de disociación de

dedos o la posición en ángulos del dispositivo de control de coordinación bimanual.

Contenido Virtual: Disociación de dedos

Se ha diseñado un prototipo de dispositivo de control para ser usado en el contenido virtual de disociación de dedos. Se realizó un modelo 3D para ser impreso, en el que se incluye el montaje electrónico con los módulos descritos anteriormente. A continuación se pueden apreciar distintas perspectivas del modelo.

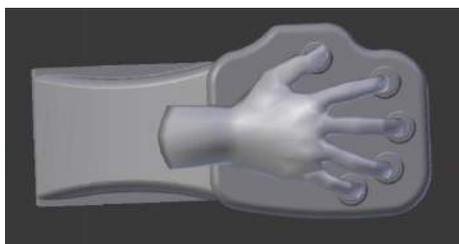


Figura 3 - Perspectiva superior.

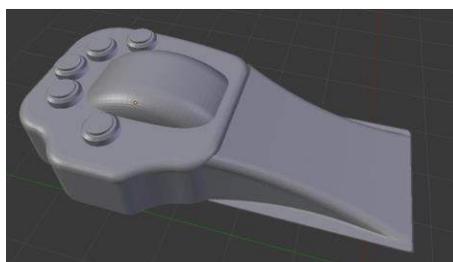


Figura 4 - Perspectiva ortogonal.

Contenido Virtual: Coordinación bimanual

Para este contenido virtual se ha diseñado un timón con el tamaño adecuado para facilitar su agarre durante la ejecución de la actividad de rehabilitación. El timón es impreso mediante una impresora 3D y en su interior se implementa el diseño electrónico descrito en el apartado anterior. El resultado se puede apreciar en las siguientes perspectivas.



Figura 5 - Perspectiva frontal.



Figura 6 - Perspectiva ortogonal.

4. Conclusiones y discusión

Como se ha podido observar, en este trabajo se han diseñado dispositivos de control especialmente concebidos para interactuar con contenidos virtuales empleados en terapias

de neurorrehabilitación. Este enfoque permitirá aumentar el nivel de interacción de los pacientes con las actividades terapéuticas, pudiendo llegar a optimizar los resultados obtenidos en las actividades de rehabilitación, lo que repercutiría en una mejor recuperación de los pacientes con DCA. La dificultad que conlleva desarrollar dispositivos, que cumplan las características necesarias para cubrir las necesidades terapéuticas y aprovechar el potencial tecnológico actual en la rehabilitación del DCA, requiere de una labor interdisciplinaria en donde los desarrolladores, ingenieros y terapeutas trabajen de una forma conjunta.

Agradecimientos

Agradecemos al equipo investigador y al departamento de rehabilitación funcional del Hospital de Neurorrehabilitación Institut Guttmann por su inestimable colaboración en el desarrollo de la presente investigación. Está investigación ha sido parcialmente financiada por la Universidad Politécnica de Madrid y por el proyecto Sensingtoys (ITP-2012-1063-300000) financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad. Esta investigación también ha sido posible gracias a la colaboración del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT).

Referencias

- [1] Institut Guttmann. Tecnologías aplicadas al proceso neurorrehabilitador: Estrategias para valorar su eficacia. Badalona, Fundación InstitutGuttmann. 2008.
- [2] Jamshid Ghajar, Traumatic brain injury, The Lancet, Volume 356, Issue 9233, pp. 923-929, Sept 2000.
- [3] Hellweg S, Johannes S. Physiotherapy after traumatic brain injury: A systematic review of the literature. Brain Injury. pp. 365-373, May 2008.
- [4] B. Lange, C.-Y. Chang, E. Suma, B. Newman, A. S. Rizzo, and M. Bolas, "Development and evaluation of low cost game-based balance rehabilitation tool using the Microsoft Kinect sensor.," Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc., vol. 2011, pp. 1831-4, Jan. 2011.
- [5] Jack, D., Boian, R., Merians, A., Adamovich, S., Tremaine, M., Recce, M., et al. A virtual reality-based exercise program for stroke rehabilitation. Assets'00, Proceedings of the 4th international ACM conference on assistive technologies, pp. 56-63, 2000.
- [6] Jack, D., Boian, R., Merians, A., Adamovich, S., Tremaine, M., Recce, M., et al. A virtual reality-based exercise program for stroke rehabilitation. Assets'00, Proceedings of the 4th international ACM conference on assistive technologies, pp. 56-63, 2000.
- [7] Balaam, M., Egglestone, S., Fitzpatrick, G., Rodden, T., Hughes, A.-M., Wilkinson, A., et al. Motivating mobility: Designing for lived motivation in stroke rehabilitation. Proceedings of the ACM CHI conference on human factors in computing systems pp. 3073-3082, 2011.
- [8] Saposnik G, Teasell R, Mamdani M, Hall J, McIlroy W, Cheung D, Thorpe KE, Cohen LG, Bayley M. Effectiveness of Virtual Reality Using Wii Gaming Technology in Stroke Rehabilitation: A Pilot Randomized Clinical Trial and Proof of Principle, vol. 41, issue 7, pp. 1477-1489, Jul 2010.
- [9] F. Molina; C. Gómez; J. Ontiveros; M. Villán; R.Pérez; C. Martín; E. Opisso; J. Medina; J. Tormos Muñoz; E. Gómez, "Contenidos Virtuales para Neurorrehabilitación Funcional de la Extremidad Superior utilizando el Sensor Microsoft Kinect", CASEIB, 2014

Electrospinning PCL nanofibers with ceramic nanoparticles for wound dressing

E. Ramírez Cedillo¹, W. Ortega-Lara¹, C.A. Rodríguez¹, M. Rocha Pizaña¹

¹ Escuela de Ingeniería y Ciencias, Tecnológico de Monterrey, Av. Eugenio Garza Sada #2501 Sur, Monterrey, MEXICO 64849, ciro.rodriguez@itesm.mx

Abstract

Biocompatible and biodegradable membrane treatments for recovering or regenerate damaged tissue are now a days a very promising solution. These membranes for wound dressing require a biopolymer such as PCL polycaprolactone which is used in a many medical devices. The process to fabricate these membranes will be electrospinning which can produce a mesh that mimics the extracellular matrix and it is similar to the skin tissue by its thickness. The goal of this work is to improve the membranes by adding ceramic nanoparticles such as TiO₂ and Na₂Ti₆O₁₃, proven as antibacterial, and show its biocompatibility differences. Nanoparticles distribution and the nanofibers morphology of the obtained membranes were analyzed in a Scanning Electron Microscope (SEM). Also, for this study was used an Optical Microscope to observe DAPI stained cells. To evaluate the biological properties, the cytotoxicity and proliferation were studied by growing NIH3T3 cells on the nanofibers. The biocompatibility was proven by the amount of cells attached to the membranes.

Keywords: Electrospinning, ceramic nanoparticles, wound dressing, polycaprolactone, fibroblasts, nanofibers.

1. Introduction

Regenerative engineering is a field of Tissue Engineering that is holding the ultimate promise of repairing any damaged body parts, although numerous daunting challenges remain, one of which is to understand and control cell behavior in an unnatural environment. Therapeutic strategies and biomedical device applications will multiply with understanding of these phenomena [1]. Wound dressing with electrospun nanofibrous membrane can meet the requirements such as higher gas permeation and protection of wound from infection and dehydration. Polymer biocomposite nanofibrous membranes could be useful for human dermal fibroblasts in tissue engineered skin in regenerative medicine. Venugopal et al found that PCL-blended collagen nanofibrous membrane promotes cell adhesion, proliferation, and provide 90% porosity with interconnected pores for fibroblast attachment and migration to form dermal substitute.

Electrospinning process has the ability to produce nonwoven, nanometer fibrous structure and is well suited for wound dressing material and tissue engineering [2]. Bhattarai et al. [3] used PLLA/PEG for the electrospin

ning process and found fibers from 500-1300 nm diameter range. By evaluating this nanofibers with NIH 3T3 cell proliferation, morphology and cell-matrix interaction, they observed that this electrospun fibers PLLA/PEG (80/20)

were very effective for biological activity. They demonstrated that there is a strong relationship between the cell affinity and the electrospun fibrous structure. Also found that these nanofibers have a potential application as extra cellular matrix in tissue engineering.

PCL has distinct advantages as a biomaterial, particularly as a scaffold. It is mechanically strong, highly elastic, biodegradable and biocompatible and particularly very studied in electrospinning [4]. By adding ceramic nanoparticles to PCL Mishra and Ahrenkiel studied how a nanocomposite mixed-phase polycrystalline TiO₂/Ag nanofibers of PCL enhanced the photocatalytic activity of the electrospun nanofibers by studying the photo degradation of methyl red dye under UV light irradiation in a photoreactor. This study showed that the rate of decay of the dye was higher by 10.3 times in TiO₂/Ag than pure TiO₂ nanofibers [5]. This mechanism of photocatalysis is very important because it permits by using UV light irradiation activate the oxidation of the composites and its antibacterial properties on the nanofibers [6].

Fereshteh et al. [7] in their research of Mg-doped fluorapatite nanoparticles with PCL electrospun found that this proceeding is a promising material for guided bone regeneration scaffold and that by adding this nanoparticles increased the hydrophilicity, bioactivity and degradable ability of pure PCL membranes. Previous studies on TiO₂/PCL said that this combination can be considered as a bioactive material because this combination increased the NIH 3T3 cell growth and proliferation as a function of the exposure time [8].

In the present work, the nanoparticle Na₂Ti₆O₁₃ proven as antibacterial will be added to polycaprolactone matrix produced by electrospinning and compared with TiO₂ on its morphology and cellular biocompatibility.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Poly (caprolactone) (MW 80, 000) (PCL) was purchased from Sigma-Aldrich (United Kingdom). Chloroform was also purchased from Sigma-Aldrich (USA) and it was used as solvent for PCL. TiO₂ was purchased Sigma-Aldrich 718467 (USA) and Na₂Ti₆O₁₃ was obtained from [6].

The cells NIH/3T3 ATCC ® CRL-1658™ were cultured in normal medium (DMEM F-12), 5% FBS, 1% antibiotics (DIFCO Gibco® Life Technologies and SIGMA-Aldrich).

2.2. Preparation of electrospinning fibers of PCL/with nanoparticles composite

PCL nanofibers were prepared by the process of electrospinning. Pellets of PCL at 10% (w/w) were dissolved in chloroform. To obtain a complete dispersion, the solutions were magnetically stirred at room temperature 20°C for ~1hr. After this, nanoparticles of TiO₂ and Na₂Ti₆O₁₃ were added in 1 (wt %). The above system was electrospun at high DC voltages of 13-20 kV using a high voltage power supply (Model ES20P-5W, 0–20 kV, USA). PCL with nanoparticles solutions were delivered at a flow rate of 2 ml/hr. using a syringe pump KDS 100, (Model KDS 100, KD Scientific Inc., USA) fitted with 10 mL syringes having with a metal needle of 0.9 mm (20 G, BD Sciences Ltd., Mexico). Both systems, were electrostatically drawn from the middle of the metal needle by applying a high voltage between it and the grounded collector placed 8.5 cm away from the end of the needle.

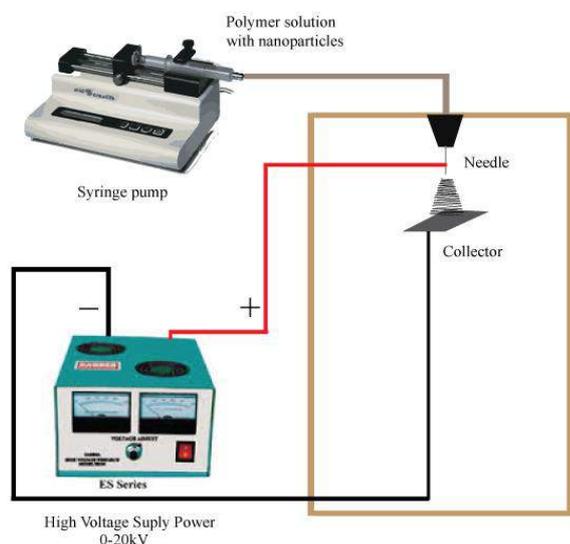


Figure 1. Electrospinning setup for the fabrication of PCL nanofibers with nanoparticles

Electrospinning voltage was applied between the needle and the grounded collector (100 × 80 mm) at 13-15 kV for PCL/TiO₂ solution and 18-20kV for PCL/ Na₂Ti₆O₁₃ solution. The nanofibers were collected over a flat steel sheet covered with an approximately 20 μm thickness commercial aluminum. At the traveling of the solution to the collector, the solvent gradually evaporates and nanofibers are accumulated on the collector [3]. This nanofibers were electrospun and produced a circular membrane matrix with no pattern.

To obtain the ideal parameters of electrospinning for the nanofibers, concentration of PCL was dissolved in Chloroform by 10% w/w. For this research, voltage was varied from 10-20kV, and the flow rate established in a range from 0.5ml/h to 2ml/h. We confirmed that increasing the solution viscosity results in the higher resistance to flow and it is worth to explore in the optimum solution

viscosity for electrospinning process, since very high viscosity requires high operating voltage, and very low viscosity causes defects like beads on the nanofibers [7].

In Table 1, the parameters used for PCL dissolved with chloroform on different high voltages are shown.

Variable	TiO ₂	Na ₂ Ti ₆ O ₁₃
System of solvents	Chloroform (20g)	Chloroform (20g)
PCL	10 % w/w	10 % w/w
Nanoparticles concentration	1% wt	1% wt
Voltage	18-20 kV	13-15 kV
Distance between high voltage and collector	8.5 cm	8.5 cm
Flow rate	2ml/h	2 ml/h

Table 1. Electrospinning parameters for nanocomposite fibers

2.3. Proliferation and cytotoxicity studies in NIH-3T3 cells

Cytotoxicity assays were performed to study the cell death and proliferation. Cell preparation and attachment efficiency were studied on NIH/3T3 ATCC @ CRL-1658™, to determine if the ceramic nanoparticles TiO₂ and Na₂TiO₆ added on the PCL nanofibers could enhance the proliferation and viability of these cells. For this purpose, and to monitor cell adhesion and proliferation, the number of cells was determined by using the colorimetric MTS assay (CELL TITER, PROMEGA, Madison USA). The mechanism behind this assay is that metabolically active cells react with tetrazolium salt in the MTS reagent to produce a soluble formazan dye that can be observed at 490nm [2].

For this study, cells were cultured in a 12-well plate (CORNING) at 37°C + 5% CO₂ with the PCL nanofibers added by TiO₂ and Na₂TiO₆, which were sterilized by UV irradiation for 20-30 min. NIH cells were seeded at a concentration of 1x10⁹ cells/mL, in normal medium (DMEM F-12), SBF 5% and 1% of antibiotics (DIFCO Gibco@ Life Technologies and SIGMA-Aldrich) for 72 hours at 37 °C, 5% CO₂ and controlled humidity. After this, Cell TITER was added in order that the supplier instructed, and incubated for 1hr at 37 °C, 5% CO₂ and controlled humidity.

The samples were read in a spectrophotometric plate reader ELx808 (BioTek, Winooski, Vt. USA) at 490 nm. The assays were quantified from triplicate samples and used *anova* and *poshoc Tukey* for statistics.

3. Results

3.1. Characterization of PCL with nanoparticles

In this work, PCL was completely dissolved in chloroform (10% w/w) and dispersed in 1% concentrated with the nanoparticles TiO₂ and Na₂Ti₆O₁₃ producing nanofibers.

Chloroform was selected as solvent based on the uniformity of the fibers. This resulting solution was electrospun producing diameters of 760-940 nm on the TiO₂ and diameters of 3 μm- 5 μm on the Na₂Ti₆O₁₃. Figure 2, shows the representative Scanning Electron Microscope (SEM) TESCAN images of electrospun PCL- TiO₂ and PCL - Na₂Ti₆O₁₃ composite nanofibers. In these images, can be observed the nanoparticles distributed on the nanofibers.

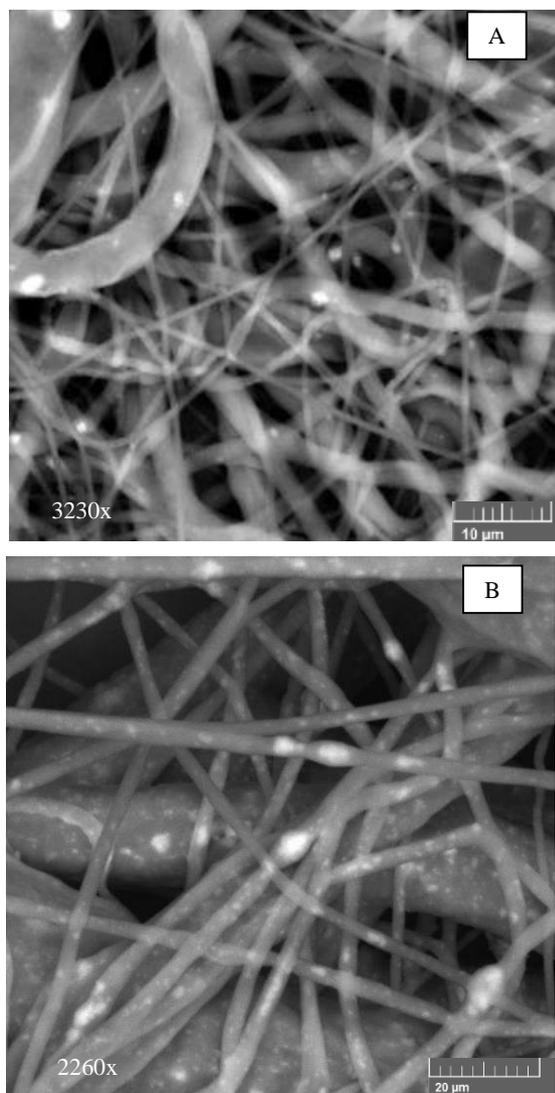


Figure 2. SEM micrographs showing the electrospun fibers morphology (a) 3230x Nanofibers of PCL/TiO₂ (b) 2260x Fibers of PCL/Na₂Ti₆O₁₃

Micro-observations shows the polycrystalline polymer and the nanoparticles distributed on the nanofibers. From this microscopies, in fig 2, it is observed that the nanofibers were randomly oriented and in (A) the TiO₂ nanofibers were more uniform and its diameters smaller than (B).

3.2 Cell viability and statistical analysis

The cell viability assay showed that Na₂Ti₆O₁₃ fibers has enhanced the proliferation of NIH/3T3 cells in a better way, also was found that nanofibers added with TiO₂ and it is statistical significant. This assay showed that the ceramic nanoparticles are not toxic and enhance the cell proliferation in comparison with the control cell that had not a support matrix for its growing.

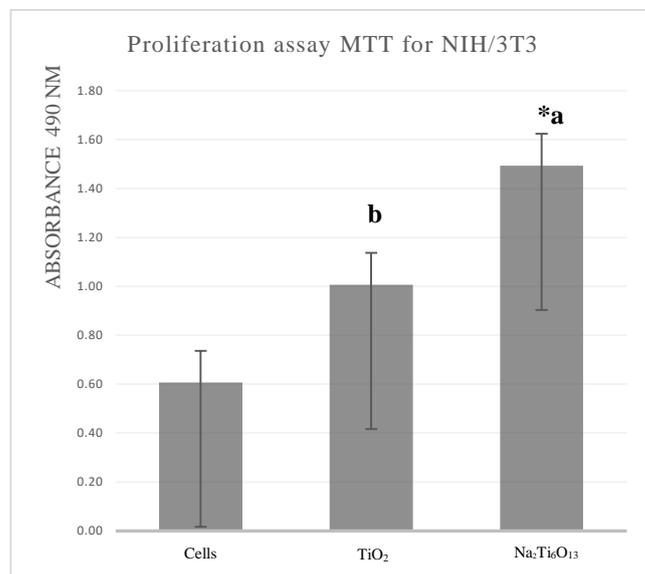


Figure 3 Proliferation Assays with Cell titer in NIH-3T3 cells. Different PCL fibers treated with nanoparticles of TiO₂ or Na₂Ti₆O₁₃. *a = p < 0.05 than b

From Fig 3, the results show that the proliferation of fibroblasts NIH 3T3 was significantly (p < 0.05) increased on PCL with Na₂Ti₆O₁₃ compared with the cells in the SBF medium and the ones attached to TiO₂ nanofibers. These results prove that the diameters and the porosity of the nanofibers and the nanoparticle provided cell attachment and proliferation to design a wound dressing membrane.

3.4 Cell adhesion and cell morphology on composite scaffold

To observe the cell adhesion and morphology, in this study it used the process of blue staining DAPI and to find the effect of both nanoparticles TiO₂ y Na₂Ti₆O₁₃ on the cell morphology and adhesion of the fibroblasts NIH-3T3.

In this process, the study followed the same process of cell growth, proliferation and at the time established by the DAPI protocol reported by Brad Chazotte (Brad Chazotte 2010), the cells attached were observed in an optical microscope Carl Zeiss AXIOVERT 200.

Fig 3, Shows the microscopic observation for NIH-3T3 cells. In a) an c) can be observed the cell collocated on the scaffolds and were successfully attached to it. On the other side b) and d) shows cells attached on the nanocomposite scaffolds and stained with DAPI, it can be observed that cells attached in nanofibers of PCL with Na₂Ti₆O₁₃ had a high number of cells attached as the proliferation assays resulted.

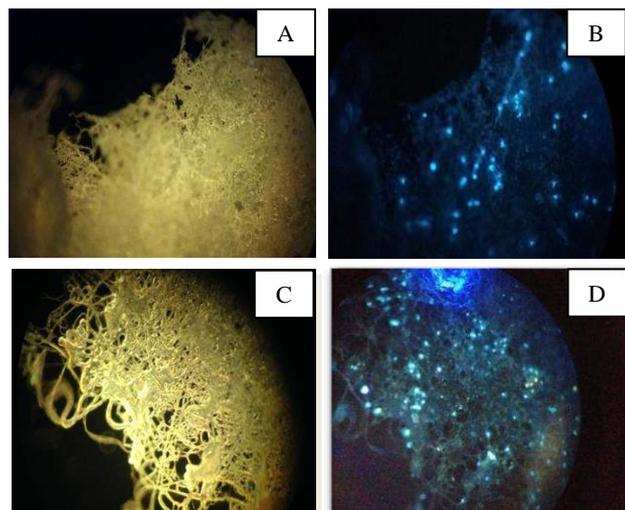


Figure 4. Microscopic observations for NIH-3T3 cells in PCL fibers, stained with DAPI, objective 10x. a) PCL fibers with TiO₂ without fluorescence b) PCL fibers with TiO₂ with fluorescence. c) PCL fiber with Na₂TiO without fluorescence d) PCL fibers with Na₂Ti₆O₁₃ with fluorescence.

4. Conclusions

The successfully PCL/TiO₂ and PCL/Na₂Ti₆O₁₃ nanocomposite scaffolds were produced by electrospinning method. The optimum parameters for these solutions were 10% w/w, 18-20kV and 13-16 kV, 2 ml/h respectively. The nanoparticles were dispersed in nanofibers with no agglomeration by 1%wt. Also, cells were grown in this prototype for wound dressing. Cell viability studies with NIH3T3 revealed that the nanofibers with Na₂Ti₆O₁₃ presented the best cell adhesion and proliferation in comparison with TiO₂ nanofibers and the cells without nanofibers. In fibers with diameters between 3µm and 5µm, fibroblasts proliferated, and ceramic nanoparticles enhanced the biocompatible properties of these membranes.

5. Future Works

Continuing in this research, it is important to try another solvent system for improving the nanoparticles distribution on the membranes. Also, studies of photocatalysis and antibacterial activity of the active compound on PCL matrix are assessed using

Acknowledgements

The Center of Innovation in Design and Technology and Biotechnology Center at Tecnológico de Monterrey supported this work and equipment shown in the paper.

References

- [1] Yim EK and Leong KW. Significance of synthetic nanostructures in dictating cellular response *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, vol. 1, 2005, pp. 10-21 (ISSN: 1549-9634)
- [2] Venugopal JR, Zhang Y and Ramakrishna Y. In Vitro Culture of Human Dermal Fibroblasts on Electrospun Polycaprolactone Collagen Nanofibrous Membrane, *Artificial Organs*, vol. 30, n° 6, 2006, pp. 440-446 (ISSN: 1525-1594)
- [3] Bhattari S, Bhattari N, Viswanathamurthi P, Keun H, Han P and Kim H. Hydrophobic nanofibrous structure of polylactide; fabrication and cell affinity, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, vol. 78A, 2005, pp. 247-257, (ISSN: 1549-3296).
- [4] Lim JS, Ki CS, Kim JW, Lee KG, Kang SW, Kweon HY and Park YH. Fabrication and Evaluation of Poly(epsilon-caprolactone)/Silk Fibroin Blend Nanofibrous Scaffold, *Biopolymers*, vol. 97, 2011, pp. 265-2275, (ISSN: 1097-0282)
- [5] Mishra S and Ahrenkiel SP. "Synthesis and Characterization of Electrospun Nanocomposite TiO₂ Nanofibers with Ag Nanoparticles of Photocatalysis Applications," *Journal of Nanomaterials*, vol. 2012, 2012, pp. 1-6, (ISSN: 1687-4129)
- [6] Hernández A, Torres-Martínez L, Ortega W and López T, Ceramic Compounds M₂TinO_{2n+1} (M=Li,Na,K and n=2), Synthesis and Photocatalytic Properties, *Emerging Fields in Sol-Gel Science and Technology*, Springer US, 2003, pp. 84-91 (ISBN: 9783037854167.9783038138310)
- [7] Fereshteh Z, Fathi M and Mozzaffarina R, «Mg-doped fluapatite nanoparticles-poly (ε-caprolactone) electrospun nanocomposite: Microstructure and mechanical properties.» *Superlattices and Microstructures*, vol. 75, 2014, pp. 208-221, (ISSN: 0749-6036)
- [8] Catauro M, Bollino F, Papale F, Marciano S, and Pacifico S, TiO₂/PCL hybrid materials synthesized via sol-gel technique for biomedical applications, *Materials Science and Engineering C*, vol. 47, 2014 pp. 135-141, (ISSN: 0928-4931)
- [9] Chazotte B, Labeling Nuclear DNA Using DAPI, *Adapted from Imaging: A Laboratory Manual*, New York, CSHL Press, 2010.

Implementación del estándar HL7 FHIR en un sistema de monitorización de oxígeno de bajo coste

M. Boluda Terol¹, D. Ruiz Fernández²

¹Grupo de investigación IBIS, Universidad de Alicante, Alicante, España, mbt14@alu.ua.es

²Dpto. Tecnología Informática y Computación, Universidad de Alicante, Alicante, España, druiuz@dtic.ua.es

Resumen

El estándar emergente HL7 FHIR, basado en la arquitectura RESTful, es ideal para dispositivos móviles o de poca envergadura debido a la ligereza de este servicio web. Además, ha demostrado tener ciertas ventajas sobre sus ancestros HL7 v2 y HL7 v3, pese a seguir gran parte de sus especificaciones, ya que cumple los principios de interoperabilidad. El objetivo de este trabajo es implementar este estándar como caso de uso en un sistema de monitorización de oxígeno en ambulatorio y con dispositivos de bajo coste.

Introducción

Para garantizar el éxito del intercambio de información en un sistema sanitario es clave que exista interoperabilidad entre las diferentes partes. Tal que, proporciona no sólo beneficios económicos (se estima que en EEUU el ahorro total de costes en un año es de 77,8 billones de dólares) sino que tiene un gran valor clínico al ofrecer la mejor información disponible a la hora de tratar con los pacientes[1].

Dicha interoperabilidad se ha podido alcanzar gracias al uso de estándares que han definido los medios sintácticos y semánticos de la información a intercambiar. Con estos estándares se aporta más seguridad en los sistemas sanitarios y un ahorro en costes.

En este sector encontramos algunas organizaciones que han logrado integrar interoperabilidad en los sistemas sanitarios, como por ejemplo SWIFT[2] que ha sido integrada con una API para dispositivos Apple conocida como HealthKit[3]; HMISS que se presenta como una organización sin ánimo de lucro cuyo principal objetivo es mejorar el sistema sanitario a través de la tecnología [4]; y en la que se centra nuestro trabajo, la organización HL7, que describe una amplia gama de estándares que han sido implementados en aproximadamente 90 países (más concretamente HL7 v2)[6].

No obstante, a raíz de la escasa adopción de HL7 v3 debido al alto coste y dificultad de implementación en los sistemas de información sanitarios, la necesidad de transición de HL7 v2 (y sus consiguientes subversiones) y las nuevas tendencias a nivel de estándares web y salud móvil, en 2011 se decidió crear el estándar interoperable FHIR, que trata de recoger lo mejor de cada estándar vigente en HL7 y aplicarles los correspondientes estándares web modernos

(basándose en la arquitectura del servicio web RESTful), con tal de adaptarse a la realidad tecnológica actual.

Así pues el principal objetivo de FHIR es llevar la interoperabilidad entre sistemas a un eslabón superior, con el objetivo de facilitar la implementación de susodichos estándares, teniendo en cuenta tanto la tecnología móvil como la web. Lo que en versiones anteriores eran mensajes, se han reemplazado por los denominados Recursos, donde un recurso es la unidad básica de interoperabilidad. Además, estos recursos pueden ser usados directamente o ser extendidos para adaptarlos a casos de uso particulares[5].

Con este estudio, pretendemos dar ejemplo del uso de este nuevo estándar en auge con nuestro proyecto de telemedicina que pretende ser un sistema efectivo y de bajo coste.

Estado del arte

HL7 (Health Level Seven International) es un conjunto de estándares, formatos y definiciones para el intercambio que se ha estado desarrollando desde 1987. Estos estándares definen cómo se empaqueta la información y cómo se comunica entre las diferentes partes que componen un sistema de información, especificando el lenguaje, la estructura y los tipos de datos requeridos para la integración entre sistemas. Así, es considerado uno de los estándares más comúnmente usados en el mundo[6].

A lo largo de la historia de HL7 desde su inicio han surgido diferentes versiones, las cuales enumeraremos a continuación para comprender por qué se ha escogido HL7 FHIR y no otra versión más en profundidad.

HL7 v2

HL7 v2 fue desarrollado en 1989 como un estándar ad hoc para integrar varios sistemas hospitalarios, administrativos y clínicos juntos.

Debido a su naturaleza ad hoc, no se puede adaptar a otros entornos. De tal manera que el 80% de las interfaces diseñadas son definidas a través de especificaciones HL7, mientras que el 20% son personalizadas a través de una implementación local.

Además, la forma de representar la información, pese a que es robusta y en términos computacionales más rápida de extraer, por otra parte es mucho menos flexible y por tanto no cumple con los términos de interoperabilidad al no

ajustarse a un modelo semántico que pueda integrar dicha característica.

HL7 v3

El desarrollo de esta versión comenzó en 1995, que sin llegar a ser una mejora sobre la versión anterior, ofreció principalmente una alternativa al diseño de la v2. Con esta versión se introdujo el HL7 Development Framework y un modelo de información llamado RIM (Reference Information Model). Este último define toda la estructura léxica y semántica de la versión v3.

Los estándares publicados en HL7 v3 no se pueden implementar directamente y requieren herramientas externas para poder generar sistemas software ejecutables. Adicionalmente, a pesar de que los esquemas XML se emplean en la distribución de los estándares HL7v3, no se aplican en la normativa oficial. La implementación de esta versión requiere una adaptación compleja del modelo en plataformas específicas y HL7 no provee ninguna herramienta para realizar semejante tarea. Por lo que el desarrollador se encuentra en una situación en la que, para poder utilizar esta versión, debe construir una plataforma que se adapte al entorno que desea trabajar. Así, la implementación de esta versión conlleva emplear gran parte del tiempo en construir el entorno de trabajo antes de, ni tan siquiera, construir el sistema de información sanitario.

HL7 FHIR

Este se basa en los principios descritos para la arquitectura RESTful y como tal incorpora operaciones básicas HTTP (Get, Post, Put, Delete, Trace) y CRUD (Create, Read, Update, Delete). Así, también incluye la posibilidad de elaborar dichas operaciones sobre una capa SSL (Secure Sockets Layer) con HTTPS, aportando seguridad en el intercambio de mensajes.

Su principal objetivo es acelerar y simplificar los estándares HL7 ya definidos, siendo fácilmente consumibles pero robustos a la vez que se emplean estándares de Internet cuando sea posible. Con ésta última característica, se puede evitar la necesidad de crear herramientas personalizadas (como es en el caso de HL7 v3).

Así, FHIR define entidades relacionadas con el intercambio de información sanitaria como “recursos”. Cada recurso es una entidad identificable diferente. Su especificación define los siguientes atributos:

- Los recursos deben tener unos límites claros.
- Los recursos deben diferir unos de otros en significado, no simplemente en su uso.
- Los recursos necesitan tener una identidad natural.
- Los recursos deben ser comunes y usarse en diferentes tipos de transacciones.
- Los recursos deben ser mutuamente exclusivos.
- Los recursos deben usar otros recursos, pero ellos deben ser algo más que composiciones de otros recursos.

- Los recursos deben estar organizados en un framework lógico basado en la comunidad del recurso.
- Los recursos deben ser lo suficientemente grandes como para proveer un contexto significativo.

Actualmente hay cerca de 32 recursos definidos, entre los cuales podemos encontrar: Paciente, Observación, Dispositivo y Documento [7].

Este nuevo estándar, ha dado lugar a algunos proyectos que lo integran, como es el caso de [8] que nos muestran la implementación de HL7 FHIR en aplicaciones móviles; también en el de [9] que pretende hacer un estudio cyberfísico para pacientes de la tercera edad, recogiendo así sus constantes en tiempo real y aprovechando la tecnología IoT. Sin embargo, hay pocas referencias en el campo de la investigación sobre la aplicación de este estándar, ya que hasta hace poco ha sido declarado como oficial.

Diseño del sistema

La arquitectura de nuestro sistema que presentamos en [10], constituía la siguiente arquitectura que especificamos brevemente:

- El dispositivo de recogida de información clínica es un pulsioxímetro genérico con tecnología Bluetooth.
- En la implementación del dispositivo de control utilizaremos un Raspberry Pi 2 que se encarga de la monitorización de los datos que el pulsioxímetro le envía. En el anterior trabajo utilizamos una Raspberry Pi B, pero en éste hemos preferido utilizar la última para soportar la carga de la API que le hemos instalado para hacer las pruebas.
- El subsistema de gestión consistirá en un servidor donde se almacenará la información de cada paciente y la evolución de sus constantes. Dicha información podrá accederse o bien a través de la web o bien a través de una aplicación móvil.

El intercambio de información con el estándar HL7 FHIR lo hemos implementado con HAPI FHIR 1.1, una API de Java que al cumplir los requerimientos específicos del estándar se ha convertido en oficial por la organización [10]. Siguiendo la arquitectura mencionada anteriormente se corresponde el siguiente escenario:

- 1- El dispositivo de control almacena en un fichero persistente los datos recogidos cada 24h, sin un formato específico, por ej. :

```
SPO2 10/08/2015 7:00:00 99%
RPM 10/08/2015 7:00:00 65
```

- 2- El dispositivo de control recibe una petición GET del subsistema de gestión siguiendo el siguiente patrón de URL:

```
http://direccion_servidor.com/directorio_fhir/Recurso/ID_paciente
```

Donde la dirección del servidor sería la dirección del sistema de monitorización y control. Posteriormente, indicamos el directorio donde se encuentre el servicio (si lo hubiera, dependiendo de la configuración realizada), después indicamos el recurso que queremos extraer y finalmente indicamos el id del paciente, que debe ser único.

El recurso en este caso será “Observación” pues queremos recoger los datos de observación de dicho paciente una vez transcurridas 24h. En este recurso, según la especificación del estándar HL7 FHIR, se incluyen valores vitales, resultados de laboratorio, medidas emitidas por dispositivos, características personales, diagnóstico, historia social, características, etc.

3- El servidor recibe o bien un fichero XML o bien un fichero JSON dependiendo de la configuración que hayamos especificado. Dichos ficheros, estarán estructurados según los siguientes aspectos/etiquetas del recurso “Observación”:

- **Status and reliability:** todos los usuarios de las observaciones deben estar seguros del estado del recurso observación.
- **Name:** describe qué fue observado.
- **Identifier:** identificador único para esta observación en particular, para que pueda

ser reconocida en todos los escenarios en los que está representada.

- **Value:** el valor actual que ha sido observado.
- **Related observations:** otras observaciones que complementan a ésta observación en particular. Tales como información auxiliar o advertencias sobre ésta.
- **Subject, bodysite:** paciente, grupo de pacientes o dispositivo donde se realizaron las observaciones.
- **Applies[x]:** periodo de tiempo en el que se realiza la observación al paciente.
- **Interpretations,comments y referenced range:** información que ayuda a interpretar el valor observado.
- **Method,issued,performed:** información adicional sobre cómo se han realizado las pruebas, ayudando así a la comprensión de la observación en particular.

Una vez recibida la respuesta, el servidor se encargará de guardar dichos valores en la base de datos pertinente.

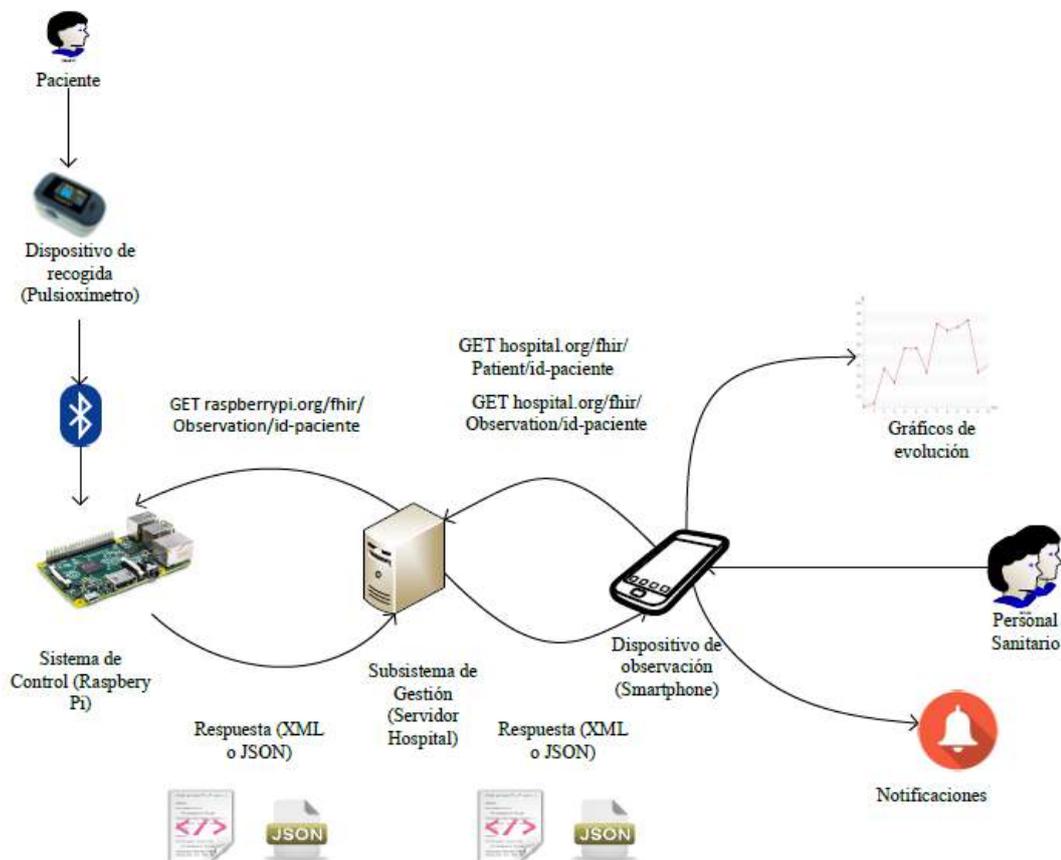


Figura 1. Arquitectura del sistema

- 4- El personal médico accede, bien desde la plataforma Web, bien desde la aplicación móvil donde podrá observar en formato gráfico la evolución semanal o mensual del paciente. También podrá observar los valores destacados en un día concreto. Todo esto, dependiendo del filtro que desee utilizar.

Cabe destacar, que las operaciones entre la plataforma Web o la aplicación móvil, son las mismas que entre el subsistema de gestión y el sistema de control: realizará una petición GET para los datos del paciente (recurso Patient) y otra petición GET para los datos de observación pertinentes. Mientras que para la generación de gráficos (semanales y mensuales) se obtendrán de los datos almacenados en la Base de Datos del subsistema de gestión.

El recurso Patient que requerirá el personal médico, se compone de datos meramente administrativos y logísticos, tales como nombre, fecha de nacimiento, dirección, estado civil, género, edad así como las dietas que se le hayan especificado al paciente, si está bajo el cuidado de cuidadores o enfermeros, si recibe algún tratamiento psiquiátrico, etc.

Si en los datos de la observación se han dado valores que supongan un peligro para el paciente (en el caso del oxígeno, por debajo del 95%) el personal sanitario recibirá una notificación en su aplicación móvil y también un email.

Para poder visualizar mejor la arquitectura de nuestro sistema, presentamos el siguiente esquema en la figura 1.

Conclusiones

El objetivo de este trabajo es integrar en un sistema telemédico de monitorización de oxígeno de bajo coste un estándar médico que constituya los principios de interoperabilidad de los sistemas de información. Así, junto con los objetivos principales de la telemedicina de ahorrar en gestiones hospitalarias, la introducción de dicho estándar procura también un ahorro en la gestión de la información.

Por otra parte, nos gustaría destacar la necesidad de encontrar una API ligera para poder integrar HL7 FHIR en la Raspberry Pi, puesto que HAPI FHIR necesita requisitos computacionales más altos que lo que ofrece nuestra plataforma de monitorización.

En segundo lugar, nos gustaría añadir a nuestro sistema el mayor número de dispositivos inalámbricos médicos

posible, de tal manera que se convierta en un sistema telemédico abierto y adaptable.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad a través del proyecto TIN2014-53067-C3-1-R y cofinanciado con fondos FEDER.

Referencias

- [1] Walker J, Pan E, Johnston D, Adler-Milstein J, Bates DW, Middleton B. The value of health care information Exchange and interoperability. *Health Affairs*, pp 10-18, 2005.
- [2] SWET: The global provider of secure financial messaging services. <http://www.swift.com/standards> (Consultada: 20 Agosto 2015).
- [3] Healthkit: <https://developer.apple.com/healthkit/> (Consultada: 20 Agosto 2015).
- [4] HIMSS: Healthcare Information and Management Systems. <http://www.himss.org/> (Consultada :20 Agosto 2015)
- [5] Health Level Seven International: <http://www.hl7.org/> (Consultada :20 Agosto 2015).
- [6] Health Level Seven Spain: <http://www.hl7spain.org/> (Consultada :20 Agosto 2015).
- [7] Bender D, Sartipi K . HL7 FHIR: An Agile and RESTful Approach to Healthcare Information Exchange. *IEEE Conference International Symposium on Computer Based Medical Devices*, Porto, 2013, pp 326-331.
- [8] Lamprinakos GC, Mousas AS, Kapsalis AP, Kaklami DI, Venieris IS, Boufis AD, Karmiris PD, Mantzouratos SG. Using FHIR to develop a healthcare mobile application. *International Conference on Wireless Mobile Communication and Healthcare*, Atenas, 2014, pp 132-135.
- [9] Dagale H, Anand SVR, Malati HN, Supreeth MK, Singh G, Ramya V, Akshay S, Narasimman S, Lohith YS, and Surya P. CyPhys+ A Reliable and Managed Cyber-Physical System for Old-age Home Healthcare over a 6LoWPAN using Wearable Motes. *IEEE International Conference on Services Computing*, Nueva York, 2015, pp 309-316 (ISBN: 978-1-4673-7280-0).
- [10] Boluda M, Ruiz D. Sistema de Bajo Coste para la Monitorización de la Saturación de Oxígeno. *Sesión de Telemedicina del Congreso Anual de Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*, Barcelona, 2014, pp 1-4

Simulación y desarrollo de una plataforma microfluídica para estudios celulares dinámicos *in vitro*

O. Mitxelena Iribarren^{1,2}, M. Mujika Garmendia^{1,2}, E. Pérez Lorenzo^{1,2}, M.J. Blanco Prieto^{2,3}, S. Arana Alonso^{1,2}

¹ CEIT y Tecnun, Universidad de Navarra, San Sebastián, España, {omixelena, mmujika, eperez, sarana}@ceit.es

² Centro de Ingeniería Biomédica, Universidad de Navarra, Pamplona, España

³ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Universidad de Navarra, Pamplona, España, mjblanco@unav.es

Resumen

*El cáncer es una de las principales causas de mortalidad en el mundo. Actualmente los tratamientos más habituales son la cirugía, quimioterapia o radioterapia, técnicas que han mostrado graves efectos secundarios. El uso de nanopartículas lipídicas para la liberación controlada de medicamentos es una alternativa prometedora para un tratamiento más eficaz y menos agresivo para zonas no tumorales. Sin embargo, la validación *in vitro* de estos vehículos está limitada por el perfil estático de las técnicas actuales. Los dispositivos microfluídicos se presentan como una alternativa dinámica para los ensayos de validación de las nanopartículas. Este trabajo ha optimizado mediante simulación el desarrollo de una plataforma microfluídica fabricada mediante microtecnología, que permite el cultivo celular en una microcámara bajo condiciones tanto estáticas como dinámicas abarcando un amplio rango de flujos.*

1. Introducción

Según la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization, WHO), el cáncer es una de las principales causas de mortalidad en el mundo, habiendo perdido la vida 8,2 millones de habitantes solo en el 2012 [1]. Estudios recientes estiman que esta cifra superará los 13 millones de fallecimientos en 2030, mientras que en el año 2050 habrá 27 millones de nuevos casos de cáncer diagnosticados y se producirán 17,5 millones de muertes asociadas a esta enfermedad [2].

El cáncer se caracteriza por el crecimiento y expansión de células malignas, que puede desarrollarse en la mayor parte de órganos y tejidos del cuerpo [3, 4]. Su tratamiento depende de la zona y el estado de desarrollo del tumor [5]. La cirugía, la quimioterapia o la radioterapia son los tratamientos más utilizados. Sin embargo, estos tratamientos anticáncer convencionales han mostrado severos efectos secundarios a corto y largo plazo, relacionados sobre todo con la falta de especificidad [5-7]. Estas limitaciones, en combinación con la resistencia a los medicamentos que desarrollan ciertos tumores, han mostrado la necesidad de desarrollar tratamientos alternativos, que eviten los efectos secundarios y sean más focalizados en el tumor.

La “terapia dirigida” en combinación con la nanotecnología abre un amplio abanico de posibilidades para el diagnóstico y tratamiento del cáncer. Se basa en emplear distintos vehículos para transportar los

medicamentos de forma específica a la zona dañada y ahí liberarlo controladamente [8]. Entre los distintos nanosistemas, las nanopartículas lipídicas representan una propuesta prometedora para la administración oral de fármacos antitumorales [9, 10]. Estos transportadores son partículas de tamaño nanométrico compuestas por lípidos biodegradables y biocompatibles. Se ha demostrado que favorecen la absorción oral de los fármacos a nivel intestinal evitando así la vía parenteral y aumentando el confort de los pacientes [11, 12], presentando además una mejorada especificidad tumoral y, por tanto, una menor toxicidad.

Sin embargo, hasta la fecha, los ensayos *in vitro* realizados con nanopartículas y células son estudios bajo condiciones estáticas. Esto conlleva la sedimentación de las nanopartículas suspendidas en el medio celular, que provoca la muerte celular por asfixia. Con el objetivo de evitar este efecto, el uso de la microfluídica podría ser un gran avance, pues se ha demostrado que es de gran utilidad en el desarrollo de alternativas tecnológicas con aplicaciones biomédicas con perfil dinámico [13-17].

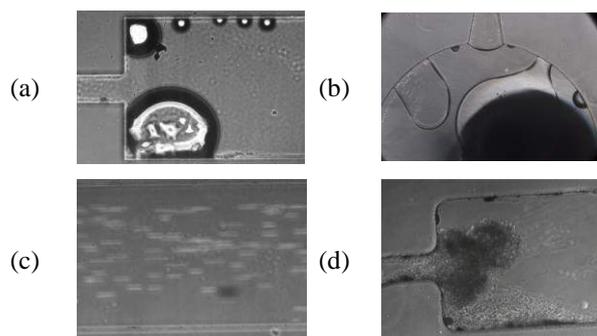


Figura 1. Generación de burbujas en (a) las aristas vivas y (b) las entradas. (c) Exceso de velocidad. (d) Contaminación por restos acumulados en el canal de inserción.

Tal y como han mostrado trabajos realizados anteriormente en este grupo de investigación [18], el uso de sustratos poliméricos constituye una solución efectiva para la fabricación de plataformas microfluídicas que permiten el cultivo y la incubación de células en un entorno bajo condiciones dinámicas altamente controladas. Sin embargo, a la vista de los problemas surgidos durante los ensayos al emplear dichos dispositivos (ver Figura 1), se ha llevado a cabo una optimización de los diseños teniendo

en consideración aquellos aspectos (principalmente geométricos) que resultaron ser fuente de problemas. Este trabajo muestra el proceso de optimización de la geometría y fabricación de dicho dispositivo a través de la simulación, así como su posterior validación experimental.

2. Materiales y métodos

2.1. Diseño, simulación y fabricación del microdispositivo

Para la fabricación de los prototipos se ha partido de un diseño en AutoCAD que consta de una microcámara con dos o tres canales de entrada y otros dos de salida. En los nuevos 53 diseños se han eliminado las aristas vivas y redondeado las cámaras; se ha reducido el diámetro de las entradas y salidas (pasando a tener 0,4, 0,6 o 1mm de radio); se ha aumentado la anchura de los canales y se han hecho independientes unos de otros, para reducir la velocidad de entradas de las células en la cámara y evitar la contaminación por la interconexión de canales.

Con todo ello, la segunda generación de prototipos propuesta en este estudio consta de las geometrías que se pueden observar en la Figura 2: cámaras circulares de diámetro variable (C), cámaras elipsoidales con entradas no graduales (L y E) y cámaras elipsoidales con entradas graduales (H y H*).

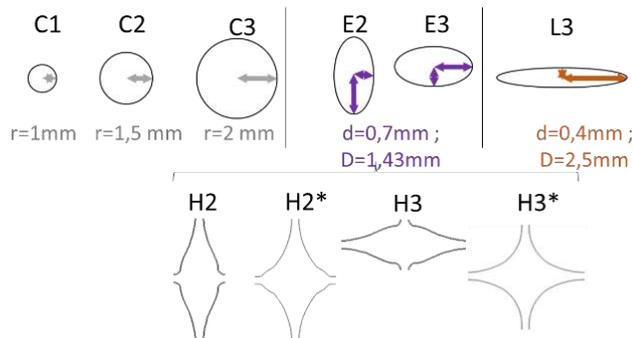


Figura 2. Distintas geometrías de las cámaras de los microdispositivos

Sobre estos diseños se han llevado a cabo simulaciones con la plataforma COMSOL Multiphysics, para estudiar los tiempos de llenado de las distintas cámaras, los perfiles de velocidades de entrada en cámara, las líneas de flujo dentro de los dispositivos o el llenado de la cámara por un flujo de partículas.

Los dispositivos finales se han fabricado en un elastómero denominado polidimetilsiloxano (PDMS). Para su obtención se han empleado las mismas técnicas descritas anteriormente por este grupo de investigación [18].

2.2. Reactivos y setup experimental para ensayos celulares

Se han empleado células de osteosarcoma de la línea U-2 OS (ECACC 92022711, ATCC HTB-96). Las células se han cultivado a 37°C con 5% de CO₂. Como medio se ha empleado RPMI 1640 (Life Technologies) con 10% de suero fetal bovino (Foetal Bovine Serum, FBS) (Life Technologies) y 1% de antibiótico (Life Technologies).

Para los ensayos bajo condiciones dinámicas en los microdispositivos, además del mismo medio, también se ha utilizado etanol al 99% (ICT SL) para la limpieza previa de la cámara y lejía al finalizar los ensayos.

La inserción de las células en la cámara microfluídica (en una concentración aproximada de $7 \cdot 10^4$ céls/ μ l) se ha realizado empleando un “In-line luer injection port” (ibidi) mientras la recirculación de los distintos fluidos empleados en los ensayos se ha realizado con una bomba peristáltica IPC de 12 canales (ISMATEC SA) y tubos poliméricos de Tygon MHS2001 con diámetro interior de 0.38mm. De esta manera se ha podido cubrir un rango de flujos que abarca desde 2.15 μ l/min a 216 μ l/min. El cierre selectivo de los canales se ha realizado mediante diversas llaves de paso de 2 y 3 vías (QOSINA).

Los ensayos se han llevado a cabo en un microscopio de transmisión Nikon Eclipse Ti, con cámara Hamamatsu de alta resolución en blanco y negro y una pletina específica que permite controlar la temperatura y el porcentaje de CO₂ en su interior (Figura 3).

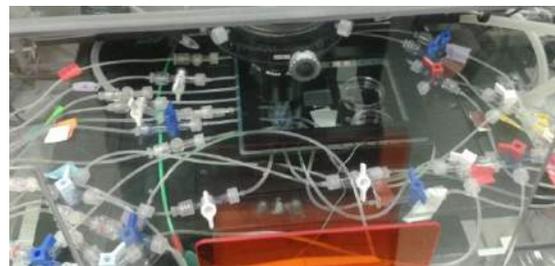


Figura 3. Conexiones fluidicas de los dispositivos dentro de la pletina para incubación con sus respectivos tubos y llaves de paso.

3. Resultados y discusión

3.1. Simulaciones

Las simulaciones realizadas sobre los 53 diseños preliminares de los dispositivos permitieron analizar el llenado de las diversas cámaras, así como la velocidad que adquirirían las partículas en su interior o las líneas de flujo que se formaban a lo largo del dispositivo.

El estudio del llenado de las cámaras (Figura 4) ha permitido identificar las diferentes zonas de las geometrías en las que hay una propensión a la formación de burbujas, lo cual ha llevado a descartar algunos de los diseños propuestos para las cámaras, descartando principalmente las circulares.

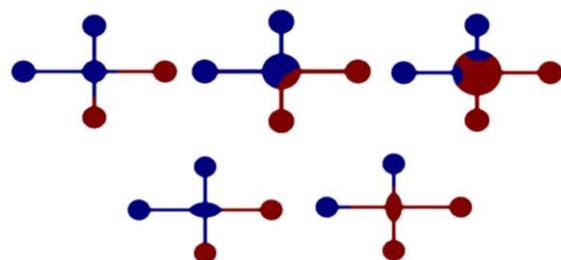


Figura 4. Llenado de la cámara para distintas geometrías, donde el color azul refleja el medio entrante y el rojo, aire.

El análisis de las líneas de flujo dentro del dispositivo y, sobre todo, en los orificios de entrada al mismo ha servido

también para observar el efecto del cambio de diámetro en la formación de burbujas en los *inlets*. Tal y como se puede apreciar en la Figura 5 cuanto menor es el diámetro, menor es la probabilidad de que se generen burbujas de aire, por lo que el diámetro elegido para la fabricación de los dispositivos finales será el *inlet* con 0,4mm de radio.

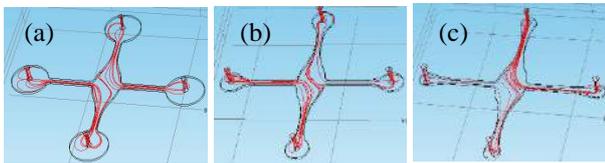


Figura 5. Líneas de flujo dentro de dispositivos elipsoidales con diámetro de la entrada de (a) 1mm, (b) 0,6mm y (c) 0,4mm.

Gracias al estudio de los perfiles de velocidades se ha determinado la configuración óptima de longitud de canal de entrada y gradación en la anchura de la misma, teniendo siempre presente que el objetivo es garantizar un llenado de la cámara homogéneo, fácilmente controlable y a baja velocidad. Es importante que la velocidad sea lo menor posible para lograr que las nanopartículas puedan entrar en contacto con las células durante el periodo de circulación pero al mismo tiempo no depositarse sobre ellas. Según los resultados de la simulación este control parece más factible con la entrada gradual de los canales a la cámara (Figura 6).

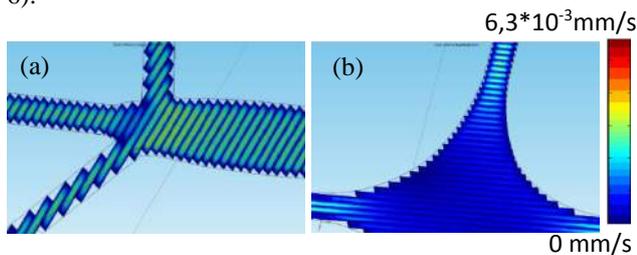


Figura 6. Perfiles de velocidad durante el llenado de la cámara con geometría (a) elipsoidal sin entrada gradual [L3] y (b) elipsoidales con entrada gradual [H3*].

Por último, la simulación de un flujo de nanopartículas entrando en la cámara (Figura 7) ha mostrado que los resultados en cuanto a tiempos de llenado varían significativamente en función de las entradas, geometrías de cámara y longitud de los canales, aunque el llenado final ha sido satisfactorio en la mayoría de los diseños propuestos. Estos resultados, junto con los anteriormente mencionados, han posibilitado, una vez validados experimentalmente, la selección de los valores más adecuados para los parámetros de diseño de los microdispositivos que se utilizarán en los ensayos *in vitro* con nanopartículas.

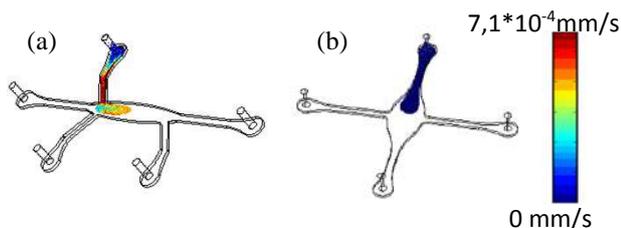


Figura 7. Llenado de la cámara con (a) geometría elipsoidal alargada y entrada lateral o (b) geometría elipsoidal con entrada superior.

3.2. Validación experimental

Para verificar los resultados observados en las simulaciones se han seleccionado los 5 diseños más prometedores para su fabricación y validación experimental: H3 y H3* con canales cortos y largos y L3.

De este modo, siguiendo el proceso de fabricación descrito anteriormente, se han obtenido prototipos con distintas características geométricas de acuerdo con los diseños de esta segunda generación de dispositivos. Dichos prototipos se han utilizado para llevar a cabo los ensayos correspondientes a las simulaciones realizadas a fin de obtener una validación experimental de los resultados obtenidos. En la Figura 8 se pueden observar algunos de los prototipos fabricados en este estudio.

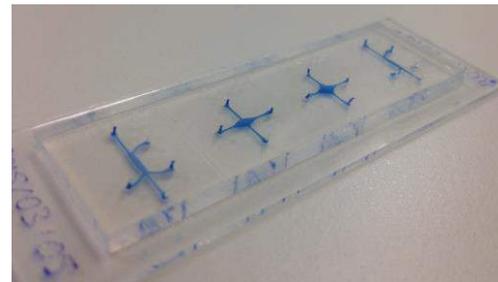


Figura 8. Prototipos de los diseños seleccionados por simulación fabricados en PDMS y vidrio.

Una vez fabricados los prototipos de los diseños optimizados, se han comenzado los ensayos de circulación de medio celular para la evaluación del efecto de las condiciones dinámicas sobre las células en los nuevos dispositivos. Los ensayos realizados constan de cuatro etapas: (i) inserción de células, (ii) adhesión celular bajo condiciones estáticas, (iii) proliferación celular bajo condiciones estáticas o dinámicas y (iv) muerte celular.

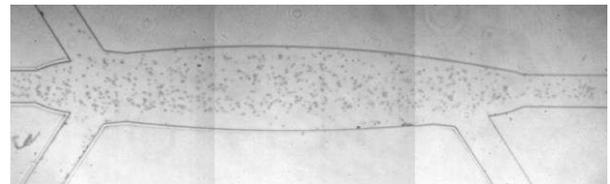


Figura 9. Detalle de las células incubadas en el dispositivo L3'

Los ensayos han mostrado la validez de las simulaciones, pues los resultados obtenidos experimentalmente eran los esperados (Figura 9). Teniendo en cuenta dichos resultados, todo apunta a que la geometría que presenta las mejores características para el futuro estudio *in vitro* del efecto de nanopartículas sobre las células de osteosarcoma son los diseños con menor diámetro en los orificios de entrada ($r=0,4\text{mm}$) y la geometría de la cámara correspondiente al diseño H* (elipsoidales con una apertura desde los canales hacia la cámara). Asimismo, cuanto más corto sea el canal de entrada en la cámara mejor se realiza el llenado de la misma con las células y, por tanto, se realizará con partículas. Además estos diseños aseguran la eliminación de la generación de burbujas por aristas vivas o en los *inlets*, un exceso de velocidad de las partículas o la contaminación por restos acumulados en el canal de inserción.

Hasta la fecha se han llevado a cabo dos tipos de ensayo: un ensayo en los que se ha estudiado el tiempo de supervivencia celular bajo condiciones estáticas sin renovación de medio y el segundo bajo condiciones dinámicas con un flujo continuo de medio a 2.15 $\mu\text{l}/\text{min}$. Tal como se puede apreciar en la Figura 10, las células han sobrevivido durante 210 horas y 35 horas respectivamente. Se ha podido observar que el hecho de tener un flujo constante afecta a las células, si bien en este caso no resulta crítico. Por lo tanto, estos resultados servirán como control para la futura validación experimental y evaluación del efecto citostático de las nanopartículas que se realizarán más adelante.

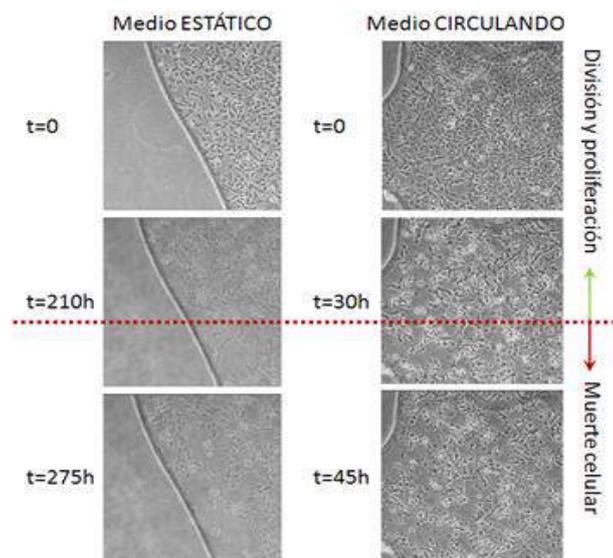


Figura 10. Distintas zonas de la cámara de los diseños optimizados mostrando los resultados obtenidos en el estudio in vitro con medio estático o en circulación.

4. Conclusiones

Se ha optimizado el diseño y fabricación de una microcámara de PDMS y vidrio para estudios celulares bajo condiciones dinámicas de flujo, gracias a los resultados obtenidos por simulación. De este modo se han conseguidos nuevos dispositivos microfluídicos que evitan la generación de burbujas por aristas vivas o en los *inlets*, un exceso de velocidad de las partículas o la contaminación por restos acumulados en el canal de inserción. Al mismo tiempo, estos dispositivos permiten la inserción, adhesión y proliferación de células de osteosarcoma empleando un rango de flujos de 2,15 $\mu\text{l}/\text{min}$ a 216 $\mu\text{l}/\text{min}$. Se ha observado el comportamiento celular esperado con eventos de migración y de división en la monocapa formada por las células sin la aparición de problemas provocados por la geometría.

Agradecimientos

Por último agradecer al Centro de Ingeniería Biomédica de la Universidad de Navarra, a la Asociación Española Contra el Cáncer (CI14142069BLAN) y al proyecto SIMcell DPI2012-38090-C03-D3 (Ministerio de Economía y Competitividad) por proporcionar los medios económicos que han permitido llevar a cabo este trabajo. También agradecer al programa PREDOC del Gobierno Vasco por financiar mi tesis doctoral.

Referencias

1. Página web de CancerResearchUK, Worldwide cancer statistics <http://www.cancerresearchuk.org> (Consultada: Agosto 2015).
2. Página web de la Asociación Española Contra el Cáncer (AECC). <https://www.aecc.es> (Consultada: Agosto 2015).
3. Moscow JA & Cowan KH (2011) *Biology of cancer* (Saunders Elsevier, Philadelphia) 24th Ed.
4. Thun MJ & Jemal A (2011) *Epidemiology of cancer* (Saunders Elsevier, Philadelphia) 24th Ed.
5. Casciato DA (2004) Manual of Clinical Oncology. *The Journal Of The American Medical Association* 291(20):2415-2417.
6. Hanahan D & Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. *Cell* 100(1):57-70.
7. Hanahan D & Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144(5):646-674.
8. Zhang G, Zeng X, & Li P (2013) Nanomaterials in cancer-therapy drug delivery system. *J Biomed Nanotechnol* 9(5):741-750.
9. Estella-Hermoso de Mendoza A, Campanero MA, Mollinedo F, & Blanco-Prieto MJ (2009) Lipid nanomedicines for anticancer drug therapy. *J Biomed Nanotechnol* 5(4):323-343.
10. Lasar-Saracibar B, Estella-Hermoso de Mendoza A, Guada M, Dios-Vieitez C, & Blanco-Prieto MJ (2012) Lipid nanoparticles for cancer therapy: state of the art and future prospects. *Expert Opin Drug Deliv* 9(10):1245-1261.
11. Estella-Hermoso de Mendoza A, Preat V, Mollinedo F, & Blanco-Prieto MJ (2011) In vitro and in vivo efficacy of edelfosine-loaded lipid nanoparticles against glioma. *J Control Release*, (2011 Elsevier B.V, Netherlands), Vol 156, pp 421-426.
12. Estella-Hermoso de Mendoza A, et al. (2012) Complete inhibition of extranodal dissemination of lymphoma by edelfosine-loaded lipid nanoparticles. *Nanomedicine (Lond)* 7(5):679-690.
13. Streets AM & Huang Y (2014) Microfluidics for biological measurements with single-molecule resolution. *Curr Opin Biotechnol* 25:69-77.
14. Khan IU, Serra CA, Anton N, & Vandamme T (2013) Microfluidics: a focus on improved cancer targeted drug delivery systems. *J Control Release* 172(3):1065-1074.
15. Rivet C, Lee H, Hirsch A, Hamilton S, & Lu H (2011) Microfluidics for medical diagnostics and biosensors. *Chemical Engineering Science* 66(7):1490-1507.
16. Riahi R, et al. (2015) Microfluidics for advanced drug delivery systems. *Current Opinion in Chemical Engineering* 7:101-112.
17. Bhise NS, et al. (2014) Organ-on-a-chip platforms for studying drug delivery systems. *J Control Release* 190:82-93.
18. Mujika Garmendia M, et al. (2014) Plataforma microfluídica para estudios celulares dinámicos in vitro. *XXXII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2014)*.

Clasificación de fibrilación auricular mediante variaciones de fase de diferentes transformadas tiempo-frecuencia

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

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

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

³ Departamento de Análisis Matemático, Universitat de València, f.fernand@uv.es, antonio.galbis@uv.es

Resumen

En este estudio se propone la clasificación temprana de episodios de fibrilación auricular (FA) mediante el electrocardiograma de superficie en un conjunto de pacientes heterogéneo (en términos de tratamiento antiarrítmico y estado de progresión de la arritmia). El conjunto de pacientes estudiado refleja un contexto muy similar al que la práctica clínica se encuentra día a día en los centros hospitalarios.

La población estudiada está formada por 129 sujetos aquejados de FA y seleccionados de forma consecutiva (24 paroxísticos y 105 persistentes). Se procedió a extraer y estudiar características de módulo y fase de diferentes transformadas tiempo-frecuencia aplicadas sobre el ECG, señalando a las variaciones de fase como característica clave para la correcta clasificación de los pacientes. Los resultados obtenidos utilizando un clasificador de Análisis Lineal Discriminante sobre dichas características han sido: Precisión=83.5% (sobre el total de pacientes de test), Sensibilidad = 78.6% (episodios de FA paroxística correctamente clasificados), Especificidad = 84.2% (episodios de FA persistente clasificados de forma correcta). Estos resultados apuntan al método presentado como un medio de ayuda al diagnóstico dirigido a electrofisiólogos para elegir y prescribir el tratamiento más adecuado en cada caso para reducir la tasa de recurrencias de la arritmia y ayudar a frenar la progresión natural de la arritmia en un contexto clínico general.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia cardíaca más común en la práctica clínica [1]. La FA se caracteriza por una propagación rápida y de forma desorganizada de las señales eléctricas cardíacas a través de la aurícula. De este modo, aurículas y ventrículos no funcionan coordinadamente, creando así un ritmo cardíaco rápido e irregular.

En la actualidad, y siguiendo las recomendaciones de práctica clínica, los episodios de FA son clasificados acorde a la evolución temporal del episodio de arritmia en diferentes tipos: paroxístico (episodios que pueden remitir de forma espontánea en un periodo de tiempo inferior a 7 días), persistente (episodios recurrentes con paso espontáneo a ritmo sinusal tras una semana del comienzo de la arritmia, o tras más de 48 horas de maniobras de cardioversión) o permanente (pacientes en los que la cardioversión no puede llevarse a término con éxito y el ritmo sinusal no puede ser restablecido).

El control del ritmo en el tratamiento de la FA incluye diferentes tratamientos antiarrítmicos, que pueden ser bien de naturaleza farmacológica, o bien realizarse mediante mecanismos de cardioversión eléctrica, ablación por catéter o ablación quirúrgica. Hoy en día no es posible la diferenciación de los diferentes subtipos de FA mediante la visualización del ECG, por lo que la clasificación de los mismos es realizada a posteriori. Es por este motivo que en el estado del arte pueden encontrarse numerosas referencias que detectan y clasifican episodios de FA mediante el análisis del ECG, especialmente desde la publicación de la base de datos de arritmias en el contexto del congreso internacional Computing in Cardiology 2004 [2]. Algunas referencias relevantes y actuales que han estudiado la clasificación de la FA [3]-[6], empleando cada una de ellas diferentes características para el análisis del ECG.

Sin embargo, hoy en día, pese a que se pueda obtener una adecuada clasificación de los registros de la base de datos de Physionet, los pacientes incluidos en la misma eran muy homogéneos en cuanto a tratamiento antiarrítmico y anticoagulante, por lo que todavía es necesario proponer un método que sea válido en distintos escenarios y en poblaciones más heterogéneas [7]. Por ello, en este trabajo se presenta un estudio para clasificar de forma precoz los episodios de FA según su naturaleza (paroxística o persistente) y ayudar en la elección del tratamiento más adecuado para cada paciente en la práctica clínica.

2. Materiales

La población base de nuestro estudio se compone de 129 pacientes consecutivos con diferentes tipos de FA (24 paroxística, 105 persistente) de los que se registró el ECG en el Hospital Politècnic i Universitari La Fe, de Valencia. El conjunto de pacientes bajo estudio incluye primeros episodios de FA, y episodios recurrentes tratados mediante diferentes tratamientos farmacológicos antiarrítmicos o de cardioversión eléctrica, lo que ofrece una heterogeneidad a la población bajo estudio. La clasificación de los episodios de FA fue realizada acorde a las guías clínicas actuales [1,8], y la duración de los segmentos de ECG analizados (derivación II) fue de 5

segundos, duración común en displays de disposición 6x2 [9].

3. Transformadas tiempo-frecuencia

A pesar de que la transformada de Fourier ha sido ampliamente utilizada para el análisis de señales electrocardiográficas, no es capaz de proporcionar información de la variación del contenido espectral a lo largo del tiempo. Las transformadas tiempo-frecuencia son capaces de solventar este inconveniente y, dado que el ECG es una señal no-estacionaria y la FA presenta propiedades dependientes del tiempo [10], se propone el estudio de diferentes transformadas para realizar la clasificación presentada.

3.1. Wigner-Ville

La distribución Wigner-Ville presentada en [11] viene definida por

$$W_f(\tau, \nu) = \int_{-\infty}^{\infty} f\left(\tau + \frac{t}{2}\right) f^*\left(\tau - \frac{t}{2}\right) e^{-i 2\pi \nu t} dt$$

donde * representa la compleja conjugada [12]. Además, para eliminar interferencias entre las regiones positivas y negativas del espectro, se utiliza la señal analítica asociada

$$z(\tau) = f(\tau) + i H[f(\tau)]$$

donde $H[f(\tau)]$ es la transformada de Hilbert de la señal $f(\tau)$. Esta transformada presenta como ventajas que conserva la energía de la señal, proporciona buena resolución temporal y espectral, así como posibilidad de implementación eficiente computacionalmente [13]. No obstante, el mayor inconveniente que presenta es la aparición de productos cruzados no deseados, debido a la no linealidad de la misma.

3.2. Choi-Williams

Para minimizar la aparición de términos de interferencia en la transformada Wigner-Ville, Choi y Williams propusieron la utilización de un kernel exponencial bidimensional en la transformada [14], quedando:

$$C_f(\tau, \nu) = 2 \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{\sqrt{\sigma}}{4\sqrt{\pi}|t|} e^{\left\{-\frac{\nu^2 \sigma}{16t^2}\right\}} \times f\left(\tau + \nu + \frac{t}{2}\right) f^*\left(\tau + \nu - \frac{t}{2}\right) e^{-i2\pi \nu t} dv dt$$

donde σ es una constante del núcleo que controla la resolución y la disminución de los productos de interferencia.

3.3. Transformada de Fourier en tiempo corto

La transformada de Fourier en tiempo corto (STFT) de una señal f se define como

$$F(\tau, \nu) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) w^*(t - \tau) e^{-i 2\pi \nu t} dt$$

donde w es una ventana centrada en el instante τ . Por tanto, la STFT se obtiene como la transformada de Fourier del producto interno de cada uno de los segmentos de la señal original multiplicados por la ventana w .

Sabemos, por las distintas versiones del principio de incertidumbre, que utilizando un tamaño de ventana fijo no es posible proporcionar simultáneamente buena resolución temporal y frecuencial. Este es el principal inconveniente de la STFT, y uno de los motivos de la presentación de la transformada de Stockwell. Esta última sí que es capaz de proporcionar lo que se denomina una resolución progresiva (buena resolución temporal para eventos de alta frecuencia y buena resolución frecuencial para bajas frecuencias) mediante la utilización de una ventana cuyo tamaño varía en función de la frecuencia, como de detalla en la siguiente sección.

3.4. Transformada de Stockwell

La transformada de Stockwell (ST) fue presentada en 1996 [15] como una herramienta capaz de combinar las ventajas de la STFT y las wavelets, proporcionando información de la variación del contenido espectral y la fase con el tiempo, pero con resolución progresiva. Así, la ST se define como

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

donde g_0 es una ventana Gaussiana. De este modo, la ST puede verse como una STFT en la que la longitud de la ventana varía con la frecuencia, solventándose así el principal inconveniente de la STFT.

No obstante, la implementación de la ST requiere altos requerimientos computacionales y de memoria. Afortunadamente, existen implementaciones eficientes no redundantes de la misma, basadas en esquemas de nuestro diádico como la transformada General Fourier-family (GFT), presentada en 2010 [16], y que es la que hemos utilizado en este estudio.

4. Extracción de características

Tras la eliminación de los ruidos de red y de línea base presentes en los ECGs, procedimos a la extracción de características significativas en nuestro estudio. Para ello, aplicamos las transformadas tiempo-frecuencia de la Sección 3, y calculamos la variación total de la señal y la norma L_1 de la fase de las variaciones para las frecuencias inferiores a 16 Hz (zonal espectral en la que se encuentran las diferencias para la FA).

Así, tras normalizar cada transformada tiempo-frecuencia al rango [0-1], si $\{z_{f1}, z_{f2}, \dots, z_{fN}\}$ denotan los valores de la transformada del ECG normalizada para la frecuencia f a lo largo de las N muestras del eje temporal $[1, N]$, llamaremos a $\sum_{t=1}^{N-1} r_t$ y $\sum_{t=1}^{N-1} |\theta_t|$ variaciones de módulo y de fase, respectivamente, donde $r_t e^{i\phi_t} = z_{f t+1} - z_{f t}$, siendo t el índice de muestra temporal.

A continuación, normalizamos los valores obtenidos por el número de latidos de cada paciente en la señal analizada, para eliminar la variabilidad entre pacientes.

5. Clasificación

En este trabajo proponemos la utilización de un clasificador lineal, debido a sus bajos requerimientos computacionales. Los clasificadores de análisis lineal discriminante (LDA) se basan en la maximización del discriminante lineal de Fisher (definido como el ratio de la varianza entre clases y la varianza intra-clases), de modo que la separabilidad entre clases es también máxima encontrando el plano que mejor separa los vectores de características.

6. Resultados

El conjunto de señales de este estudio está compuesto por los ECGs correspondientes a 129 pacientes aquejados de FA (24 paroxísticos, 105 persistentes), siendo el estado de progresión de la arritmia y los tratamientos suministrados para el control del ritmo heterogéneos.

Puesto que el número de pacientes en cada uno de los grupos no es similar, la técnica de validación cruzada 'leaving-one-out' no es adecuada. Por tanto, el conjunto de pacientes fue dividido en dos grupos: uno para realizar el entrenamiento del clasificador, compuesto por 20 pacientes (10 paroxísticos y 10 persistentes), y el conjunto para testear el clasificador, compuesto de las 109 señales restantes (14 paroxísticos, 95 persistentes).

El clasificador fue entrenado para maximizar la precisión global, definida como la proporción de pacientes correctamente clasificados:

$$\text{Precisión} = \frac{TP}{TP + FP}$$

donde TP hace referencia al número de pacientes correctamente clasificados, mientras que FP es el número de pacientes mal clasificados.

Además, también han sido obtenidos los valores de Sensibilidad y Especificidad (proporción de pacientes paroxísticos o persistentes correctamente clasificados, respectivamente), definidas como

$$\text{Sensibilidad} = \frac{TP_{pa}}{TP_{pa} + FP_{pe}}, \text{Especificidad} = \frac{TP_{pe}}{TP_{pe} + FP_{pa}}$$

donde los subíndices pa y pe hacen referencia a pacientes paroxísticos y persistentes, respectivamente.

A continuación presentamos en la Tabla 1 los resultados de clasificación para el conjunto de test (es decir, excluyendo los pacientes pertenecientes al conjunto de entrenamiento) para las diferentes transformadas tiempo-frecuencia.

En la misma, podemos observar como los mejores resultados se obtienen cuando las características utilizadas en el clasificador son las variaciones de fase obtenidas a lo largo del eje temporal para el conjunto de frecuencias

inferiores a 16Hz, mientras que los resultados para el caso de las variaciones de módulo son mucho peores cuando son la única característica utilizada en la clasificación. Es, por este motivo, que las transformadas Wigner-Ville y Choi-Williams obtienen los peores resultados cuando son las características extraídas de ellas las utilizadas al clasificar, puesto que son transformadas reales y sin información de fase.

	Caract.	Precisión	Sensib.	Especif.
WV	Var. mód	0.5321	0.7857	0.4947
CW	Var. mód.	0.5963	0.5714	0.6000
STFT	Var. mód.	0.6330	0.5714	0.6421
	Var. fase	0.7156	0.9286	0.6842
	Ambas	0.7156	0.9286	0.6842
ST	Var. mód.	0.6239	0.5714	0.6316
	Var. fase	0.8349	0.7857	0.8421
	Ambas	0.8073	0.6429	0.8316

Tabla 1. Resultados de clasificación para el conjunto de test con las características extraídas de las diferentes transformadas tiempo-frecuencia. WV y CW son las transformadas Wigner-Ville y Choi-Williams, Mod. se refiere a módulo, var. a variaciones, y ambas a la utilización de las variaciones de módulo y fase conjuntamente. STFT fue calculada con una ventana gaussiana de tamaño 256 muestras.

Por otra parte, los mejores resultados de clasificación (aproximadamente un 83% de precisión, con medidas de Sensibilidad y Especificidad similares) se obtienen al clasificar utilizando la información procedente de las variaciones de fase extraídas a partir de la implementación eficiente de la transformada de Stockwell (correspondientes a los valores remarcados en negrita en la Tabla 1). Esto se debe a que la fase de la transformada de Stockwell es altamente significativa y contiene mucha información de la señal [17], lo que hace que los resultados se vean altamente afectados cuando no se incluye como característica en el clasificador.

Además, los resultados de clasificación positivos se obtienen pese a la heterogeneidad en términos de tratamiento antiarrítmico y progresión de la arritmia, a diferencia de otras referencias cuyos resultados hacen referencia a cohortes de pacientes de edad similar, misma terapia antiarrítmica, o episodios de FA muy próximos a finalizar y retornar a ritmo sinusal. Dichos entornos no se corresponden, por tanto, con las situaciones diarias de la práctica clínica, a diferencia de los casos estudiados.

7. Conclusiones

En el presente artículo se ha presentado un estudio comparativo que revela a las variaciones de fase de transformadas tiempo-frecuencia como característica clave a la hora de realizar una clasificación de los episodios de fibrilación auricular paroxística y persistente mediante el análisis del electrocardiograma de superficie.

La comparativa incluye diferentes transformadas tiempo-frecuencia relevantes en el análisis y procesado de señal biomédica, y los resultados han sido presentados sobre un conjunto de pacientes heterogéneo en términos de progresión de la arritmia y de tratamiento, incluyendo varios de ellos diversas comorbilidades.

El trabajo futuro se centrará en la mejora de resultados mediante el aumento del número de pacientes del estudio, así como de la longitud de las señales disponibles y profundizar el estudio de la fase.

Agradecimientos

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

Referencias

- [1] Fuster V, Rydén L, Cannom D, Crijns H, Curtis A, Ellenbogen K, Halperin J, Heuzey JL, Kay G, Lowe J, Olsson S, Prystowsky E, Tamargo J, Wann S, Smith S, Jacobs A, Adams C, Anderson J, Antman E, Halperin J, Hunt S, Nishimura R, Ornato J, Page R, Riegel B, Priori S, Linc J, Budaj A, Camm A, Dean V, Deckers J, Despres C, Dickstein K, Lekakis J, McGregor K, Metra M, Morais J, Osterspey A, Tamargo J, Zamorano J. ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation: a report of the American College of Cardiology/ American Heart Association task force on practice guidelines and the European Society of Cardiology committee for practice guidelines (writing committee to revise the 2001 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation): developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *Circulation*, vol 114, sup 7, 2006, pp e257–e354.
- [2] Moody G. Spontaneous termination of atrial fibrillation: A challenge from Physionet and Computers in Cardiology. *Computers in Cardiology*, vol 31, 2004, pp 101-104.
- [3] Alcaraz R, Sandberg F, Sörnmo L, Rieta J. Classification of paroxysmal and persistent atrial fibrillation in ambulatory ECG recordings. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol 58, sup 5, 2011, pp 1441-1449.
- [4] Sandberg F, Stridh M, Sörnmo L. Frequency tracking of atrial fibrillation using Hidden Markov Models. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol 55, sup 2, 2008, pp 502-511.
- [5] Nilsson F, Stridh M, Bollmann A, Sörnmo L. Predicting spontaneous termination of atrial fibrillation using the surface ECG. *Med. Eng. Phys.* Vol 28, sup 2, 2006, pp 802-808.
- [6] Ortigosa N, Cano O, Ayala G, Galbis A, Fernández C. Atrial fibrillation subtypes classification using the General Fourier –family Transform. *Med. Eng. Phys.*, vol 36, sup 4, 2014, pp 554-560.
- [7] Sahoo S, Lu W, Teddy S, Kim D, Feng M. Detection of atrial fibrillation from non-episodic ECG data: a review of methods. *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2011, pp 4992-4995.
- [8] Wann L, Curtis A, January C, Ellenbogen K, Lowe J, Estes N, Ezekowitz M, Slotwiner D, Jackman W, Stevenson W, C.M Tracy; 2011 Writing Group Members VF, Rydén L, Cannom D, Heuzey JL, Crijns H, Lowe J, Curtis A, Olsson S, Ellenbogen K, Prystowsky E, Halperin J, Tamargo J, Kay G, L.Wann; 2006 Writing CommitteeMembers AJ, Anderson J, Albert N, Hochman J, Buller C, Kushner F, Creager M, Ohman E, Ettinger S, Stevenson W, Guyton R, Tarkington L, Halperin J, Yancy C. 2011 ACCF/AHA/HRES focused update on the management of patients with atrial fibrillation (updating the 2006 guideline): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association task force on practice guidelines. *Circulation*, vol 123, sup 1, 2011, pp 104-123.
- [9] Ortigosa N, Giménez VM. Raw data extraction from electrocardiograms with Portable Document Format. *Comput. Meth. Programs Biomed.*, vol 113, sup 1, 2014, pp 284-289.
- [10] Rieta JJ, Alcaraz R. Atrial Fibrillation-Mechanisms and Treatment (Chapter 7: Applications of Signals Analysis to Atrial Fibrillation). Intech, 2013.
- [11] Ville J. Theorie et applications de la notion de signal analytique. *Cables et Transmissions*, vol 2A, 1948, pp 61-74.
- [12] Cohen L. Time-frequency analysis. Boston MA, Prentice Hall, 1995.
- [13] Boanash B, Black PJ. An efficient real-time implementation of the Wigner-Ville distribution. *IEEE Transactions on Acoustics, Speech and Signal Processing*, vol 35, sup 1, 1987, pp 1611-1618.
- [14] Choi H, Williams W. Improved time-frequency representation of multicomponent signals using exponential kernels. *IEEE Transactions on Acoustics, Speech and Signal Processing*, vol 37, sup 6, 1989, pp 862-871.
- [15] Stockwell R, Mansinha L, Lowe RP. Localization of the complex spectrum: the S Transform. *IEEE Trans. Signal Process.*, vol 44, sup 4, 1996, pp 998-1001.
- [16] Brown R, Lauzon M, Frayne R. A general description of linear time-frequency transforms and formulation of a fast, invertible transform that samples the continuous S-transform spectrum nonredundantly. *IEEE Trans. Signal Process.*, vol 58, sup 1, 2010, pp 281-290.
- [17] Guo Q, Malahajloo S, Wong MW. Phases of modified Stockwell Transform and instantaneous frequencies. *J. Math. Phys.*, vol 51, sup 5, 2010, 052101.

Pósters 1

Miércoles 4 de Noviembre

Inducción de la re-celularización con tejido endotelial de un vaso sanguíneo a partir de su matriz extracelular, utilizando células madre de médula ósea diferenciadas *in vitro*

M. M. Cadena Moreno¹, J. M. Rivera Arbeláez¹, P. A. Neuta Arciniegas², J. O. Gutiérrez Montes³

¹ Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Occidente, Cali, Colombia, {margarita.cadena09, riveraa.josemanuel} @gmail.com

² Grupo de investigación en Ingeniería Biomédica G-BIO, Universidad Autónoma de Occidente, Cali, Colombia, paneuta@uao.edu.co

³ Laboratorio de In Vitro, Universidad del Valle, Cali, Colombia, jose.gutierrez@correounivalle.edu.co

Resumen

Este proyecto es un aporte al cómo la ingeniería de tejidos ofrece alternativas esperanzadoras para problemas de salud como la enfermedad cardiovascular, que es la primera causa de muerte en el mundo. Una de las principales enfermedades cardiovasculares es la arterioesclerosis, que genera obstrucción en los vasos sanguíneos y en el peor de los casos, infarto de miocardio. En el proyecto se utilizaron células madre para regenerar el tejido endotelial en el interior de un vaso sanguíneo descelularizado. Los resultados positivos de los ensayos In Vitro muestran el gran potencial de este tipo de investigación, que en el futuro podría ser una alternativa terapéutica, debido a que el paciente podría recibir un vaso sanguíneo natural, quimerizado con sus propias células para evitar rechazo, en lugar de otras alternativas terapéuticas que no resuelven el problema radicalmente.

1. Introducción

La función de transporte de sangre oxigenada y nutrientes es llevada a cabo por las arterias, es posible por sus paredes elásticas que están formadas por tres capas dentro de las cuales se encuentra el endotelio que es la capa más interna.

Cuando no se tiene un estilo de vida saludable se presentan depósitos de sustancias lipídicas en las paredes de las arterias, obstruyendo el flujo regular de la sangre a órganos vitales como el corazón o el cerebro, privándolos de oxígeno y los nutrientes necesarios para su normal funcionamiento. Esta enfermedad se denomina arterioesclerosis y es la principal causa de enfermedad cardiovascular [1].

La arterioesclerosis coronaria genera una disminución en la calidad de vida de la persona produciendo angina y en ocasiones llegando a un infarto de miocardio que puede ser letal. Actualmente, los procedimientos que se realizan para devolver la irrigación al tejido infartado son la angioplastia, la angioplastia con *stent* y el *bypass* coronario, sin embargo ninguno de estos procedimientos contribuye a la reparación del tejido endotelial de la arteria [2].

La posibilidad de lograr la regeneración del tejido endotelial en arterias afectadas por arterioesclerosis permitiría restablecer de manera definitiva el adecuado funcionamiento del sistema circulatorio y una disminución en la tasa de morbi-mortalidad por enfermedades cardiovasculares causadas por la obstrucción de los vasos sanguíneos [3].

Las células madre utilizadas para la regeneración de tejidos dañados por algún tipo de enfermedad o trauma, proporcionan un panorama de investigación muy promisorio por su multipotencialidad, su capacidad de auto-regeneración, su inmunomodulación y las diversas fuentes anatómicas de donde pueden ser obtenidas.

En el proyecto desarrollado se indujo la re-celularización del tejido endotelial de un vaso sanguíneo a partir de células madre extraídas de médula ósea, diferenciadas *In Vitro*, buscando la regeneración del endotelio.

2. Marco teórico

El aparato cardiovascular es un sistema tubular cerrado, formado por el corazón, los vasos sanguíneos y la sangre; su función es transportar nutrientes, gases, desechos, anticuerpos, electrolitos, células sanguíneas, entre otros y regular el pH y la temperatura del cuerpo [4].

El desarrollo embrionario de la formación de la vasculatura se realiza a través de dos procesos: vasculogénesis y la angiogénesis. La vasculogénesis es la formación de vasos sanguíneos de *novo* a través del hemangioblasto putativo. Por el contrario, la angiogénesis implica el surgimiento de nuevos vasos sanguíneos a partir de los vasos preexistentes [5].

El sistema vascular sanguíneo se distribuye y se ramifica en forma sucesiva y en consecuencia se torna cada vez más estrecho; está compuesto por arterias, capilares y venas. Las arterias son los vasos que evacúan la sangre y las venas son los vasos que la devuelven al corazón [6]. Entre los componentes más importantes de los vasos sanguíneos está el endotelio que es el tejido que recubre la zona interna de los vasos sanguíneos, que permite el

intercambio de nutrientes y desechos, además de la circulación del torrente sanguíneo, la fluidez de la sangre y el tono vascular. La pérdida de la función endotelial es la responsable de numerosas enfermedades como la arteriosclerosis, hipertensión arterial, trombosis, hemorragias, etc [7].

2.1. Arterioesclerosis

La arterioesclerosis es una enfermedad degenerativa de las arterias, que las vuelve rígidas y gruesas; una vez que pierden su elasticidad se dificulta la circulación sanguínea con consecuencias muy graves, las placas arterioscleróticas van ocluyendo las arterias hasta taponarlas, las células endoteliales se van deteriorando y se genera un proceso inflamatorio; las células a su vez se llenan de lípidos, principalmente del colesterol LDL, provocando la placa o ateroma que consiste en la acumulación de plaquetas. El riesgo está en que esta placa se puede romper y causar complicaciones cardiovasculares como cardiopatía isquémica, causa principal de muerte por enfermedades cardiovasculares, como se mencionó anteriormente [8, 9, 10].

Dentro de las alternativas de tratamiento para enfermedades de las arterias, se han implementado el manejo convencional con medicamentos y procedimientos de intervenciones percutáneas como la angioplastia para abrir las arterias obstruidas y la cirugía de revascularización o derivación (*bypass*), considerados como un acercamiento óptimo para la mayoría de casos [11], sin embargo, los tratamientos farmacológicos suelen ir encaminados a alteraciones específicas como diabetes e hipertensión y la angioplastia puede producir trombosis, oclusión súbita de la malla implementada, o una re-estenosis que es la recurrencia de una obstrucción a consecuencia del crecimiento de una cicatriz [12].

2.2. Células Madre

Se han explorado técnicas de la medicina regenerativa donde se usan células madre para tratar de reparar el daño de un tejido [13]. Las células madre son células clonogénicas indiferenciadas, con un potencial extraordinario para convertirse en diferentes tipos de células en el cuerpo durante una vida temprana y el crecimiento. Sirven como una especie de reparación interna [14].

Las células madre cuentan con cuatro propiedades o características fundamentales:

Auto-renovación: proceso por el cual una célula madre se divide para generar células madre hijas, que tienen un potencial de desarrollo similar a la célula madre [15].

Diferenciación: capacidad de las células madre de convertirse en uno de los tipos de células especializadas que forman una gran variedad de tejidos y órganos funcionales del cuerpo [16].

Migración: Proceso esencial por medio del cual las células migran y se poseionan en el tejido en el que tendrán efectos funcionales y de protección [17].

Inmunomodulación: Las células madre ejercen importantes funciones inmunomoduladoras al ser capaces de regular la respuesta inmune innata [18].

En las investigaciones más recientes se ha trabajado con las células madre mesenquimales porque se ha comprobado su multipotencialidad y no presentan dilemas éticos en su uso como las embrionarias. Dentro de las células madre adultas se encuentran las obtenidas de la médula ósea, que se han convertido en el objeto de investigación cada vez más intensa, que parecen conservar una amplia capacidad de diferenciación *In Vitro* [19].

Entre las células madre de médula ósea se tienen las células madre hematopoyéticas (HSC), las células madre mesenquimales (MSC), y recientemente las células progenitoras adultas multipotenciales (MAPC) que generan principalmente hueso, cartílago, adipocitos, células de soporte y tejido fibro-conectivo [20]. La diferenciación que sufren las células madre consta de una serie de etapas a través de las cuales la célula va adoptando las características del tipo al que se induce la diferenciación, por medio de la adición de los factores de crecimiento y medios adecuados de acuerdo al tejido deseado [21].

2.3 Descelularización

En los vasos sanguíneos se puede aplicar una técnica denominada descelularización, que consiste en dejar el vaso sanguíneo solo con la estructura proteica de sostén y en la parte interna sin ninguna célula viva. El procedimiento comprende la exposición del tejido a una solución hipotónica o hipertónica, en condiciones tales que se produzca la lisis celular [22, 23].

3. Metodología

El procedimiento a seguir se ilustra en la figura 1, en la que para cada una de las etapas de descelularización, cultivo y re-celularización, se explican los tiempos requeridos, las condiciones de esterilidad, temperatura y en la etapa final las r.p.m. necesarias para obtener la adherencia de las células endoteliales a la matriz extracelular. Se probaron dos protocolos de descelularización y se procesaron controles para tener parámetros de comparación.

4. Resultados

Los resultados en cada una de las etapas estuvieron ligados a las condiciones de temperatura y esterilidad que se debían garantizar, a continuación se detalla para cada uno de los casos:

En la extracción de vasos sanguíneos, se obtuvieron la arteria coronaria descendente y 2 arterias más del corazón de un cerdo sacrificado con fines alimenticios, las cuales se dividieron en 6 partes iguales (ver figura 2A).

Al realizar la descelularización con NaCl 3M y SDS 2%, se encontró que con los dos métodos era posible obtener la descelularización completa, sin embargo existe una diferencia de tiempo considerable entre ellas, razón por la

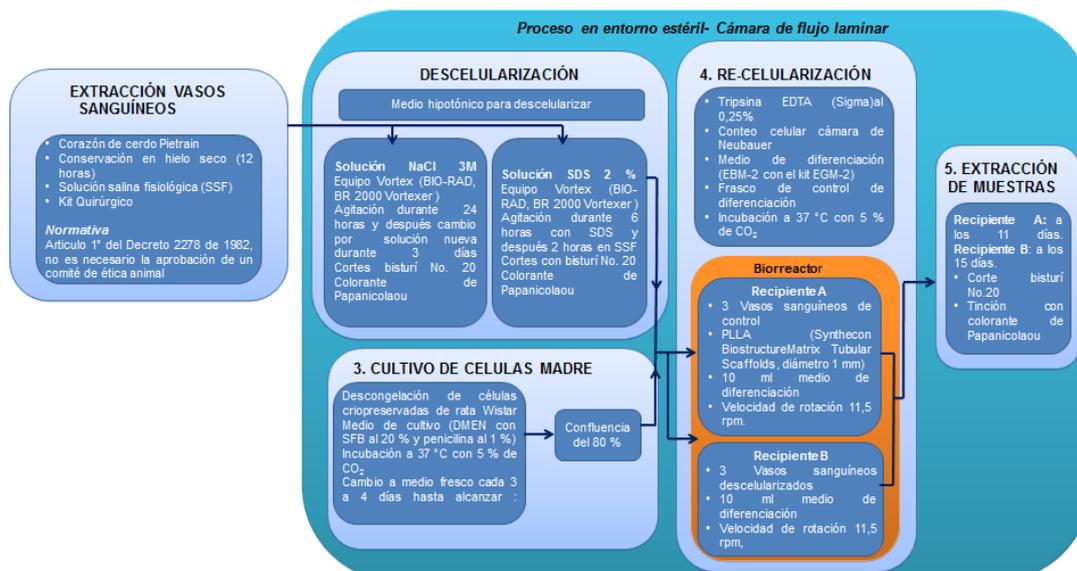


Figura 1. Metodología del proceso

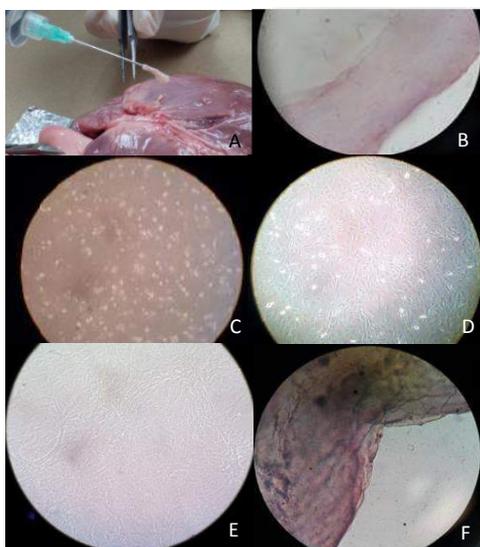


Figura 2. Extracción de vasos sanguíneos(A), vaso sanguíneo descelularizado (B), adherencia de células 24 h después de iniciar el cultivo(C), células MSC confluencia del 80 % (D), células en medio de diferenciación a endotelio (E) y células en medio de diferenciación a endotelio (F).

cual se estandarizó la técnica con SDS 2% para ser la empleada, la cual requiere el menor número de intervenciones, disminuyendo los riesgos de contaminación y permite alcanzar el objetivo en un menor tiempo.

El resultado de la tinción de Papanicolaou, evidencia que no hay células, ya que no se visualizaron núcleos, solo la matriz de colágeno del vaso sanguíneo con su característica de superficie rugosa (ver figura 2B).

Las células madre mesenquimales (MSC) se pusieron en cultivo y a las 24 horas se hizo el primer cambio de medio; se revisó la adherencia de las células, resultado que fue positivo en 2 de los 3 frascos de cultivo (ver figura 2C). A los 9 días de la expansión alcanzó una confluencia del 80 % (ver figura 2D). Conteo celular 8.250.000 células – 358.695 MSC/ ml.

Al octavo día de cultivo en el medio de diferenciación a endotelio, las células del frasco de control comenzaron a mostrar modificaciones en su morfología (ver figura 2E).

Las células puestas en el recipiente del biorreactor con la matriz de PLLA y los 3 vasos de control se encontraron contaminadas el undécimo día, por lo que se extrajeron inmediatamente para visualizar los resultados. La tinción mostró en el microscopio en 100X, que tanto en el PLLA como en los vasos de control habían células endoteliales (ver figura 2F). En los vasos control, se visualizaron los núcleos y estructura en formas alargadas características de las células endoteliales confirmando que dentro del biorreactor se mantienen vivas y en el caso del PLLA, se confirmó la adherencia y diferenciación a células endoteliales. Se confirmó la re-celularización y la diferenciación a endotelio dentro del biorreactor después de 15 días en la matriz extracelular de un vaso sanguíneo, al observarse núcleos alargados y una distribución organizada de las células endoteliales (ver figura 3).

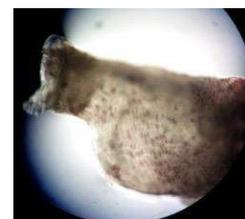


Figura 3. Vaso sanguíneo re-celularizado.

5. Conclusiones

En esta investigación la extracción del vaso sanguíneo se realizó del corazón de un cerdo sacrificado con fines alimenticios; para una posterior investigación en humanos, los protocolos de extracción de células, vasos y en general todos los procedimientos, deberán garantizar esterilidad absoluta.

En la investigación la contaminación generó la extracción anticipada de la matriz de PLLA y los vasos sanguíneos de control, interrumpiendo la continuidad en el

crecimiento celular que ya había alcanzado la adherencia y la diferenciación. La adherencia de las células al vaso sanguíneo en la investigación era el objetivo, sin embargo la ubicación de ellas no, por ello en procesos futuros se debe buscar como bloquear la capa externa del vaso sanguíneo, para garantizar la re-celularización únicamente en la luz del vaso.

Para visualizar los resultados se realizaron cortes con bisturí quirúrgico No. 20 con el cual el espesor de corte fue impreciso, ocasionando que no se pudiera establecer un área de sección para calcular el número de células en la placa histológica. Por ello para una posterior investigación se debe usar un micrótopo que garantice cortes adecuados y precisos.

El trabajo desarrollado demuestra que la matriz extracelular de un vaso sanguíneo tolera los procesos de des-celularización conservando su estructura y las características que le permiten soportar el crecimiento celular, lo que se evidenció por la adherencia, proliferación y diferenciación de las células madre con que fue sembrada.

Las células madre que son capaces de diferenciarse después de adherirse a la matriz extracelular, ofrecen una buena fuente celular para el proceso de quimerización del andamiaje. Estas células son fáciles de obtener de un individuo adulto, se expanden de manera sencilla y rápida y son capaces de diferenciarse al ser puestas en el medio de cultivo adecuado. La capacidad de un tejido de ser quimerizado abre la puerta a una nueva aplicación en medicina regenerativa que permitirá aprovechar como andamiajes las estructuras de soporte de los tejidos, para ser reconstruidos con las células del receptor y de ese modo disminuir el rechazo a implantes.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo a la Universidad Autónoma de Occidente por proveer las instalaciones, los laboratorios y el personal, al igual que a la Universidad del Valle con el laboratorio de In Vitro.

Referencias

[1] ANAIZ, Jorge, Anatomía Humana. Vasos Sanguíneos. Página web del Valparaíso: Universidad Pontificia Católica, 2006. <http://www.anatomiahumana.ucv.cl/morfo2/vasos.html>. (Consultado: 14 Agosto 2013).

[2] VALDEPEÑAS L, Moya F. Prevención Primaria De La Arteriosclerosis, editores. Comunicación Gráfica. Madrid; 2009. p. 29-53.

[3] MEDINE PLUS. Arteriosclerosis. Página web del EEUU, Medina Plus. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/atherosclerosis.html>. (Consulta: 15 Agosto 2013)

[4] ROGER, Kara. The Human Heart. In: The Cardiovascular System (2011). p.21

[5] JACKSON, Kathy y GOODELL, Margaret. Capitol 23: Generation and Stem Cell repair of cardiac tissue. En: SELL, S. Stem Cells Handbook. New Jersey: Humana Press, 2004. p. 260.

[6] GASTON, Mariano, El endotelio vascular. En: Revista selva. Buenos Aires, Argentina, 2008

[7] JIMÉNEZ, María Alba Jiménez. Arteriosclerosis. España, Madrid. Página web de la Universidad de Alcalá de Henares, Revista Salud al día. <http://www.webconsultas.com/arteriosclerosis/arterioesclerosis-3240>. (Consultado: 28 Agosto 2013).

[8] HERREROS, Benjamín y BANDRES, Fernando. Análisis de los factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares. En: Prevención primaria de arteriosclerosis (2009).P 51.

[9] DISFUNCIÓN ENDOTELIAL. En: Revista Española de Cardiología, Barcelona, España, Marzo 2010, Vol. 6 Núm. Supla DOI: 10

[10] Página web del Geos Salud, Arteriosclerosis 2010. <http://geosalud.com/Enfermedades%20Cardiovasculares/arteriosclerosis.htm>. (Consultada: 11 Agosto 2013).

[11] Patina web del Texas Heart Institute. Enfermedad arterial coronaria. http://www.texasheartinstitute.org/HIC/Topics_Esp/Cond/cad_span.cfm. (Consultada 11 Agosto 2013).

[12] What are stem cells, and why are they important. Página web del Stem Cells Primer. <http://stemcells.nih.gov/staticresources/info/basics/SCprimer2009.pdf>. (Consultada 20 de Septiembre 2013).

[13] WEISSMAN, Irving. Stem Cells: Units of Development, Units of Regeneration, and Units in Evolution. En: Cell. Enero, 2000, vol. 100, p. 157.

[14] CHAPMAN, Audrey; FRANKEL, Mark y GARFINKEL, Michele. Stem Cell Research and Applications: Monitoring the frontiers of Biomedical Research. Reporte producido por: The American Association for the Advancement of Science and the Institute for Civil Society. Washington, 1999. p. 1.

[15] SHENGHUI HE, Daisuke Naked, and Sean J. Morrison, Mechanisms of Stem Cell Self-Renewal, 2009

[16] HOCHEDLINGER, K (2010). Your Inner Healers: A Look into the Potential of Induced Pluripotent Stem Cells. Scientific American, a Division of Nature America. May, 2010.

[17] TAKAHASHI, K., Yamanaka, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell 126:663-676.

[18] LUSTER, AD, Alone R, von Adrian UH. Immune cell migration in inflammation: Present and future therapeutic targets. Nata Imanol 2005; 6:1182-1190

[19] ARGUEDAS, Samuel y RODELLAR, Clementina. Análisis de la capacidad inmunomoduladora y antiinflamatoria de las células madre mesenquimales.

[20] ORDÁS, Ingrid; BOSCH, Elena; PANÉS, Julián. Tratamiento con células madre para la enfermedad de Crohn. En: Medicina Universitaria 2010; 12(47):120-124.

[21] TAKAHASHI, IL, Anderson.DJ, Gage F Op. cit., p.126

[22] DOMEN, Jos; WAGERS, Amy y WEISMANN, Irving. Bone Marrow (Hematopoietic) Stem Cells. In: Cell. p. 19-20.

[23] STAPLETON TW, Ingram J, Katta J, Knight R, Korossis S, Fisher J, et al. Development and characterization of an acellular porcine medial meniscus for use in tissue engineering. Tissue Eng Part A 2008; 14(4):505-518. [PubMed: 18370607].

Distribución geográfica y temática de la enseñanza de la Ingeniería Biomédica en España

A. Malanda Trigueros, R. Cabeza Laguna, J. Rodríguez Falces

Dpto. Ingeniería Eléctrica y Electrónica, Universidad Pública de Navarra, España, malanda@unavarra.es

Resumen

La Ingeniería Biomédica (IB) ha experimentado un auge espectacular en las últimas décadas y representa en la actualidad un sector económico e industrial de primera magnitud en todo el mundo. La investigación y la enseñanza de estas disciplinas han posibilitado este desarrollo. En este trabajo se analiza la situación actual de la formación universitaria en IB en España desde dos perspectivas: geográfica y temática. Para ello se han escrutado los programas de máster y grado ofrecidos por las Universidades españolas y los de un representativo conjunto de Universidades del resto del mundo, y se han desglosado por áreas temáticas y comparado las asignaturas de estos programas. Asimismo se han recogido datos sobre la actividad empresarial e investigadora del sector en España.

El estudio refleja una distribución geográfica poco homogénea de la actividad en IB en España, concentrada fundamentalmente en el cuadrante noreste de la Península. También revela un mayor esfuerzo educativo en las Universidades españolas frente a las de otros países en varias materias: procesado de bioseñales, robótica y control automático, sistemas de información clínicos y técnicas estadísticas de ayuda al diagnóstico. Finalmente, el estudio muestra una correlación importante entre el número de empresas con áreas de actividad específicas en el sector y el esfuerzo educacional en estas áreas, aunque no tanto con el de la investigación.

1. Introducción

Desde un punto de vista empresarial, la Ingeniería Biomédica (IB) constituye un sector industrial de creciente envergadura que mueve en el mundo más de 200.000 millones de Euros y crece un 4% anual [1]. En Europa esta cifra alcanza alrededor de 100.000 millones de Euros [2]. En España, tras mantener un nivel de facturación en crecimiento moderado en el período 2005-2009, se ha visto reducida su actividad en torno al 3% en 2011, hasta llegar a los 7.700 millones de euros, según las estimaciones realizadas en el estudio FENIN de 2011 [3]. En cuanto al número de personas trabajando en el sector, en Estados Unidos la cifra estimativa en 2009 era de 409.200 (Bureau of Labor Statistics) [4]. En Europa se cifran en 575.000 [1]. En España, el dato de 2009 es de 32.000 empleos directos [2]. A éstos habría que añadir alrededor de otros 80.000 más, considerados indirectos [2].

El sector de la tecnología médica basa su extraordinario crecimiento y rentabilidad en la incorporación de tecnología

nueva desarrollada en cualquier ámbito de la ingeniería. Es, por tanto, un sector muy basado en la investigación y en la innovación. Desde un punto de vista académico, se pueden encontrar programas de estudio de IB en centenares de Universidades en todo el mundo. En concreto, un dato estimativo reportado en 2011 es de 704 Universidades [5].

En este trabajo se analiza la enseñanza universitaria en IB en España en un doble contexto: geográfico y temático. Por un lado se estudia cómo se distribuyen geográficamente los programas de estudio de IB, incluyendo también a las empresas y centros de investigaciones en el sector. Por otro lado, se investiga sobre el número de asignaturas en distintas áreas de la IB, en comparación con el de otras Universidades del mundo. Asimismo se analiza si esta distribución temática guarda relación con el número de empresas y centros de investigación con actividad en estas áreas, existentes en nuestra geografía. El fin último que se persigue es el de ofrecer una visión panorámica sobre la enseñanza en IB en nuestro país, que permita la detección de posibles carencias, desajustes y oportunidades.

2. Material

Se examinaron los planes de estudio de los Grados y Másteres en IB ofertados en Universidades españolas [6]:

- Grado: Politécnica de Madrid, Carlos III de Madrid, Pompeu-Fabra, U. Barcelona, Politécnica de Cataluña, Politécnica de Valencia, San Pablo-CEU, Europea de Madrid, U. Sevilla conjuntamente con U. Málaga, U. Navarra, U. Mondragón y U. Vic.
- Máster: Politécnica de Madrid, U. Barcelona conjuntamente con la Politécnica de Cataluña, U. Valencia conjuntamente con Politécnica de Valencia, U. Zaragoza, U. Navarra, Pública de Navarra, U. País Vasco, U. Extremadura y Católica de Murcia.

Asimismo se consultaron a través de la web los programas de un conjunto de Universidades extranjeras repartidas por todo el mundo, tratando de encontrar un espectro amplio en cuanto a tipos de países (tamaños, regímenes políticos, economías y localización geográfica) y niveles académicos de las Universidades. Al final fueron incluidas en el estudio 16 programas de grado y 15 de máster:

- Grado: Politecnico di Torino, Tras os Montes e Alto Douro, University College London, Alabama (Birmingham), Houston, New Jersey Institute of Technology, Melbourne, Keniatta University,

Makerere (Uganda), Witwatersrand (Rep. Sudafricana), Córdoba (Argentina), Unitec (Honduras), Hong Kong, Hanyang (Korea), Khalifa University (EAU), Yeditepe (Turquía).

- Máster: Paris Descartes conjuntamente con Paris Tech, RWTH Aachen, Tzech University Prague, Trinity College Dublin, Columbia, Duke, Ohio State, Virginia, Melbourne, Cape Town, Federal de ABC-Sao Paulo, Nacional de Colombia, Hong Kong Polytechnic, Indian Institute of Technology Bombay, National University of Singapore.

La información recabada fue la duración de los estudios y el número de asignaturas ofertadas por cada programa, repartidas por materias. (Ver tablas 2 y 3).

Por otro lado, se hizo una búsqueda a través de la web de empresas del sector de la IB ubicadas en España, incluyendo sólo aquellas con actividad de diseño, desarrollo y/o fabricación en el ámbito nacional. Al final fueron incluidas en el estudio 62 empresas, cuya actividad fue enmarcada en una o varias de las áreas temáticas en que el sector de la IB fue dividido para este estudio. (Ver Tabla 4).

También se hizo otro estudio a través de la web, contabilizando los centros de investigación, excluidas universidades, cuya actividad científica incluye total o parcialmente la IB, así como grupos de investigación universitarios cuya área principal de investigación es la IB, de los cuales se intentó extraer el dato del número de científicos vinculados a ellos. Todos estos datos se desglosaron según las áreas temáticas referidas en el párrafo anterior.

3. Métodos

Para el análisis comparativo de los planes de estudio de las Universidades, éstas fueron repartidas en tres grupos:

- Grupo A: Universidades ubicadas en Norteamérica, Europa, excluida España, y Oceanía;
- Grupo B: Universidades ubicadas en América Central, Sudamérica, África y Asia;
- Grupos C: Universidades españolas.

En relación a cada materia se computaron las medias y desviaciones típicas del número de asignaturas impartidas en cada uno de los tres grupos de Universidades. Asimismo se compararon los datos de los tres grupos mediante la técnica ANOVA de un solo factor, con un nivel de confianza de 0.95, utilizando el programa Minitab (versión 13).

4. Resultados

4.1- Análisis geográfico

En la Tabla 1 se recogen por comunidades autónomas el número de Universidades, grupos de investigación (incluidos número de investigadores), centros de investigación (incluidos número de investigadores) y empresas con actividad en el sector. Se puede apreciar que casi toda la actividad se concentra en Madrid, Cataluña, País Vasco, Valencia y Aragón.

4.2- Análisis temático

En las Tablas 2 y 3 se recoge el número de asignaturas ofertadas por las Universidades de los tres grupos en las distintas materias analizadas para los grados (Tabla 2) y para los másteres (Tabla 3).

En la Tabla 4 se recoge el número empresas, grupos de investigación (incluidos número de investigadores) y centros de investigación, desglosados por áreas temáticas. Se ha calculado el coeficiente de correlación (CC) entre algunas de las variables de esta Tabla. Vemos que existe

	Num. empresas	Num. programas universitarios		Grupos de investigación		Centros de investigación	
		Grados	Másteres	Núm.	N. investigad	Núm.	N. investigad
País Vasco	15	2	2	¿?	¿?	2	83
Cataluña	14	4	2	14	173	3	300
Madrid	13	4	2	7	154	1	157
Aragón	6	0	1	8	117	1	123
Valencia	4	1	1	5	50	4	252
Andalucía	4	1	0	6	54	0	0
Navarra	3	0	1	1	15	0	0
Galicia	2	0	0	0	0	1	14
Castilla León	0	0	0	4	57	0	0
Murcia	0	0	1	2	15	1	¿?
Canarias	0	0	0	2	18	0	0
Castilla La Mancha	0	0	0	1	11	0	0
Cantabria	0	0	0	1	6	0	0
Extremadura	0	0	1	0	0	0	0
Baleares	1	0	0	0	0	0	0
Total	62	12	11	52	670	13	929

Tabla 1. Actividad académica, de investigación y empresarial en IB en España desglosada por comunidades autónomas (¿? indica que no ha podido hallarse el dato buscado).

		Grupo A	Grupo B	Grupo C
Duración (años)		3.43 (0.53) (*)	4.11 (0.60)	4 (0)
Áreas temáticas fundamentales	Matemáticas	3.86 (1.21)	5.00 (2.60)	3.33 (0.89)
	Estadística	0.86 (0.90)	1.11 (0.60)	1.00 (0.60)
	Física	2.71 (1.80)	3.11 (1.62)	2.58 (1.24)
	Química/Bioquímica	3.43 (2.70)	2.22 (1.30)	2.25 (0.75)
	Biología	1.57 (2.15)	1.22 (0.67)	1.67 (0.65)
	Anatomía y fisiología	1.29 (0.95)	2.67 (1.87)	2.08 (0.90)
	Informática	1.43 (1.13)	1.67 (1.00)	2.83 (2.41)
	Electricidad, electrónica e instrumen	2.00 (1.41)	4.56 (4.19)	2.17 (1.59)
	Biomecánica	2.86 (2.03) (*)	0.78 (0.67)	1.25 (0.87)
	Biomateriales	2.43 (3.99)	0.67 (0.50)	1.33 (0.78)
	Teoría de señales y control	0.43 (0.79) (*)	2.11 (1.17) (*)	1.33 (1.07)
	Bioelectricidad	0.43 (0.79)	0.56 (1.01)	0.58 (0.79)
	Teoría y sistemas de comunicac	0 (0)	0.33 (0.70)	0.67 (1.44)
Expresión gráfica	0.43 (0.53)	0.44 (1.01)	0.33 (0.65)	
Gestión de empresas/proyectos	0.86 (1.07) (*)	2.00 (1.22) (*)	1.58 (0.90)	
Áreas temáticas tecnológicas y de aplicación	Instrum y sensores biomédicos	1.57 (0.79)	3.56 (3.43)	2.67 (2.02)
	Procesado de señal	0.57 (0.53)	0.22 (0.44)	1.17 (0.58) (*)
	Imágenes médicas y procesado	1.43 (1.81)	1.11 (1.17)	2.17 (0.59)
	Micro y nanotecn.	0.57 (0.98)	0.22 (0.44)	0.50 (0.67)
	Robótica y control	0 (0)	0.11 (0.33)	0.58 (0.67) (*)
	Rehabilit. y ayuda a discapacidad	0.71 (0.95)	0.44 (0.53)	0.25 (0.45)
	Sistemas de info clínica y telemedic	0 (0)	0.11 (0.33)	1.58 (2.07) (*)
	Modelización de sistemas fisiológ	1.00 (1.00)	0.67 (0.87)	0.67 (0.78)
	Bioinformá y biología computac	0.57 (0.79)	0.22 (0.44) (*)	1.33 (0.89) (*)
	Métodos de decisión diagnóstica	0 (0)	0 (0) (*)	1.0 (1.48) (*)
	Ingeniería clínica y legislación	0.29 (0.49)	1.44 (2.01)	1.41 (1.24)
	Ingeniería tisular y regenerativa	0.43 (0.79)	0.11 (0.33) (*)	0.75 (0.62) (*)

Tabla 2. Medias y desviaciones (entre paréntesis) de la duración y el número de asignaturas ofertadas en los grados de IB por las Universidades de los grupos A, B y C, desglosadas por materias. En cada fila un asterisco (*) en una sola casilla indica que la media correspondiente a esa casilla es significativamente mayor o menor que las medias de las otras dos casillas de la fila. Dos asteriscos en casillas distintas de una misma fila indican que la media de una de estas casillas es significativamente menor que la media de la otra casilla.

		Grupo A	Grupo B	Grupo C
Duración (años)		1.67 (0.50)	1.67 (0.41)	1.28 (0.39)
Áreas temáticas fundamentales	Fisiología patología	1.67 (1.22)	1.17 (0.75)	1.22 (0.97)
	Biología celular y tisular	0.78 (0.97)	0.83 (0.98)	0.89 (0.78)
	Bioelectricidad	1.11 (1.61)	0.50 (0.84)	0.67 (0.50)
	Bioestadística	0.33 (0.50)	0.83 (0.75)	0.33 (0.50)
Áreas temáticas tecnológicas y de aplicación	Bioinstrum. y sensores	2.44 (2.45)	1.50 (2.26)	3.44 (1.67)
	Procesado bioseñales	0.56 (0.88) (*)	0.67 (0.51)	1.28 (0.83)
	Imagen médica	3.89 (3.82)	1.50 (1.22)	1.50 (0.94)
	Biomecánica	2.56 (3.40)	1.67 (0.82)	1.78 (1.87)
	Biomateriales	0.78 (0.67)	1.00 (0.89)	0.72 (0.36)
	Micro y nanotec	0.89 (1.36)	1.00 (1.10)	0.78 (1.09)
	Robótica y control	0 (0) (*)	0.17 (0.41)	0.33 (0.50) (*)
	Ing. neuronal y de rehab.	2.00 (3.57)	0.83 (0.75)	0.78 (0.67)
	Sist. Info sanitarios y telemedicina	0.11 (0.33)	0 (0)	1.22 (1.09) (*)
	Modelización de sist fisiol	0.89 (1.62)	1.00 (1.26)	0.78 (0.97)
	Bioinformática y biología computacional	1.33 (1.50)	0.67 (0.82)	1.22 (1.09)
	Métodos estadísticos de ayuda diagnóst	0.11 (0.33)	0 (0) (*)	0.44 (0.53) (*)
	Ing tisular y regenerativa	2.56 (2.18) (*)	0.50 (0.55)	0.61 (0.70)
Ing. clínica, bioética y legislaci	1.11 (0.78)	0.50 (0.55)	0.33 (0.71)	

Tabla 3. Medias y desviaciones (entre paréntesis) del número de asignaturas ofertadas en los másteres de IB por las Universidades de los grupos A, B y C, desglosadas por materias. En cada fila un asterisco (*) en una sola casilla indica que la media correspondiente a esa casilla es significativamente mayor o menor que las medias de las otras dos casillas de la fila. Dos asteriscos en casillas distintas de una misma fila indican que la media de una de estas casillas es significativamente menor que la media de la otra casilla.

	Num. empresas	Num. asignaturas		Grupos de investig.	Centros de investig.
		Grados	Másteres		
Instrumentación y dispositivos	34	2.67	3.44	11	7
Biomecánica	18	1.25	1.78	11	6
Informática médica y eSalud	16	1.58	1.22	19	4
Procesado de señal e imagen	9	3.34	2.78	24	11
Rehabilitación y ergonomía	9	0.25	0.78	14	8
Robótica	4	0.58	0.33	7	4
Seguridad radiológica y EM	3			3	1
Ayuda a la decisión diagnóstica	3	1.0	0.44	14	5
Adquisición de imagen médica	3	2.17	1.50	6	2
Bioinformática y modelado computac	1	1.33	1.22	11	6
Tecnologías ópticas	1			3	2

Tabla 4. Actividad académica, de investigación y empresarial en IB en España desglosada por áreas temáticas (no excluyentes)

una correlación apreciable entre el número de asignaturas impartidas en grados y másteres con el número de grupos de investigación (CC de 0.68 y 0.63, respectivamente), y con el de centros de investigación (CC de 0.57 y 0.65, respectivamente). También la hay entre el número de asignaturas impartidas en los másteres y el número de empresas (CC=0.76), pero es menor entre el número de empresas y los grupos y centros de investigación (CC de 0.41 y 0.39, respectivamente).

5. Discusión y conclusiones

- Casi toda la actividad empresarial, educacional y científica de la IB en España se concentra en Madrid, Cataluña, País Vasco, Valencia y Aragón, esto es en el cuadrante noroeste peninsular, quedando amplias zonas sin apenas actividad. Estos datos coinciden en gran medida con los de un estudio similar presentado por la FENIN en el año 2012 [7].
- La duración de los grados en las Universidades del Grupo A es significativamente menor que las del resto de grupos. Su media, 3.43, indica que son más las Universidades con grados de 3 años, que las de 4. En España la duración de los grados oficiales viene fijada por decreto ministerial en 4 años, lo cual nos acerca más al Grupo B de Universidades.
- En España algunas materias tecnológicas y de aplicación reciben comparativamente mayor esfuerzo educacional (número de asignaturas) en grados y másteres que en los grupos de Universidades A y B: procesado de bioseñales, robótica y control automático, sistemas de información clínicos y técnicas estadísticas de ayuda al diagnóstico. Sin embargo, no parecen menos cubiertas las materias fundamentales en comparación con los otros dos grupos.
- El Grupo B de Universidades lidera el esfuerzo educacional en la temática de gestión de empresas, proyectos y emprendimiento, lo cual refleja un mayor interés en estas cuestiones por parte de las economías emergentes y en vías de desarrollo, frente a otras más consolidadas del Viejo y el Nuevo Mundo.
- El número de empresas con actividad en distintas áreas de la IB guarda una correlación notable con el número de

asignaturas relacionadas con dichas áreas e impartidas en los másteres.

- La correlación entre la actividad empresarial en distintas áreas temáticas y el número de grupos y centros de investigación no es muy alta.
- Los resultados y conclusiones vienen necesariamente limitados y sesgados por las universidades que se han seleccionado en el estudio, así como por los datos sobre las empresas y grupos de investigación en España, que, aunque buscados de forma sistemática, pueden ser incompletos. Estas limitaciones podrían mejorarse en futuros trabajos.

Referencias

- [1] <http://www.redaccionmedica.com/secciones/tecnologia/cat/aluna-impulsa-un-cluster-tecnologico-1211>
- [2] Dato aportado por EUCOMED en 2012, tomado de WHO Global Health Expenditure Database, Eurostat, <http://www.eucomed.org/facts-figures>
- [3] Federación Española de Empresas de Tecnología Médica (FENIN). Memoria anual 2011. http://www.fenin.es/pdf/memoria_anual_2011.pdf
- [4] Bureau of Labor Statistics, U.S. Department of Labor, *Occupational Outlook Handbook, 2012-13 Edition*, Biomedical Engineers, <http://www.bls.gov/ooh/architecture-and-engineering/biomedical-engineers.htm>
- [5] Ziad O. Abu-Faraj (2011). Project Alexander the Great: An Analytical Comprehensive Study on the Global Spread of Bioengineering/Biomedical Engineering Education, Biomedical Engineering, Trends in Materials Science, Mr Anthony Laskovski (Ed.), ISBN: 978-953-307-513-6, InTech.
- [6] Registro de Títulos del MECED: (<https://www.educacion.gob.es/ruct/consultaestudios.action?actual=estudios>)
- [7] Federación Española de Empresas de Tecnología Médica (FENIN). Resumen ejecutivo: "Estudio de Innovación", noviembre de 2012: <http://static.correofarmaceutico.com/docs/2013/02/21/nova.pdf>

Diagnóstico de patologías neurodegenerativas mediante procesamiento de imágenes de Resonancia Magnética: aplicación a la enfermedad de Alzheimer

F. Fanjul-Vélez, R. Pérez-Raba, I. Salas-García, J. L. Arce-Diego

Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Santander, España, {fanjulf,arcedj}@unican.es

Resumen

La relevancia de la imagen médica para la investigación y la innovación en patologías neurodegenerativas es creciente. Entre ellas, se pueden mencionar como más relevantes el Parkinson, la Esclerosis Lateral Múltiple o el Alzheimer. El diagnóstico preciso de estas enfermedades lleva acarreadas ciertas dificultades. La Resonancia Magnética se postula como una herramienta clave en el diagnóstico avanzado de este tipo de patologías. En este trabajo se propone un método de procesamiento de imagen para el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer en diferentes estadios, incluyendo el inicial. El método se aplica sobre diferentes imágenes de pacientes sanos y patológicos. El método se basa en la herramienta de código abierto ImageJ®. Los resultados obtenidos avalan la viabilidad del método.

1. Introducción

Actualmente existen más de 1500000 personas afectadas por patologías neurodegenerativas en España. Se estima que el próximo año este número se incrementará en 120000 nuevos casos. Estas estadísticas hacen de este tipo de patologías unas de las más prevalentes en nuestro país. La prevalencia no es exclusiva de España, sino que también afecta igualmente al resto de países del mundo [1]. La investigación y la innovación en el campo neurodegenerativo es fundamental para tratar de cubrir las necesidades de la población afectada. Este tipo de patologías afectan al sistema nervioso y provocan alteraciones cognitivas, de comportamiento y de regulación de funciones corporales. En particular suelen afectar gravemente al equilibrio, el movimiento, el habla, la respiración o la función cardíaca. Muchas de estas patologías son de origen genético. Algunas veces la causa estriba en otros condicionantes como el alcoholismo, la existencia de un tumor o un infarto. Otras causas relacionadas pueden ser las toxinas, elementos químicos y virus. En otras ocasiones la causa es desconocida. Como se puede inferir, la afectación no es solo física, sino también sociológica. El individuo afectado puede llegar a evitar sus actividades cotidianas, y desarrollar desafección social. Las patologías neurodegenerativas crean dependencias de otras personas, y como consecuencia costes socio-sanitarios directos e indirectos. El tratamiento de patologías neurodegenerativas es complejo, con técnicas como la electroestimulación, la estimulación cerebral profunda o la estimulación magnética transcraneal [2]. El diagnóstico es también un asunto complejo, especialmente en los estadios iniciales

de las patologías [3]. Este diagnóstico suele estar basado en cuestionarios cortos, o en respuestas evocadas mediante electroestimulación. Estas aproximaciones presentan desventajas, como el carácter subjetivo, o la invasividad. Por lo tanto, son preferibles las técnicas de diagnóstico basadas en imagen no invasiva. La Resonancia Magnética (RM) es una técnica de imagen no invasiva ampliamente utilizada, y apropiada para las patologías neurológicas.

En este trabajo se analiza la imagen mediante RM de patologías neurodegenerativas. En particular para el caso del Alzheimer, se trabaja con varias imágenes de pacientes sanos y patológicos. Las diferencias principales se estudian con detalle, mediante la herramienta de procesamiento de imagen de código abierto ImageJ®. Se propone un algoritmo para llevar a cabo el diagnóstico de la patología, incluso en estadios iniciales. El algoritmo se aplica a varias imágenes reales, y se muestran los resultados.

El artículo está organizado como sigue. La sección 2 contiene una descripción de varias patologías neurológicas comunes. En la sección 3 se exponen los fundamentos de la Resonancia Magnética. La sección 4 trata la imagen de la enfermedad de Alzheimer y describe el algoritmo propuesto, así como su implementación. Las conclusiones del trabajo aparecen en la sección 5.

2. Patologías neurológicas

En esta sección se analizan tres de las patologías neurodegenerativas más relevantes. Se pone especial énfasis en el Alzheimer, dado que se emplea procesamiento de imagen para su diagnóstico en secciones posteriores.

2.1. Enfermedad de Parkinson

Esta patología neurodegenerativa provoca desórdenes en el movimiento. Aparece cuando las células nerviosas del cerebro no consiguen producir suficiente dopamina, que es una hormona y neurotransmisor de la familia de las feniletilaminas y catecolaminas. Juega un papel importante en el cerebro y el cuerpo humanos. En ocasiones el origen es genético, pero en muchos casos no parece ser así. La exposición a sustancias químicas puede tener influencia en su aparición. Los principales síntomas del Parkinson son los siguientes: temblor de manos, brazos, piernas, mandíbula y cara; rigidez de brazos,

piernas y tronco; lentitud de movimiento; bajo equilibrio y coordinación. Los síntomas empeoran con el tiempo. Los afectados pierden las capacidades humanas básicas como el caminar o hablar, y en consecuencia pueden sufrir depresiones o problemas de sueño.

En este momento no existe un test particular efectivo para el diagnóstico de la enfermedad. Los expertos emplean la historia médica del paciente y exámenes neurológicos para tratar de diagnosticarlo [3]. Dado que el diagnóstico es complejo, en este trabajo se empleará procesado de imagen para diagnosticar Alzheimer, que podría extenderse al Parkinson. Estas patologías causan alteraciones metabólicas en el cerebro que se pueden medir mediante imagen y procesado. En consecuencia se puede hacer un diagnóstico más preciso.

2.2. Esclerosis lateral amiotrófica

La esclerosis lateral amiotrófica es una patología del sistema nervioso que ataca a las neuronas del cerebro y la médula espinal. Estas neuronas transmiten mensajes desde el cerebro y la médula a los músculos de contracción voluntaria, como los de los brazos y las piernas. Los primeros síntomas de los afectados son: dificultad para caminar o correr, para escribir, o para expresarse mediante el habla. En ocasiones se puede llegar a perder la fuerza necesaria para moverse. Cuando los músculos pectorales fallan, se puede incluso perder la facultad de respirar. La mayoría de los pacientes de esclerosis lateral amiotrófica fallecen por fallo respiratorio. Esta patología afecta principalmente a pacientes de entre 40 y 60 años, y es más común en hombres que en mujeres.

2.3. Enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer es una patología neurodegenerativa del cerebro progresiva e irreversible. Cuando alguien se ve afectado por ella, sufrirá cambios anatómicos y fisiológicos en el cerebro, además de la pérdida progresiva de una sustancia vital llamada acetilcolina. La acetilcolina permite la comunicación entre las células nerviosas y está relacionada con funciones mentales, como el aprendizaje, la memoria y el razonamiento. La enfermedad de Alzheimer es la forma más común de demencia entre personas mayores. Afecta a unos 36 millones de personas en todo el mundo [4].

Cuando los médicos examinan el cerebro de pacientes de Alzheimer con el microscopio, hay dos características anormales que se consideran indicativas de la patología. La primera tiene que ver con las llamadas placas. Estas aglomeraciones de proteína beta-amiloide puede dañar y destruir las neuronas de varias formas, incluyendo la interferencia en la comunicación intercelular. Aunque no se conoce la causa última de la muerte celular en el Alzheimer, la aparición de beta-amiloide en la parte externa de las neuronas es un indicador. La otra característica se refiere a la presencia de ovillos. Las neuronas dependen de un sistema de soporte interno y de transporte para conseguir nutrientes y otros materiales esenciales a través de sus extensiones. Este mecanismo requiere una estructura normal y la funcionalidad de una proteína llamada tau. Cuando esto no ocurre, aparecen los

ovillos. Uno de los primeros síntomas del Alzheimer es la falta de memoria, capacidad de pensamiento o de aprendizaje. El paciente de Alzheimer empeora con el tiempo. Además puede presentar desórdenes del habla o del movimiento.

Otro aspecto macroscópico relevante de la enfermedad de Alzheimer es la pérdida de masa encefálica. Un ejemplo de este efecto se puede apreciar en la Figura 1, donde se compara un cerebro sano con otro patológico.



Figura 1. Comparativa entre un cerebro sano (izquierda) y uno afectado por Alzheimer (derecha)

3. Imagen por Resonancia Magnética

La Resonancia Magnética (RM) es una técnica de imagen médica utilizada en radiología para investigar la anatomía y fisiología del cuerpo humano. El concepto principal de la técnica descansa sobre el fenómeno físico de la resonancia magnética nuclear. Cuando se aplica un campo magnético sobre un paciente sus átomos de hidrógeno se alinean con el campo. Posteriormente se aplica una serie de señales de radiofrecuencia (RF) que desestabilizan los átomos. Cuando cesan estas señales los átomos vuelven a su posición de equilibrio y devuelven la energía de RF, que se recoge por medio de receptores para construir la imagen mediante procesado [5].

La clave del proceso estriba en la relajación de los átomos de hidrógeno, y proviene de la solución de la siguiente ecuación [6]:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \vec{M} \times \vec{H} - \frac{M_x \vec{i} + M_y \vec{j}}{T2} - \frac{(M_z - M_z^0) \vec{k}}{T1} \quad (1)$$

Para obtener una solución es preciso utilizar las expresiones de los vectores de magnetización:

$$M_z(t) = M_z^0 \left(1 - e^{-\frac{t}{T1}} \right) + M_z(0) e^{-\frac{t}{T1}} \quad (2)$$

$$M_{x,y}(t) = M_{x,y}(0) e^{-\frac{t}{T2}} e^{-i\omega t} \quad (3)$$

La representación gráfica de las soluciones de estos vectores de magnetización se puede apreciar en las Figuras 2 y 3. Hay típicamente tres parámetros del tejido que el radiólogo no puede controlar (la densidad protónica, DP, T1 y T2), cuya variación hace que la imagen aparezca distinta. La densidad protónica es el número de protones por unidad de volumen. T1 y T2 son

constantes de tiempo características del tejido. Los factores extrínsecos se pueden modificar para asegurar que la imagen depende más de uno de los tres parámetros. De esta manera la imagen puede mostrar una parte determinada del tejido con mayor contraste. Por ejemplo, en un paciente afectado por un tumor, éste se verá potenciado en una imagen en T1, pero no así el posible edema asociado. Si se potencia en T2, el edema y no el tumor será potenciado.

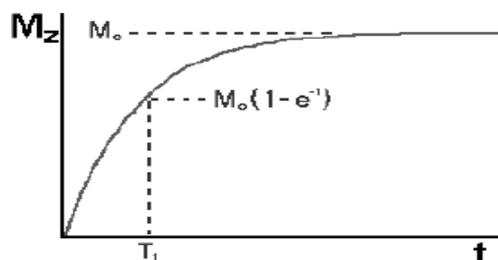


Figura 2. Relajación longitudinal en función del tiempo.

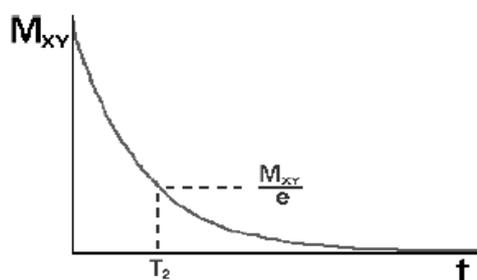


Figura 3. Relajación transversal en función del tiempo.

En este trabajo se emplearán imágenes de RM, debido a su gran calidad comparadas con imágenes de otras técnicas médicas.

4. Resultados y discusión

El algoritmo propuesto para procesado de imagen y diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer se basa en software de código abierto, en particular en ImageJ®. Este programa es multiplataforma, está basado en Java y se utiliza profusamente en el ámbito de la ingeniería biomédica [7]. La esencia del programa se basa en códigos añadidos. Los desarrolladores pueden crear software específico para aplicaciones concretas, lo que incrementa el potencial de ImageJ® [8].

En las secciones anteriores se vio que el cerebro humano sufre una reducción de volumen cuando se ve afectado por la enfermedad de Alzheimer. En consecuencia, el algoritmo intenta llevar a cabo medidas volumétricas del cerebro. Esta función se implemente en ImageJ® mediante un programa añadido. Con esta herramienta es posible realizar una comparativa entre volúmenes de cerebro sano y patológico, e intentar extraer un diagnóstico de estos datos.

Las imágenes de RM de pacientes reales, tanto sanos como afectados por Alzheimer, se obtuvieron de la base de datos ADNI (Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative) [9]. ADNI posee una gran cantidad de imágenes médicas de pacientes americanos y voluntarios. Todos los pacientes utilizados tienen entre 60 y 80 años

de edad, con un peso habitual de entre 50 y 90 kg. Se emplearon cinco imágenes de cerebros con Alzheimer y cinco de cerebros sanos. Los datos clínicos postulan que un cerebro sano tiene un volumen promedio de unos 1260 cm³, y un peso de unos 1.5 kg, mientras que uno con Alzheimer sufre una reducción de aproximadamente un 20% en su volumen, con un peso inferior a unos 0.9 kg. Estos datos son el punto de partida del algoritmo propuesto.

Utilizando ImageJ® y el añadido anteriormente referido, se puede medir la capacidad volumétrica del cerebro. Se empleó la herramienta de selección para identificar las regiones de interés del cerebro humano. De acuerdo con los datos clínicos, solo es necesario medir el tejido cerebral, sin incluir agua u otras sustancias. Este proceso se llevó a cabo manualmente capa a capa para la imagen RM total. Un ejemplo del proceso de definición del área de interés (ROI) se una capa de una imagen concreta aparece en la Figura 4.

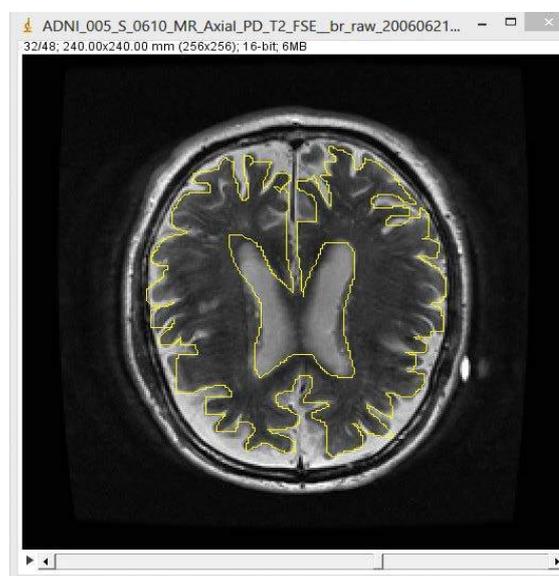


Figura 4. Área de interés (ROI) de una capa de una imagen de RM.

Cuando todas las ROI de todas las capas han sido definidas, el añadido, mediante interpolación, calcula el volumen total. Tras realizar el proceso en todas las imágenes, los resultados aparecen en la Tabla 1. La tabla muestra los resultados para diez pacientes diferentes, cinco sanos y cinco afectados por Alzheimer.

La Tabla 2 muestra la media de los volúmenes para pacientes sanos y con Alzheimer. Existe una diferencia clara entre ambos grupos, que se puede cuantificar como un 18.46%. En consecuencia, el algoritmo de procesado de imagen es una herramienta útil para el diagnóstico diferencial entre pacientes sanos y con Alzheimer. Además los resultados están en consonancia con la estimación, anteriormente mencionada, de una diferencia volumétrica de en torno al 20%.

Para mejorar la exactitud y velocidad del análisis, y para reducir su complejidad, se puede agregar el estudio de los ventrículos cerebrales. En un cerebro típico afectado por Alzheimer los ventrículos sufren un incremento de

volumen debido a la pérdida de materia. La Figura 5 muestra una imagen de ejemplo.

Pacientes con Alzheimer	Volumen cerebral (cm ³)	Pacientes sanos	Volumen cerebral (cm ³)
002_S_0619	1056.23	002_S_1261	1246.12
002_S_1018	1004.76	005_S_1018	1215.44
005_S_1341	989.87	005_S_1341	1198.43
006_S_0342	1013.12	005_S_0342	1278.87
008_S_2783	995.34	007_S_2783	1266.12

Tabla 1. Volúmenes cerebrales medidos sobre pacientes sanos y con Alzheimer.

Pacientes	Volumen cerebral promedio (cm ³)
Sanos	1240.99
Con Alzheimer	1011.86

Tabla 2. Volúmenes promedio medidos.

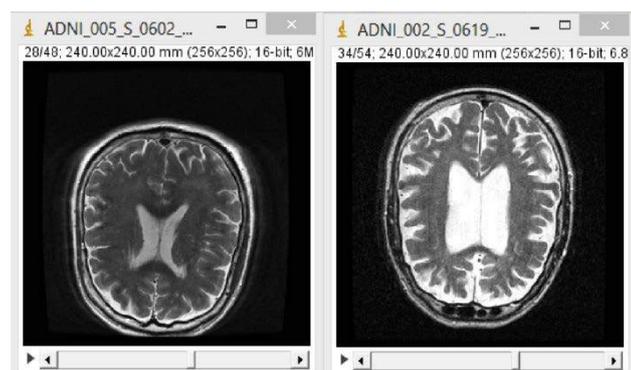


Figura 5. Comparativa entre un cerebro sano (izquierda) y uno afectado por Alzheimer (derecha).

Pacientes con Alzheimer	Volumen ventricular (cm ³)	Pacientes sanos	Volumen ventricular (cm ³)
002_S_0619	38.33	002_S_1261	29.89
002_S_1018	36.45	005_S_1018	27.83
005_S_1341	40.32	005_S_1341	24.23
006_S_0342	38.45	005_S_0342	30.45
008_S_2783	38.4	007_S_2783	29.14

Tabla 3. Volúmenes ventriculares medidos sobre pacientes sanos y con Alzheimer.

La evaluación del volumen ventricular es una herramienta diagnóstica potencial. Con esta idea, las mismas imágenes fueron sometidas a un proceso de segmentación y medida del volumen ventricular. Los resultados aparecen en las

Tablas 3 y 4. En este caso la diferencia promedio entre los casos de pacientes sanos y con Alzheimer es del 26%.

Pacientes	Volumen ventricular promedio (cm ³)
Sanos	28.30
Con Alzheimer	38.39

Tabla 4. Volúmenes promedio medidos.

5. Conclusiones

En este trabajo se ha expuesto la relevancia del diagnóstico precoz de las patologías neurodegenerativas, en particular del Alzheimer. El carácter no invasiva del procesado de imagen lo hace ideal para abordar este objetivo. Se han utilizado imágenes reales de RM de pacientes sanos y afectados por Alzheimer, obtenidas de la base de datos ADNI. Se ha implementado un algoritmo de medida del volumen cerebral mediante un añadido al software ImageJ®, y se han obtenido resultados estadísticos. La diferencia promedio se ha estimado en un 18.5%. Para que el análisis mediante procesado de imagen sea más eficiente y rápido, se ha medido también el volumen ventricular. En este último caso, la diferencia es de un 26%. Los resultados permiten el diseño de umbral para diagnóstico semiautomático del Alzheimer, de una manera rápida y no invasiva.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto MAT2012-38664-C02-01, cofinanciado con fondos FEDER, y por la Fundación San Cándido.

Referencias

- [1] European Technology Platform Photonics 21, Photonics 21 Strategic Research Agenda, 2010.
- [2] Fanjul-Vélez F, Salas-García I, Ortega-Quijano N, Arce-Diego JL. FDTD-based Transcranial Magnetic Stimulation model applied to specific neurodegenerative disorders, *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 2014.
- [3] The Appropriate Use of Neuroimaging in the Diagnostic Work-Up of Dementia: An Evidence-Based Analysis. *Ontario Health Technology Assessment Series* 14(1), 1–64, 2014.
- [4] Bakkour A, Morris JC, Wolk DA, Dickerson BC. The effects of aging and Alzheimer's disease on cerebral cortical anatomy: Specificity and differential relationships with cognition, 2013.
- [5] Chizhik VI, Chernyshev YS, Donets AV, Frolov V, *Magnetic Resonance and Its Applications*, 2014.
- [6] Dhawan AP, *Medical Image Analysis*, 2010.
- [7] Mateos-Pérez JM, Pascau J, *Image Processing with imageJ*, Birmingham, 2003.
- [8] Chizhik VI, Chernyshev YS, Donets AV, Frolov V, *Image Processing with imageJ*, 2014.
- [9] Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, <http://www.adni-info.org/>

Propuesta para caracterizar la resistencia de las articulaciones sometidas a tracción mediante modelo animal

<R>. Salcedo Cidoncha¹, <E>. García Nieto², <A>. Ros Felip²

¹ Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España, ramsalci@gmail.com

² Departamento de Ingeniería Mecánica, UPM, Madrid, España, antonio.ros@upm.es

Resumen

Durante la realización de una actividad física, los tejidos blandos de las articulaciones pueden sufrir algún tipo de lesión mecánica, incluso lesiones permanentes. Para prevenir o minimizar estos daños, es necesario avanzar en el conocimiento mecánico de la articulación. El empleo de modelos animales puede ser una buena opción. En este trabajo se presenta una metodología preliminar para estudiar la resistencia del codo. Para ello se emplearon 12 alas de pollo. Para la realización de los ensayos primeramente se construyeron, en los extremos distales de cada articulación, respectivas bases cilíndricas utilizando resina de poliuretano y posteriormente se realizó el montaje de las muestras en una máquina electromecánica de tracción (Emperor 2000) dotada de una célula de carga de 250N. Este sistema registraba la relación Carga/Desplazamiento durante el ensayo. Se observó que dicha relación seguía la misma pauta descrita en la literatura: una primera fase no lineal de ajuste, una fase intermedia aproximadamente lineal, y una tercera fase de sucesivos aumentos y caídas de carga hasta romper la articulación. Se estimó la rigidez de la fase lineal, los máximos relativos de carga y las rigideces remanentes después de las roturas parciales. Este trabajo debe servir como punto de partida para desarrollar técnicas de estudio mediante modelo animal para comprender el carácter biomecánico de la articulación.

1. Introducción

El desarrollo de tareas físicas cotidianas o la realización de prácticas deportivas conllevan la posibilidad de sufrir algún tipo de accidente [1].

Las lesiones derivadas de estas actividades pueden ser de dos tipos: esqueléticas y en los tejidos blandos [2]. Las lesiones en los tejidos blandos son bastante frecuentes [3]. En este sentido, unas zonas anatómicamente sensibles son las articulaciones, como la rodilla [4], el tobillo [5] o el codo [6].

Respecto a las lesiones en el codo, existen varias actividades deportivas en la que muchos de sus protagonistas (40-75%) sufren durante su carrera lesiones por uso excesivo en esta articulación [2]. Además, existe el riesgo de que estas lesiones se vuelvan crónicas.

La ingeniería biomédica busca métodos para el estudio y tratamiento en todo tipo de lesiones, como el empleo de modelos animales [7]. El uso de estos modelos se fundamenta en que se puede considerar las diferentes secciones anatómicas de una serie de animales como representaciones a pequeña escala de un determinado problema en el cuerpo humano [8]. Se han detectado suficientes similitudes entre los animales y los seres

humanos a nivel bioquímico, neurológico, anatómico y fisiológico para asumir estas comparaciones.

Muchos investigadores utilizan los modelos animales para estudiar la biomecánica del cuerpo humano [9]. Esto ofrece la ventaja de realizar ensayos menos complejos sin trabajar sobre un cuerpo humano, a la vez que se ahorra tiempo y dinero.

El presente trabajo presenta una metodología preliminar para analizar el comportamiento a tracción de los tejidos blandos del codo por medio de un ala de pollo como modelo animal. El objetivo es buscar una herramienta para profundizar en el comportamiento elástico de los ligamentos que mantienen unida la articulación.

2. Materiales y métodos

Doce “alas de pollo fresco común” (*gallus gallus domesticus*) fueron las muestras utilizadas en el estudio, accesible a bajo precio en puestos comerciales de consumo. Se ha escogido este modelo por las similitudes entre las alas de las aves y las extremidades superiores humanas.

Los controles de comercialización aseguraban unas condiciones homogéneas de presentación y conservación. Las muestras se conservaron congeladas a -18°C. Posteriormente, las alas se sometían a un período de descongelación a temperatura ambiente de 2-3 horas antes del ensayo.

Se retiraron los músculos y la piel de los extremos distales de cada ala mediante un bisturí desechable, dejando intacta la articulación y, por tanto, los ligamentos que la mantenían unida. Luego se aplicó un utillaje de amarre específico consistente en un embudo de los extremos distales en cilindros de resina de poliuretano de curado rápido (Figura 1).

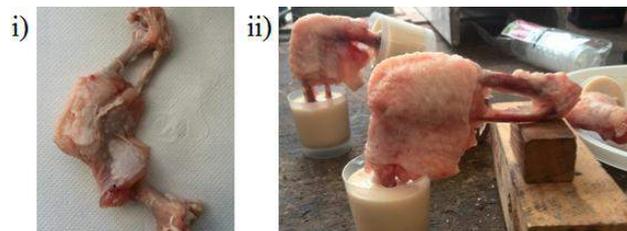


Figura 1. Imagen de un ala después de retirar carne y piel de los extremos distales (i) y de las alas con la resina en fase de polimerización (ii).

Una vez curado, se taladraba un agujero sobre cada cilindro, de tal forma que el agujero fuera de pared a pared

del cilindro y estuviese en posición perpendicular a los huesos. A continuación se introducía un hilo de PVC y se aprovechaba para unir cada extremo con cada mordaza de la máquina de tracción.

La máquina de tracción del ensayo era una Emperor 2000 electromecánica programable (Mecmesin, West Sussex, UK) con una célula de carga de 250N que registraba la relación Carga/Desplazamiento del ensayo. Disponía de dos mordazas: una fija (a la que se unía un extremo del ala) y otra móvil (a la que se unía el otro extremo). La mordaza móvil se desplazaba verticalmente hacia arriba con una velocidad de 12 mm/min hasta el momento de rotura de la articulación (Figura 2).

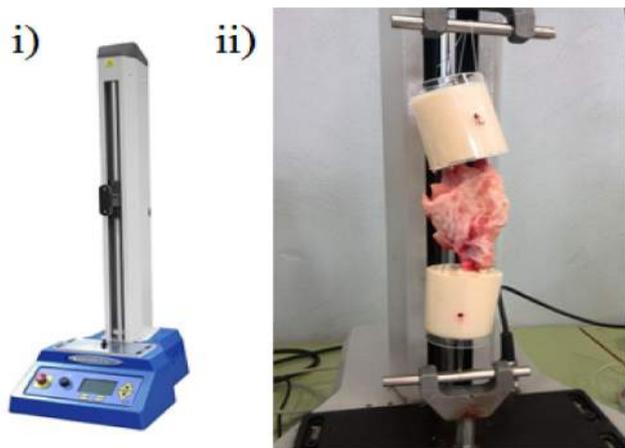


Figura 2. Emperor 2000 (i) e imagen del ala en la máquina durante el ensayo de tracción (ii).

Tras los ensayos, se hizo un análisis descriptivo de los datos, mediante un diagrama “Box and Whisker”, para ver si existían datos anómalos en la medición.

Posteriormente, se representó gráficamente la relación Carga/Desplazamiento de cada ala (curva tensión-deformación), identificando las diferentes fases que transcurrieron durante el ensayo. En cada gráfica se siguieron los siguientes pasos:

- Caracterización mediante un polinomio de grado dos de la fase de ajuste y cálculo del coeficiente de determinación R^2 . Se tomó como hipótesis de partida inicial que esta fase iba desde el instante inicial en el que empezaba el ensayo hasta llegar a los 20 N.
- Caracterización de la fase de deformación lineal por medio de una recta de regresión y cálculo del coeficiente de determinación R^2 .
- Estimación de la deformación elástica (intervalo en el que se incluye la recta de regresión para la deformación lineal) y del módulo de deformación elástico E hasta el momento de la primera rotura.
- Estimación de la resistencia máxima a tracción de cada ala (límite a la deformación lineal) e identificación de los máximos más significativos que se producen después, es decir, aquellos máximos que suponían un mínimo de 10 N de diferencia respecto al mínimo que lo precedía. No se tenían en cuenta los posibles picos que pudieran aparecer entre el mínimo y el máximo.

También se estimaba la pendiente de la curva entre el mínimo y el máximo mediante una recta de regresión.

3. Resultados y discusión

3.1. Descripción general de las curvas tensión-deformación

Todas las curvas pasaron por tres etapas: una fase de ajuste, otra de deformación lineal y una final de rotura, que correspondía con la rotura de los ligamentos en la articulación (Figura 3).



Figura 3. Gráfica obtenida en uno de los ensayos de tracción a modo de ejemplo

Todas las curvas presentaron un comportamiento similar al descrito en la literatura [10-11]: una primera etapa no lineal de ajuste y alineamiento con la dirección de tracción, una segunda etapa aproximadamente lineal hasta que se produce una caída de carga por rotura de alguno de los elementos resistentes de la articulación, y una última etapa de varios aumentos y caídas de carga a medida que las fibras ligamentosas van entrando en carga y se van rompiendo los elementos restantes de la articulación.

3.2. Caracterización de la etapa de ajuste

El valor medio del coeficiente de determinación durante la fase de ajuste fue $R^2=0,96$, por lo que se consideró que había un buen ajuste entre la curva y los datos experimentales. Las gráficas tensión-deformación tenían un comportamiento parabólico en esta etapa.

3.3. Caracterización de la etapa de deformación lineal

El valor medio del coeficiente de determinación durante la etapa intermedia fue $R^2=0,98$, por lo que se consideró que los datos experimentales tenían un comportamiento lineal.

3.4. Deformación elástica y módulo de deformación

Los valores de la deformación elástica oscilaron entre 18,08 y 32,94 mm. El valor medio de la deformación fue de 24,90 mm y la desviación típica fue de 4,91 mm. La deformación lineal siempre tuvo un carácter estable en los diferentes ensayos.

Por otra parte, los valores del módulo de deformación elástico variaron entre 2,52 y 4,90 N/mm. El promedio de

los módulos fue de 3,48 N/mm y la desviación típica fue de 0,69 N/mm. 9 alas mostraron módulos por encima de los 3 N/mm, lo indicaba los ligamentos era resistentes a experimentar una elongación.

3.5. Estimación de resistencia máxima a la rotura

La resistencia máxima a tracción osciló entre 136,64 y 78,60 N. La resistencia media fue de 106,14 N, con una desviación típica de 19,16 N. En 10 de los 12 ensayos, la resistencia superior superó los 90 N, y la mitad de las alas mostró resistencias por encima de los 100 N. Los ligamentos de la articulación se consideraron resistentes a los esfuerzos de tracción.

3.6. Identificación de máximos y pendientes durante la etapa de rotura

No todas las alas presentaron máximos siguiendo los requisitos que se habían marcado. Además, los valores estuvieron repartidos entre los ensayos, variando entre 66,88 y 120,28 N. El valor medio fue de 89,17 N y desviación típica de 18,16 N.

Por su parte, las pendientes fueron más pronunciadas que las mostradas durante la fase de la deformación lineal. Al perder la elasticidad, se requería de un mayor esfuerzo mecánico para producir un desplazamiento en la articulación.

4. Conclusiones

Se ha propuesto un método experimental para analizar el comportamiento biomecánico de una articulación mediante un modelo animal. Esta metodología ha servido para estudiar varios parámetros: rigidez de la primera zona lineal, máximos relativos de carga y rigideces remanentes después de las sucesivas roturas parciales.

5. Trabajos futuros

El siguiente paso debe ser un experimento con una muestra lo suficientemente grande para identificar y cuantificar las variables significativamente estadísticas, como la procedencia de las muestras, la forma de amarre o los tiempos y condiciones de conservación.

Otra línea de trabajo es el estudio de las propiedades viscoelásticas de los ligamentos, como el estudio de la variabilidad de la rigidez de la fase lineal con la velocidad del ensayo.

Agradecimientos

Por último agradecer al Laboratorio de Resistencias de Materiales de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales (ETSII) de la Universidad Politécnica de Madrid por los medios y la ayuda prestada para la realización de este Trabajo.

Referencias

[1] Díaz P, Buceta JM, Bueno AM. Situaciones estresantes y vulnerabilidad a las lesiones deportivas: un estudio con deportistas de equipo. *Revista de Psicología del Deporte*, vol 14, sup 1, 2004, pp 7-24 (ISSN: 1988-5636).

[2] Bahr R, Mæhlum S. Lesiones deportivas: Diagnóstico, tratamiento y rehabilitación. Ed. Médica Panamericana, 2007. (ISBN: 978-968-7988-87-0).

[3] Pascual CM, Pérez VR, Calvo JS. Epidemiología de las lesiones deportivas. *Fisioterapia*, vol 30, sup 1, 2008, pp 40-48 (ISSN: 0211-5638).

[4] Muthuri SG, McWilliams DF, Doherty M. History of knee injuries and knee osteoarthritis: a meta-analysis of observational studies. *Osteoarthritis Cartilage*, vol 19, sup 11, 2011, pp 1286-93 (ISSN: 1063-4584).

[5] Salzar RS, Lievers WB, Bailey AM, Crandall JR. Leg, Foot, and Ankle Injury Biomechanics. *Accidental Injury* (pp. 499-547). Springer, 2015. (ISBN: 978-1-4939-1731-0).

[6] Fleisig GS, Andrews JR. Prevention of elbow injuries in youth baseball pitchers. *Sports Health: A Multidisciplinary Approach*, vol 4, sup 5, 2012, pp 419-424 (ISSN: 1941-7381).

[7] Hernández S. El modelo animal en investigaciones biomédicas. *Biomedicina*, vol 2, sup 3, 2006, pp 252-6 (ISSN: 1510-9747).

[8] Yunta ER. Ética de la investigación en modelos animales de enfermedades humanas. *Acta bioethica*, vol 13, sup 1, 2007, pp 25-40 (ISSN: 0717-5906).

[9] Knudson D. *Fundamentals of biomechanics*. Springer Science & Business Media, 2007 (ISBN: 978-9-4007-1821-0).

[10] Oatis CA. Biomechanics of tendons and ligaments. En: *Kinesiology. The Mechanics and Pathomechanics of Human Movement*. Lippincott Williams y Wilkins, 2003. (ISBN: 978-1-4511-5451-1).

[11] Angulo M, Dobao C. Biomecánica clínica. Biomecánica de los ligamentos. *REDUCA (Enfermería, Fisioterapia y Podología)*, vol 2, sup 3, 2010, pp 49-59 (ISSN: 1989-5305).

Evaluation of attenuation correction in a small animal PET-CT scanner

I. Mayorga^{1,2}, V. García-Vázquez^{1,2}, A. Olmo^{1,2}, M. Desco^{1,2,3}, J.J. Vaquero^{1,2}

¹ Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, Madrid, España, jjvaquer@ing.uc3m.es

² Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

³ Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Madrid, España

Abstract

Positron emission tomography (PET) quantification is affected by the attenuation of the gamma radiation in the patient. One approach to perform attenuation correction is based on creating an attenuation map using a computed tomography (CT) image. There are no studies that assess the attenuation correction method implemented in the multimodal Argus PET/CT scanner for small animals from a quantification point of view with different energy windows and reconstruction algorithms. The aim of this work was to perform that evaluation for filtered back projection (FBP) and ordered-subset expectation maximization (OSEM) 2D and 3D reconstruction methods. The absolute relative error between the estimated and real activity concentration either for attenuation corrected or non-attenuation corrected PET images was smaller than 5%. Recovery coefficients for non-attenuation corrected images are similar to the ones for attenuation corrected images. While segmentation method does not affect the recovery coefficient calculation, when analyzing small objects the mean value of the segmented region does not provide an accurate activity value. A better strategy to quantify those small regions is to average several maximum values of that area. Our results showed that attenuation correction improves the quantification of the images.

1. Motivation

Positron Emission Tomography (PET) is a functional medical imaging modality based on the coincident detection of gamma photons of 511 keV. If any of the antiparallel gamma photons does not reach the PET detectors due to attenuation or scatter in the patient, that coincidence is not recorded. PET images quantification is negatively affected by this attenuation effect. One approach to perform attenuation correction is based on creating an attenuation map using a computed tomography (CT) image in which its intensity values (i.e. x-ray attenuation coefficients of body tissues in Hounsfield units scale) are transformed into attenuation coefficients at 511 keV by applying a bilinear approximation. Then, the attenuation map is used to correct PET data in the reconstruction process [1]. This attenuation correction method is the approach applied in the multimodal Argus PET/CT scanner for small animals (SEDECAL, Madrid). In [1], the authors evaluated the attenuation correction method of this scanner by using χ^2 parameter that measures the difference between the acquired data and the estimated data obtained from the

reconstructed image and by comparing the profiles of non-attenuation corrected images and attenuation corrected images. The results showed better results when using attenuation corrected PET images. However, there are no studies that assess this attenuation correction method in the Argus PET/CT scanner from a quantification point of view with different energy windows and reconstruction algorithms. The aim of this work was to perform that evaluation by means of three different experiments that assessed the accuracy of the attenuation correction on PET images, the accuracy of the activity concentration measured in PET images and the effect of applying the attenuation correction on the recovery coefficient.

2. Materials and methods

2.1. Experiment I

The aim of this experiment was to quantify the accuracy of the CT-based attenuation correction on PET studies acquired with an Argus PET/CT scanner. The phantom used in this experiment was a universal sample tube (30 mm diameter x 70 mm height) in which a radioactive point source of Sodium-22 (Na-22) with an initial activity of 27.44 μ Ci was placed (Figure 1). This phantom simulated a small animal, namely a mouse, with a region of high activity (e.g. a tumour). The tube was filled either with air to simulate a non-attenuating medium or water to simulate soft tissue.

Two different PET/CT studies were acquired on the Argus PET/CT scanner using the software MMWKS [2], one for air medium and other one for water medium. Each CT study was acquired with the default protocol (360 projections, 8 frames, binning 4, 40 kV and 340 μ A). CT images were reconstructed using the Feld Kamp-Davis-Kress (FDK) algorithm implemented in MMWKS. For each medium, three PET images at different energy windows (100-700 keV, 250-700 keV, 400-700 keV) were also acquired with an acquisition time of 20 minutes. PET images were reconstructed with and without attenuation correction in MMWKS using an analytical method (filtered back projection -FBP-) and two iterative methods (ordered-subset expectation maximization -OSEM- 2D and OSEM 3D). Default PET reconstruction parameters were set: Span 3, Dmax 16,

ramp filter with alpha 1.0 and cut-off 1.0 for FBP; Span 3, Dmax 16, 2 iterations and 16 subsets for OSEM 2D; and 2 iterations and 50 subsets for OSEM 3D.



Figure 1. Phantom (Experiment I)

A cylindrical mask with the same physical dimensions as the Na-22 radioactive point source (2 mm diameter and 3.5 mm height) and centred on this radioactive source was manually drawn on every CT image. As PET and CT images are intrinsically registered in Argus PET/CT scanner, the CT mask was superimposed on its corresponding PET images in order to obtain the mean value of the PET volume of interest (VOI) given in counts per second (cps). The percentage of change was calculated in order to quantify the effect of applying the attenuation correction on PET images. This parameter measures the relative difference between the data extracted from the attenuation corrected image and the one from the non-attenuation corrected image.

2.2. Experiment II

Experiment II was designed to evaluate the effect of the attenuation correction on the activity concentration accuracy. The phantom used in this second experiment was the standard NEMA NU-4 2008 image quality phantom [3] filled with a homogeneous dilution of the radiotracer 2-deoxy-2-(18F) fluoro-D-glucose (FDG) and water. The initial activity of the radiotracer was 127.4 μCi (Figure 2).



Figure 2. NEMA-NU4 2008 image quality phantom

PET/CT studies were obtained using the same acquisition and reconstruction protocols as in the Experiment I, except the number of iterations in OSEM 2D and OSEM 3D methods that was set to one in order to avoid over fitting that causes noise amplification. Image activity concentration was calculated by previously segmenting the uniform region of the NEMA phantom with a cylindrical mask (22.5 mm diameter x 10 mm height) in the PET images. Then, image activity concentration (in cps/cc) was transformed into Bq/cc using the calibration factor in order to calculate the relative error (%) between

the concentration obtained from PET images and from the well counter (gold standard). The calibration factor depends on image acquisition, reconstruction and corrections applied.

2.3. Experiment III

Here we evaluate the effect of the attenuation correction on the recovery coefficient (RC). This parameter measures the difference between the activity concentration of a small object (measurement with partial volume effect because of the limited resolution of PET scanner) and the activity concentration of a large object that was filled with the same activity concentration (gold standard). Therefore, RC gives information of the minimum object size in PET images to get reliable data. The same PET/CT images acquired and reconstructed in the Experiment II were used in this third experiment. For OSEM 3D, reconstructed PET images were filtered using a 3D Gaussian filter (standard deviation 0.5 mm) in order to avoid over iteration.

NEMA standard protocol was followed in order to calculate RC [3]. Firstly, a cylindrical mask (22.5 mm diameter x 10 mm height) was segmented in the uniform region of the NEMA phantom (PET images). Then, for each rod, a circular mask with a diameter twice the physical diameter of the rod (1 mm, 2 mm, 3 mm, 4 mm and 5 mm) and covering the central 10 mm length of the rod was drawn. Finally, the RC(%) was calculated for each rod as the ratio between the mean of several maximum values obtained from the rod VOI multiplied by 100 and the mean value of the uniform region. If both activity concentrations are equal, RC (%) is 100.

When quantifying PET studies is very common to segment just the object size and to use the mean value of a VOI instead of the mean of several maximum values as in the case of RC. In order to evaluate the effect of these approaches, each rod was also segmented with a mask that had the same physical diameter as the rod and another parameter (RC2) was also calculated that uses the mean value of the VOI instead of the mean value of several maximum values in the RC(%) definition.

3. Results

3.1. Experiment I

Table 1 shows the percentage of change between attenuation corrected images and non-attenuation corrected images for either water or air media at three different energy windows. Values of percentage of change were almost similar independently of the energy window and the reconstruction method (FBP and OSEM 2D), being higher for water medium (around 33%) than for air medium (around 17%). In the case of OSEM 3D, the percentage of change followed a different pattern than in FBP and OSEM 2D, percentages of change were higher in air medium than in water medium.

% of change	Air Medium			Water Medium		
	100-700 KeV	250-700 KeV	400-700 KeV	100-700 KeV	250-700 KeV	400-700 KeV
FBP	18.6	16.8	16.8	33.0	33.0	33.0
OSEM 2D	17.0	17.0	17.1	33.0	33.0	33.0
OSEM 3D	36.2	40.3	30.0	15.9	18.0	19.9

Table 1. Percentage of change in air/water medium

3.2. Experiment II

Table 2 shows the relative error between the concentration obtained from PET images (non-attenuation corrected -NAC- images and attenuation corrected -AC- images) and from the well counter. The absolute relative error was smaller than 5% independently of the energy window and the reconstruction method. Non-attenuation corrected PET images had positive relative error values (images are under corrected) while attenuation corrected ones had negative relative error values (over corrected).

Error (%)	100-700 KeV	250-700 KeV	400-700 KeV
FBP (NAC)	4.0	3.3	2.9
FBP (AC)	-2.2	-2.8	-3.3
OSEM 2D (NAC)	3.5	2.7	2.5
OSEM 2D (AC)	-2.7	-3.4	-3.3
OSEM 3D (NAC)	3.2	2.0	2.7
OSEM 3D (AC)	-1.3	-3.2	-2.8

Table 2. Relative error between the concentration obtained from PET images and from the well counter

3.3. Experiment III

Figure 3, Figure 4 and Figure 5 display RC values of each rod (energy window 400-700 keV) for FBP, OSEM 2D and OSEM 3D reconstruction methods respectively. These results show that attenuation correction did not significantly affect RC. The minimum object diameter to get reliable data (RC > 90%) was around 4-5 mm.

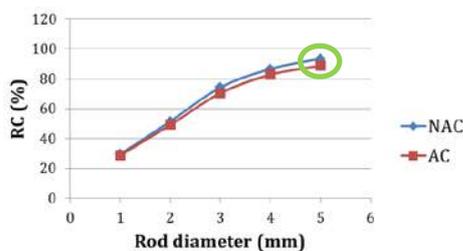


Figure 3. RC values for 400-700 keV FBP image. Minimum object diameter to get reliable data circled in green

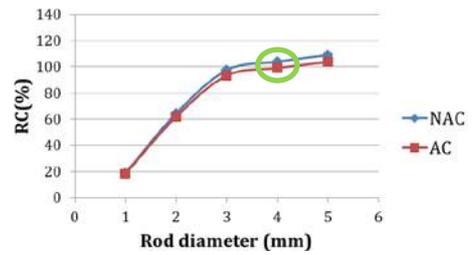


Figure 4. RC values for 400-700 keV OSEM 2D image. Minimum object diameter to get reliable data circled in green

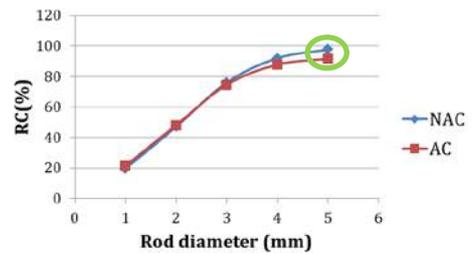


Figure 5. RC values for 400-700 keV OSEM 3D image. Minimum object diameter to get reliable data circled in green

Figure 6 and Figure 7 display RC and RC2 values in the case of segmenting twice the physical diameter of each rod or in the case of segmenting just the physical diameter of the rod respectively. These results show that attenuation correction did not significantly affect RC or RC2 values. The segmentation process did not change RC while it did in the case of RC2. Moreover, RC2 was lower than RC (below 30% when segmenting following NEMA protocol and below 80% when segmenting just the physical diameter of the rod).

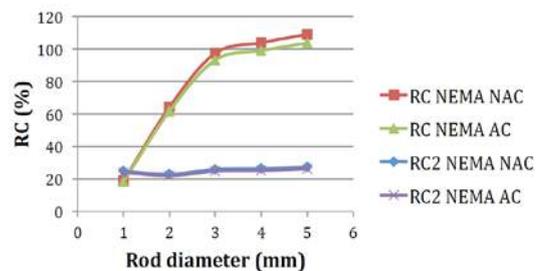


Figure 6. RC vs RC2 fulfilling NEMA segmentation rule (energy window 400-700 keV)

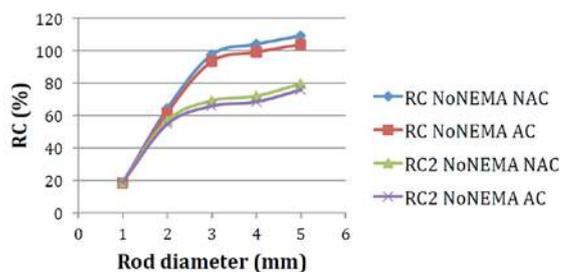


Figure 7. RC vs RC2 do not fulfilling NEMA segmentation rule (energy window 400-700 keV)

4. Discussion

In this work, three different experiments were performed in order to evaluate the CT-based attenuation correction in the Argus PET/CT scanner from a quantification point of view. Attenuation correction has an impact on the PET image and results are different depending on the Argus PET/CT reconstruction method used.

Regarding Experiment I, water medium results for FBP and OSEM 2D reconstruction methods were in accordance with [4]. This study showed a 31% of difference for a mouse-size phantom (syringe of 30 mm diameter) and a CT-based attenuation correction. In the case of OSEM 3D, the percentage of change followed a different pattern than in OSEM 2D and FBP (values were higher in air medium than water medium) due to a different normalization criterion in the reconstruction algorithm. The reason of having changes in the phantom with air medium is due mainly to the photon attenuation of the radioisotope encapsulation and the container material.

Regarding Experiment II, the accuracy of activity concentration presented acceptable values independently of attenuation correction since they were lower than 5%. This error takes into account sources of error involved in the process of obtaining PET images, calibration factor and activity measurements with a well counter. The reason why activity concentration was similar to the real one independently of attenuation correction was because the calibration factor compensated the differences between non-attenuation corrected images and attenuation corrected images (similar phantoms for Experiment II and calibration factor protocol).

Regarding Experiment III, the activity concentration in the rods became more similar to the one of the homogeneous region as the rod diameter was larger. Moreover, the RC values of non-attenuation corrected images and attenuation corrected images were quite similar. In [5] the authors obtained RC values from an Argus scanner with an energy window of 250-700 keV, OSEM 3D and attenuation correction. Their results were 27%, 65%, 93%, 95% and 97% for rod diameter of 1 mm, 2 mm, 3 mm, 4 mm and 5 mm respectively and were higher than our results (17%, 40%, 68%, 83% and 93%). This could be due to the number of iterations used in OSEM 3D and whether images were filtered. Concerning the segmentation process, it did not affect RC since the maximum value of each rod VOI was the same independently of the mask size. However, the segmentation process affected RC2 since increasing the mask size will include more background values and will decrease the rod VOI mean value. On the other hand, VOI mean value does not provide an accurate activity concentration when segmenting small objects since RC2 was much lower than RC values. Therefore, a better strategy when quantifying PET studies is to average several maximum values of the VOI.

PET attenuation correction can be easily included in the current protocol of small animal studies using an Argus PET/CT scanner and has a zero cost since CT images are

currently acquired for registration purposes. Moreover, the time of creating the attenuation map and applying the attenuation correction is negligible.

Future work includes evaluating the effect of the attenuation correction in the Argus PET/CT scanner on phantoms that simulate a more realistic mouse or rat (regions with a different density to simulate air and bones, and regions with different activity concentration). Further analysis of activity concentration accuracy would be also recommended.

5. Acknowledgements

This work was supported in part by grant RGP0004/2013 from the Human Frontier Science Program, RIC-RETIC network (RD12/0042/0057) and TEC2014-56600-R from the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación, project TOPUS S2013/MIT-3024 from the regional government of Madrid, and the INFIERI Network (Marie Curie ITN EU FP7, grant agreement no. 317446).

The authors would like to acknowledge Alexandra de Francisco and Yolanda Sierra for their support with data acquisition.

6. References

- [1] Vicente Torrico E, et al. Corrección de atenuación de imágenes PET usando datos de TAC en el escáner para animales pequeños Argus PET/CT. *Libro de actas del XXVIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2010)*, Madrid, 2010, p 256 (ISBN: 978-84-8058-1).
- [2] Pascau J, et al. Multimodality workstation for small animal image visualization and analysis. *Molecular Imaging and Biology*, vol 8, sup 2, 2006, pp 97-8 (ISSN: 1860-2002).
- [3] NEMA standards publication NU 4 – 2008. Performance measurements of small animal positron emission tomographs. National Electrical Manufacturers Association, 2008.
- [4] D'Ambrosio D, et al. Attenuation correction for small animal PET images: A comparison of two methods. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, vol 8, sup 6, 2013, pp 1-12 (ISSN: 1748-6718).
- [5] Goertzen AL, et al. NEMA NU 4-2008 comparison of preclinical PET imaging systems. *Journal of Nuclear Medicine*, vol 53, sup 8, 2012, p. 1300-9 (ISSN: 0161-5505).

Efectos de la configuración del electrodo multianular en registros del EEnG

V.F. Zena-Giménez¹, J. García-Casado¹, G. Prats-Boluda¹, Y. Ye Lin¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (CI2B), Universitat Politècnica de València, Valencia, España, {vfzena,jgarcia,gprats,yiye}@gbio.i3bh.es

Resumen

La implementación de técnicas laplacianas por medio de electrodos anulares en registros bioeléctricos puede mejorar la calidad de señal aportando mejor resolución espacial, característica que se deteriora con los electrodos convencionales de disco. Distintas dimensiones de los anillos y configuraciones de registro en un mismo electrodo pueden facilitar el mapeo bioeléctrico además de aportar flexibilidad a la hora de profundizar estudios en el campo de la investigación. En este trabajo se presenta un electrodo multianular sobre sustrato flexible, autoadhesivo y que puede ser configurado para registros monopolares y bipolares. Se realizaron registros de la actividad mioeléctrica intestinal (electroenterograma, EEnG) con este electrodo y electrodos convencionales de disco en sujetos sanos, simultáneamente con la respiración y electrocardiograma. Los resultados muestran que la capacidad de captar las ondas lentas intestinales se ven muy influenciadas con la capacidad de rechazo de sus principales interferencias, en este sentido, se puede concluir que el uso de electrodos concéntricos flexibles en configuración bipolar mejora la calidad de la señal de EEnG, lo que podría acercar esta técnica a la aplicación clínica. En cuanto al efecto de la dimensión de los anillos, los anillos medianos (30 mm) alcanzan un balance entre el mejor comportamiento frente a interferencia respiratoria de los pequeños y la mejor respuesta de los grandes a la interferencia de baja frecuencia.

1. Introducción

1.1. Técnicas laplacianas en registros bioeléctricos

Los registros de señales bioeléctricas se suelen realizar con electrodos de disco convencionales, ya sea en configuraciones monopolar o bipolar. El inconveniente de estos electrodos es su pobre resolución espacial, causado principalmente por el efecto de emborronamiento debido a las diferentes conductividades del volumen conductor [1], [2]. En este caso, el laplaciano del potencial ha demostrado ser más inmune al efecto de emborronamiento y presenta mejores resultados a lo que resolución espacial se refiere. Se han utilizado distintas configuraciones de los electrodos concéntricos para estimar el laplaciano del potencial bioeléctrico en la superficie corporal [3], [4]. Sin embargo, los electrodos propuestos en estos trabajos fueron hechos sobre sustrato rígido, lo que pueden ocasionar molestias al paciente ya que no se adapta correctamente a la curvatura de la piel y además requieren de adhesivos externos para fijarlos a la piel.

Con respecto a esto, uno de los objetivos de este trabajo es presentar un electrodo que pueda estimar directamente

el laplaciano del potencial, siendo además cómodo para el paciente y de fácil aplicación.

1.2. Actividad mioeléctrica del intestino delgado

El electroenterograma (EEnG) es el registro de la actividad mioeléctrica del intestino delgado, cuya señal tiene dos componentes, una en baja frecuencia, las ondas lentas (OL) y otra en alta frecuencia, los potenciales rápidos de acción o *Spikes Burst* (SB). Las OL son oscilaciones lentas y periódicas que se comportan como marcapasos que determina la frecuencia máxima de aparición de los SB. La frecuencia de la OL varía a lo largo del intestino delgado, y puede ir de unos 12 cpm en el duodeno a 8 cpm en el íleon aproximadamente. Aunque la OL esté siempre presente, la fuerza de contracción del intestino delgado está directamente ligada con la intensidad de los SB [5]–[7].

Son pocos los estudios con registros del EEnG en superficie en humanos [8]–[10]. Una de las razones puede deberse a que son señales muy débiles y se ven muy afectadas por interferencias fisiológicas como la respiración, que afectan más al ancho de banda de la OL, y el ECG que se solapa con el ancho de banda del SB.

Otro de los objetivos de este trabajo es analizar y estudiar los posibles beneficios de la implementación de técnicas laplacianas mediante electrodos concéntricos, en distintas configuraciones y tamaños sobre los registros de superficie del EEnG. El estudio está centrado en la OL, que es la componente que presenta mayor amplitud en los registros de EEnG en superficie, y se ve afectada por patologías como obstrucción mecánica intestinal, síndrome del intestino irritable, íleo paralítico e isquemia intestinal [7].

2. Material y métodos

2.1. Electrodo multianular

El electrodo multianular utilizado en este trabajo, está formado por cuatro anillos concéntricos en forma de gancho, cuyos diámetros externos van desde 20 mm a 50 mm con un grosor constante de 2 mm, y un disco interno de 10 mm de diámetro. Esta configuración de anillos permite que el disco se conecte directamente a los conectores de los amplificadores, como así también facilita la conexión de cada anillo a los mismos [11].

El electrodo flexible fue serigrafado con pasta de Ag/AgCl 80/20 biocompatible (Gwent C2130429D3)

sobre sustrato de poliéster (Dupont MelinexST506) utilizando una impresora de precisión AUREL 900. El periodo de curado de la tinta fue de 10 minutos a 130° C.

Para mejorar la adhesión del electrodo a la piel, se utilizó adhesivo de doble cara biocompatible transparente de 104 µm de espesor (MacTac TM8710), adaptado a las dimensiones de los anillos, de modo que el adhesivo queda entre la piel y el sustrato de poliéster dejando espacio a los anillos para la colocación del gel conductor.

Las configuraciones bipolares y monopolares en el electrodo están dadas según la siguiente ecuación:

$$BC_n = MC_{n+1} - MC_1 \quad \text{Ec. 1}$$

Donde: MC_{n+1} , $n=1..4$ es el registro monopolar de cada anillo del electrodo, MC_1 es el potencial del disco central; $n+1$ es el número del anillo que va de 2-5 en orden ascendente al tamaño del anillo; BC_n es la correspondiente diferencia de potencial entre cada anillo y el disco.

2.2. Protocolo de registro

Se realizaron diez registros de 60 minutos en sujetos sanos. Los sujetos se encontraban en posición decúbito supino sobre una camilla dentro de una jaula de Faraday. Como primer paso, se exfolió la piel en las zonas en que se colocarán los electrodos y luego se limpió la zona exfoliada con alcohol etílico.

Se colocó el gel conductor sobre el electrodo multianular con el protector del adhesivo aún sin extraer, esparciendo el gel cuidadosamente sobre todos los anillos. Tras ello se retiró el protector del adhesivo y se colocó el electrodo multianular con su centro a 2,5 cm por debajo borde del ombligo, como se muestra en la figura 1. De forma análoga se colocaron dos electrodos de cazoleta de Ag/AgCl de 8 mm de diámetro, ubicándolos a 2,5 cm por encima del ombligo y separados entre sí a la misma distancia para el registro de un canal de EEnG bipolar convencional.

Las principales fuentes de interferencia fisiológicas presentes en los registros de EEnG también fueron registradas simultáneamente. En este caso, se adquirió la derivada I reducida del ECG, para lo cual se utilizaron dos electrodos desechables, la respiración fue medida con un transductor de flujo de aire (1401G, Grass Technologies, Warwick, USA) y se utilizó un acelerómetro triaxial (ADXL 335, Analog Devices, LM, Ireland) colocado sobre la línea media del ombligo, para medir los posibles movimientos del sujeto.

Un electrodo desechable se colocó en el tobillo izquierdo del sujeto que fue utilizado como masa en los registros bioeléctricos y otro fue colocado a la altura de la cadera izquierda para ser utilizado en las mediciones monopolares.

Todas las señales, excepto las del acelerómetro triaxial, se amplificaron y filtraron (0,1 – 100 Hz) por medio de amplificadores de biopotenciales comerciales (P511, Grass Technologies, Warwick, USA). La frecuencia de muestreo utilizada fue de 1 kHz.



Figura 1. Ubicación del electrodo multianular, electrodos convencionales de disco y acelerómetro.

2.3. Análisis de señales

Para estudiar el efecto de las dimensiones y configuración de anillos en la captación de la componente de baja frecuencia del EEnG, es decir la onda lenta, un total de diez señales fueron analizadas por cada registro. Cinco monopolares concéntricas (MC), cuatro bipolares concéntricas (BC) y una bipolar convencional (BIP). Las señales, junto con la respiración fueron filtradas paso-bajo ($f_c=0,5$ Hz) y remuestreadas a 4 Hz. Se utilizaron técnicas paramétricas autorregresivas (AR orden 120) para la estimación de la densidad espectral de potencia (PSD) con ventana móvil de 120 s e incremento de 15 s, y en cada una de ellas se obtuvo la frecuencia dominante (FD) definida como el pico de mayor energía por encima de los 6 cpm. A partir de las PSDs y FD se calcularon los siguientes parámetros [12]:

- $\%FD_{FTOL}$ definido como la ratio de ventanas donde la FD está en el rango de la onda lenta (8 – 12 cpm);
- S/I_{RESP} definido como la ratio entre la potencia de la señal en el rango de la OL y la potencia en el ancho de banda de la respiración;

$$S/I_{RESP} (dB) = 10 \cdot \log \left(\frac{Power_{EEnG}^{12cpm} |_{8cpm}}{Power_{EEnG}^{FD_{Resp}+1cpm} |_{FD_{Resp}-1cpm}} \right) \quad \text{Ec. 2}$$

- S/I_{BF} definido como la ratio entre la potencia de la señal en el rango de la onda lenta y la potencia de la señal en el rango de baja frecuencia;

$$S/I_{BF} (dB) = 10 \cdot \log \left(\frac{Power_{EEnG}^{12cpm} |_{8cpm}}{Power_{EEnG}^{8cpm} |_{6cpm}} \right) \quad \text{Ec. 3}$$

- $\%FD_{OL}$ definido como la ratio entre el número de casos en que la FD tras haber descartado las interferencias en baja frecuencia y respiración está en el rango de la OL.

3. Resultados

La figura 2 muestra un ejemplo de señales registradas. Las amplitudes de las señales monopolares concéntricas parecen similares, sin embargo, las bipolares concéntricas aumentaron de amplitud a medida que se incrementaba el tamaño del anillo. Por otro lado, se aprecia que la interferencia de ECG se presentó en mayor medida en los registros MC y bipolares convencionales, mientras que los bipolares concéntricos se mostraron menos afectados. Sin embargo, en los registros de BC3 y BC4 se pudo observar un leve aumento de esta interferencia.

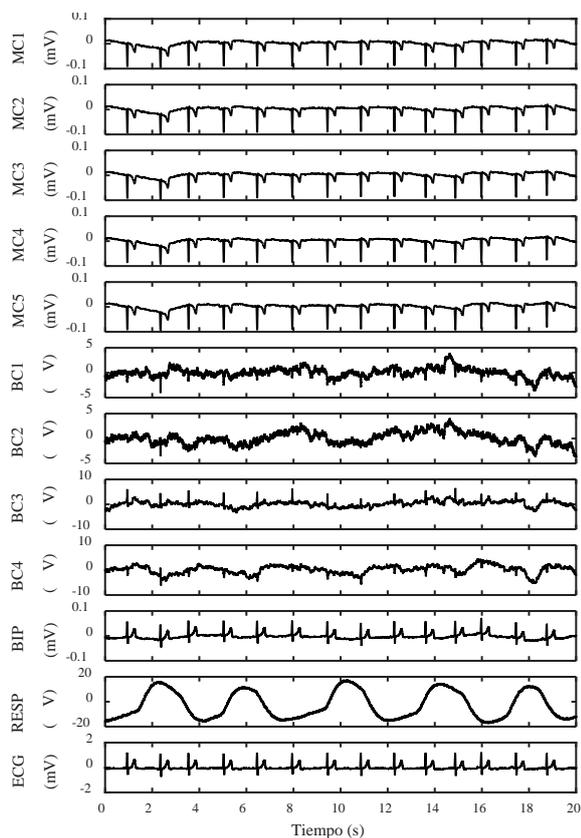


Figura 2. Registro simultáneo de señales; MC1-5 Monopulares Concéntricos; BC1-4 Bipolares Concéntricos; BIP Bipolar, RESP Respiración; ECG Electrocardiograma.

Como el interés de este trabajo se centra en el estudio de la OL (baja frecuencia), y la señal de ECG distribuye principalmente su energía fuera del rango de frecuencia de la actividad de la OL intestinal, no se realiza un estudio más exhaustivo de esta interferencia.

Debido a la interferencia cardíaca en MC y BIP, junto con la baja amplitud de las señales, especialmente en BC, resultó difícil la identificación de la onda lenta en el dominio temporal. La figura 3 muestra la densidad espectral de potencia de los registros filtrados cuya ventana de 120 s abarca a la señal temporal descrita anteriormente. Se puede ver una mayor actividad en el rango de 8-12 cpm en los registros bipolares concéntricos que en los monopulares y bipolares convencionales.

En lo que respecta a los parámetros calculados, se puede observar en la tabla 1 que el mayor %FD_{FTOL} medio en los monopulares concéntricos fue del 57,5 % (MC1), y entre los bipolares concéntricos de 61,4 % (BC2), mientras que fue del 50 % en los bipolares convencionales.

Se puede observar también que la ratio señal/interferencia de respiración es mayor para los bipolares concéntricos (6,15 dB para BC1) que para los monopulares y bipolares convencionales (4,52 dB para MC4 y 3,51 dB para BIP). Esto también se pudo observar en las PSD (figura 3) donde se aprecia que los registros monopulares y bipolares convencionales se ven más afectados por la respiración. Además, tanto las PSDs como la tabla 1 reflejan que a medida que aumenta el tamaño del anillo, mayor es la interferencia respiratoria.

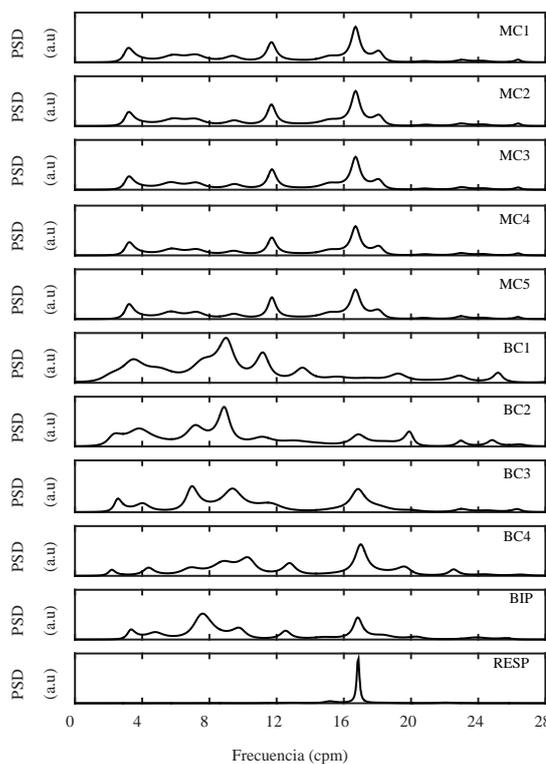


Figura 3. Densidad espectral de potencia (AR 120) de la ventana de 120 s que incluye las señales mostradas en la figura 2.

Señal	%FD _{FTOL}	S/I _{RESP} (dB)	S/I _{BF} (dB)	%FD _{OL}
MC1	57,5±10,1	5,04±3,68	3,75±3,25	89,4±5,1
MC2	57,1±10,4	4,93±3,71	3,90±3,22	89,4±5,4
MC3	56,3±10,2	4,66±3,74	3,82±3,12	88,5±6,1
MC4	55,3±9,6	4,52±4,07	3,85±3,06	89,1±5,8
MC5	54,1±8,5	4,56±3,46	3,97±3,22	87,3±5,5
BC1	60,1±6,5	6,15±3,25	2,90±2,88	92,4±4,3
BC2	61,4±10,1	5,96±4,31	3,54±2,87	94,9±3,7
BC3	52,9±13,1	4,47±4,86	3,77±2,98	92,2±3,8
BC4	54,7±18,1	4,17±6,26	4,00±3,10	92,9±3,3
BIP	50,1±10,2	3,51±3,73	4,63±3,44	88,5±8,8

Tabla 1. Resultado de parámetros (media ± desv. estándar). Porcentaje de ventanas en que la FD se encuentra dentro del rango de la onda lenta, ratio señal/interferencia de respiración y baja frecuencia, porcentaje FD descartando esas interferencias.

Por otro lado, los registros bipolares convencionales se vieron menos afectados por las interferencias en baja frecuencia; con media de ratio S/I_{BF} de 4.63 dB.

En cuanto a los registros monopulares concéntricos mostraron valores similares para todas las dimensiones de anillos (en torno a 3.9 dB); mientras que en los bipolares concéntricos se observa que mayor diámetro supone menor interferencia de baja frecuencia (comportamiento opuesto al que presentaba la interferencia respiratoria), con valores que se incrementan desde 2.9 hasta 4.0 dB.

La capacidad de captación de onda lenta, una vez descartados los picos en las PSDs asociadas a las principales interferencias (respiración y baja frecuencia) fue mejor para los bipolares concéntricos, con valores medios que alcanzan el 94,9 % (BC2) en comparación con los monopolares y bipolares convencionales que fueron de entorno al 89%.

4. Discusión

El electrodo multianular utilizado en este trabajo permite flexibilidad a la hora de seleccionar qué anillo capta mejor la señal; y fue desarrollado sobre sustrato flexible lo que permite una mejor adaptación a la curvatura de la piel en comparación con electrodos realizados en sustrato rígido [3], [10]. Además la característica de ser autoadhesivo, que no requiere de otros medios para fijarlo sobre la piel como se desarrollaron con otros sustratos flexibles [12], lo hace más cómodo de utilizar y pueden resultar más fiable en registros de duraciones prolongadas (>60 min). Del mismo modo, el hecho que trabajen en húmedo también mejora la impedancia de contacto electrodo-piel, lo que permite reducir la intensidad de la abrasión de la piel frente a trabajos anteriores [12], [10].

Los registros bipolares concéntricos se mostraron más inmunes a interferencias respiratorias y ECG, mejorando la calidad de los registros de EEnG, comparando con los registros monopolares concéntricos y los bipolares convencionales. Esto coincide con trabajos realizados en otros estudios con sustratos rígidos y flexibles [12], [10]. Esta característica facilita la detección de la onda lenta. Si bien este trabajo estuvo enfocado en el análisis de baja frecuencia, la cualidad de los bipolares concéntricos en ser más inmunes a la señal de ECG, puede facilitar la detección de los *spike burst* en estudios de EEnG en alta frecuencia.

En la configuración MC del electrodo, se pudo observar que los registros con los cinco tamaños presentaron similares valores de parámetros de calidad de señal. No obstante, en los BC, la onda lenta pudo ser captada en mejor de los casos con los anillos medianos (BC2, 30mm), que alcanzan un balance entre el mejor comportamiento frente a interferencia respiratoria de los pequeños y la mejor respuesta de los grandes a la interferencia de baja frecuencia. Tamaños similares a los de esta configuración también presentaron valores similares en otros trabajos, aunque a diferencia de ellos, en el presente trabajo los electrodos utilizados no eran activos con circuitos preamplificadores [12].

5. Conclusión

La capacidad de captar las ondas lentas intestinales se ve muy influenciada con la capacidad de rechazo de sus principales interferencias, en este sentido, se puede concluir que el uso de electrodos concéntricos flexibles en configuración bipolar mejora la calidad de la señal de EEnG, lo que podría acercar esta técnica a la aplicación clínica

Referencias

- [1] Besio W, Aakula R, Dai W. Comparison of bipolar vs. tripolar concentric ring electrode Laplacian estimates. *Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, vol. 3, 2004, pp. 2255–8 (ISSN: 1557-170X).
- [2] Bradshaw LA, Richards WO, Wikswo JP. Volume conductor effects on the spatial resolution of magnetic fields and electric potentials from gastrointestinal electrical activity. *Medical & biological engineering & computing*, vol. 39, no. 1, 2001, pp. 35–43 (ISSN: 0140-0118).
- [3] Besio W, Aakula R, Koka K, Dai W. Development of a tripolar concentric ring electrode for acquiring accurate Laplacian body surface potentials. *Annals of biomedical engineering*, vol. 34, no. 3, 2006, pp. 426–35 (ISSN: 0090-6964).
- [4] Lu CC, Tarjan PP. An ultra-high common-mode rejection ratio (CMRR) AC instrumentation amplifier for Laplacian electrocardiographic measurement. *Biomedical Instrumentation and Technology*, vol. 33, no. 1, 1999, pp. 76–83 (ISSN: 08998205).
- [5] Vantrappen G. Small intestinal motility and bacteria, in *Gastrointestinal motility*, vol. 67, no. 9, K. V. D. W. Peter J. Heidt, Volker Rusch, Ed. Old Herborn University, 1997, pp. 53–67.
- [6] Fleckenstein P, Oigaard A. Electrical spike activity in the human small intestine. A multiple electrode study of fasting diurnal variations. *The American journal of digestive diseases*, vol. 23, no. 9, 1978, pp. 776–780 (ISSN: 0002-9211).
- [7] Quigley EM. Gastric and small intestinal motility in health and disease. *Gastroenterology clinics of North America*, vol. 25, no. 1, 1996, pp. 113–45 (ISSN: 0889-8553).
- [8] Chang F-Y, Lu C-L, Chen C-Y, Luo J-C, Lee S-D, Wu H-C, Chen JZ. Fasting and postprandial small intestinal slow waves non-invasively measured in subjects with total gastrectomy. *Journal of gastroenterology and hepatology*, vol. 22, no. 2, 2007, pp. 247–52 (ISSN: 0815-9319).
- [9] Chen JD, Schirmer BD, McCallum RW. Measurement of electrical activity of the human small intestine using surface electrodes. *IEEE transactions on bio-medical engineering*, vol. 40, no. 6, 1993, pp. 598–602 (ISSN: 0018-9294).
- [10] Prats-Boluda G, Garcia-Casado J, Martinez-de-Juan JL, Ye-Lin Y. Active concentric ring electrode for non-invasive detection of intestinal myoelectric signals. *Medical engineering & physics*, vol. 33, no. 4, 2011, pp. 446–55 (ISSN: 1873-4030).
- [11] Prats-Boluda G, Ye-Lin Y, Bueno Barrachina JM, Senent E, Rodriguez de Sanabria R, Garcia-Casado J. Development of a portable wireless system for bipolar concentric ECG recording. *Measurement Science and Technology*, vol. 26, no. 7, 2015, p. 075102 (ISSN: 0957-0233).
- [12] Garcia-Casado J, Zena-Gimenez V, Prats-Boluda G, Ye-Lin Y. Enhancement of Non-Invasive Recording of Electroenterogram by Means of a Flexible Array of Concentric Ring Electrodes. *Annals of Biomedical Engineering*, vol. 42, no. 3, 2013, pp. 1–10 (ISSN: 1573-9686).

Desarrollo y validación de un sistema de caracterización electrofisiológica cardíaca mediante mapeo óptico en un modelo de corazón aislado porcino

R. Albert Martínez¹, A. M. Climent², M. Rodrigo Bort¹, M. S. Guillem¹

¹ ITACA, Universitat Politècnica de Valencia, Valencia, España, ramalmar@epsa.upv.es

² Servicio de Cardiología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

Resumen

La hipertensión juega un importante papel en la iniciación y mantenimiento de arritmias tales como la fibrilación auricular. En el presente trabajo se ha desarrollado y validado un conjunto de módulos electrónicos y mecánicos para el mantenimiento y la caracterización electrofisiológica de corazones aislados porcinos con presión aórtica regulada. Además, fue incluido un sistema de mapeo óptico capaz de registrar la actividad eléctrica cardíaca, así como un sistema de medición de parámetros fisiológicos tales como la temperatura, pH y presión. El funcionamiento del sistema fue evaluado durante varios experimentos, donde se comprobó el funcionamiento de cada uno de sus componentes. El equipo desarrollado representa un gran avance en la automatización de la investigación básica en electrofisiología cardíaca.

1. Introducción

Algunos estudios afirman que la hipertensión juega un papel importante en la aparición de episodios fibrilatorios [1- 5]. Según estos autores, los altos niveles de presión en la aurícula se asocian con cambios estructurales en el tejido de la misma que predisponen a la iniciación y perpetuación de la fibrilación auricular (FA). Estos cambios incluyen una alteración en la función mecánica auricular, una electrofisiología alterada y un aumento de la actividad ectópica, por lo que un aumento de la presión auricular comporta una mayor probabilidad de aparición de FA [6-7]. El análisis de los cambios provocados por un aumento de presión en las propiedades electrofisiológicas auriculares es de gran importancia para la plena comprensión de los mecanismos que originan y mantienen la FA así como para el desarrollo de nuevas terapias.

Con el fin de aprender más acerca de los mecanismos de acción de la FA, muchos esfuerzos son dirigidos hacia la experimentación con animales. Algunas técnicas experimentales han sido desarrolladas con el fin de estudiar el comportamiento electrofisiológico de la FA bajo situaciones controladas. Una de estas técnicas más utilizada es la preparación Langerdoff, donde se simulan unas condiciones fisiológicas que permiten mantener vivo un corazón aislado animal mediante la perfusión de un líquido que proporciona los nutrientes necesarios [8]. Esta técnica permite controlar algunas condiciones fisiológicas del corazón, tales como la temperatura, el pH o la presión de la aurícula [9]. Además, el registro de la actividad

eléctrica cardíaca puede llevarse a cabo mediante el uso de la técnica de mapeo óptico. Esta técnica permite obtener registros de la actividad eléctrica gracias a grabaciones de video mediante una cámara de alta velocidad y un tinte fluorescente inyectado [10-12], logrando de esta forma una mayor resolución espacial que mediante el uso del registro eléctrico.

La falta de equipamiento comercial que se adapte plenamente a las necesidades de este experimento fue la principal motivación de este trabajo, además de los beneficios de poseer un equipo propio de experimentación con un menor coste y con una mayor versatilidad. En este trabajo se presenta un conjunto de equipos electrónicos y mecánicos para la caracterización electrofisiológica de corazones aislados porcinos mediante control de la presión aórtica.

2. Métodos

La Figura 1 muestra un diagrama general del sistema diseñado. Este sistema se divide en 3 módulos funcionales: el control de variables fisiológicas, el control de la iluminación del registro óptico y el sistema de estimulación, todos ellos interconectados a través de una red inalámbrica. Además, un software de control fue programado para gestionar y monitorizar de forma intuitiva los diferentes módulos a través de un PC.

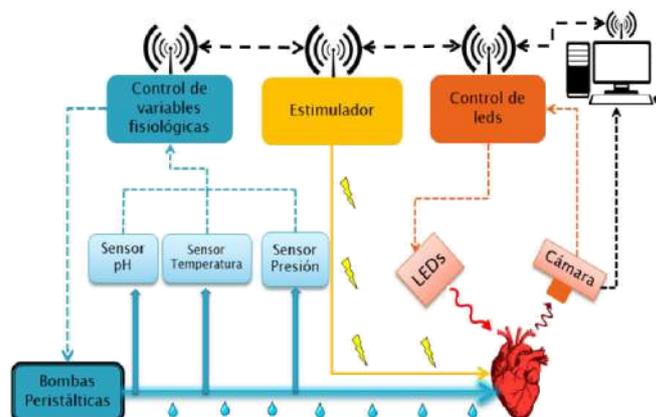


Figura 1. Diagrama del sistema

2.1 Sistema Langendorff de perfusión.

Para mantener en un estado óptimo el corazón aislado durante el experimento, se ha implementado un sistema de perfusión tipo Langendorff. Este sistema consiste en un circuito donde se hace fluir una solución nutriente llamada Tyrode que es oxigenada y calentada a 37° C para finalmente ser introducida en el corazón. De esta manera, se nutren las células cardíacas y se consigue simular unas condiciones fisiológicas que permiten mantener vivo el corazón. Este sistema requiere un control correcto de la presión del fluido, temperatura y pH. Del buen control de estas variables dependerá el éxito del experimento.

2.2 Control de variables fisiológicas

El módulo de control de variables fisiológicas permite controlar el montaje Langendorff regulando el caudal proporcionado por las bombas peristálticas y monitoriza diferentes variables fisiológicas: la temperatura, la presión de la aurícula y el pH. Dicho módulo consiste en un microcontrolador basado en arquitectura Arduino, un conjunto de acondicionadores de señal para los sensores y un controlador de potencia para las bombas peristálticas.

Mediante la medición de la presión de la aurícula y el control de la potencia de las bombas, el sistema es capaz de establecer automáticamente un valor deseado de la presión de la aurícula. Por otra parte, el microcontrolador envía constantemente las mediciones fisiológicas al PC gracias a una red inalámbrica basada en protocolo ZigBee para finalmente ser mostradas en pantalla.

2.3 Estimulador

Con el fin de estudiar la electrofisiología auricular en los corazones aislados porcinos, el músculo auricular es sometido a estímulos eléctricos externos. Estos impulsos eléctricos son capaces de inducir ritmos de activación en el músculo auricular con el fin de investigar el comportamiento eléctrico bajo condiciones de estimulación eléctrica controlada. Además, la estimulación del tejido auricular permite facilitar la inducción de episodios de FA. Se implementó un electroestimulador de 4 canales controlado a través de PC y comunicado de forma inalámbrica para aplicar protocolos de estimulación programables. Este estimulador incluye un microcontrolador Arduino encargado de comandar varias placas de hardware diseñadas para este propósito. Este hardware está compuesto por varias PCBs que incluyen los elementos necesarios para la generación y amplificación de un canal de estimulación eléctrica. Para facilitar la monitorización del funcionamiento del estimulador, se añadieron unos pequeños pilotos que se iluminan en sincronía con los pulsos de estimulación eléctrica permitiendo conocer el estado de la estimulación de cada uno de los canales. Gracias a este sistema se consiguió establecer protocolos de estimulación con ancho de pulso, frecuencia y amplitud configurables independientemente para cada uno de los canales.

2.4 Control de LEDs

Durante un experimento de mapeo óptico cardíaco, el corazón debe ser iluminado para excitar los tintes fluorescentes cuya emisión de luz se utiliza para medir la actividad eléctrica del corazón. En aquellos casos en que se utilicen dos tintes para medir simultáneamente el potencial de membrana y la concentración de Ca^{2+} intracelular, se necesitan dos fuentes de luz LED de diferentes longitudes de onda. Sin embargo, ya que la emisión de los tintes comparten parte de su espectro de luz, estos tienen que ser conmutados alternativamente a una gran velocidad con el fin de coincidir con las capturas que realiza la cámara de alta velocidad [10]. La sincronización de la conmutación de la luz tiene que ser muy rápida y fiable, ya que la cámara de alta resolución funciona a 1000 fotogramas por segundo. El sistema implementado proporciona un elemento capaz de conmutar el encendido de los LEDs a alta velocidad con el fin de intercalar en cada uno de los fotogramas capturados por la cámara una variable fisiológica diferente al modificar el espectro de luz de excitación de los distintos tintes. Además, el control de LEDs también posee la capacidad de controlar la potencia de la iluminación mediante una señal analógica generada por un DAC. Esta señal actúa sobre la base de un transistor de potencia logrando el control de la corriente que atraviesa el transistor a través del colector y el emisor. De esta forma se consigue el control de la luz emitida de un LED conectado en serie con el colector del transistor [10]. Esto es especialmente útil para la calibración previa de la iluminación.

2.5 Preparación Langendorff con presión controlada

Después de la anestesia y sedación, el corazón porcino se extrajo tras toracotomía y posteriormente se introdujo en una solución cardiopléjica. Todos los vasos sanguíneos, excepto la aorta y la vena cava inferior se sellaron y se realizó una punción transeptal para la conexión de ambas aurículas. A continuación, el corazón se conectó al sistema de Langendorff a través de una cánula en la aorta [13-14]. (ver Fig. 2).

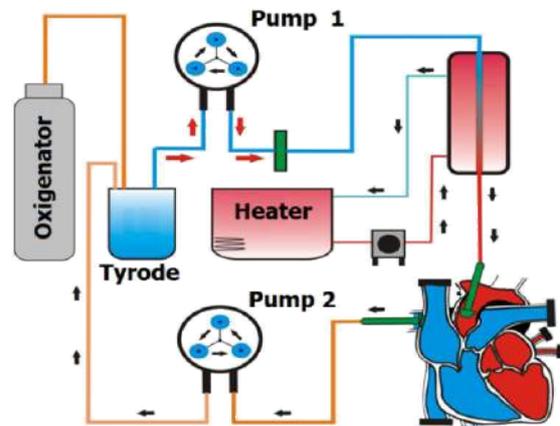


Figura 2. Sistema Langendorff con presión controlada

Dado que la válvula aórtica permaneció cerrada, la solución oxigenada con todos los nutrientes (solución de Tyrode) se desvió a las arterias coronarias debido al flujo de perfusión proporcionado por la bomba peristáltica. La

solución nutritiva ingresó en la aurícula derecha a través del seno coronario después de irrigar todo el músculo del corazón, llenando ambas aurículas a través de la punción transeptal y también ambos ventrículos. El drenaje de la solución de Tyrode se llevó a cabo a través de una cánula colocada en la vena cava inferior. La diferencia entre el flujo de perfusión y el de drenaje mediante el uso de dos bombas peristálticas permitió el control de la presión del líquido nutriente aplicado contra las paredes de la aurícula, provocando el aumento del tamaño auricular. Una vez que el corazón porcino se mantuvo estable, 800 ml de tinte fotométrico Di-4 ANEPPS sensible al potencial transmembrana se introdujeron en el corazón por la cánula aórtica. Se aplicó estimulación eléctrica a la superficie cardíaca utilizando el estimulador a fin de generar ritmos auriculares controlados. Después de que el corazón se activara con diferentes protocolos de estimulación, un episodio FA fue inducido por el aumento de la frecuencia de la estimulación eléctrica y el aumento del tamaño auricular producido por el incremento de la presión en el circuito. La actividad eléctrica de la aurícula se registró mediante la técnica de registro óptico utilizando el sistema de control de LEDs y la cámara de alta velocidad Evolve 128, con un sensor CCD de 128x128 píxeles capturando imágenes de la superficie cardíaca a una frecuencia de 1000 fotogramas por segundo.

3. Resultados

Con el fin de validar el rendimiento del sistema, varios experimentos fueron llevados a cabo utilizando el equipo desarrollado. En primer lugar, se midió la presión aórtica usando el módulo de variables fisiológicas para diferentes flujos de la bomba de perfusión. Fueron aplicados incrementos de flujo en el intervalo de 150 ml / min utilizando la bomba peristáltica de perfusión. Esto dio lugar a un aumento en la presión aórtica de 66 mmHg a 105 mmHg mostrando la relación directa entre el flujo de perfusión y la presión intracavitaria. (véase Figura 3).

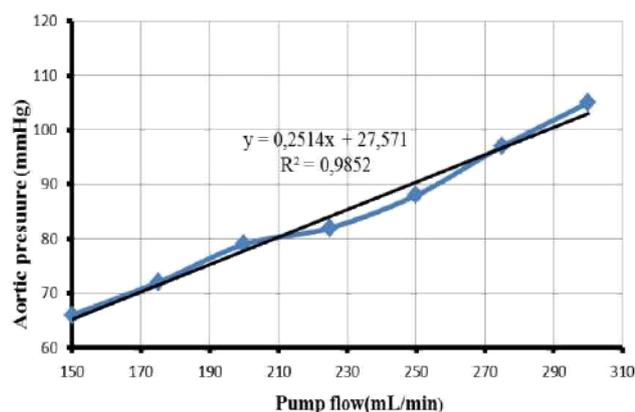


Figura 3. Gráfico de presión aórtica en función del caudal de la bomba

Con el fin de obtener un registro óptico adecuado, se estudió el control de la intensidad de la luz LED. Para ello, se realizaron incrementos de tensión de alimentación de leds de 2,7 V a 3,5 V y se analizó la amplitud de la señal emitida por el tinte en cada caso (ver Figura 4).

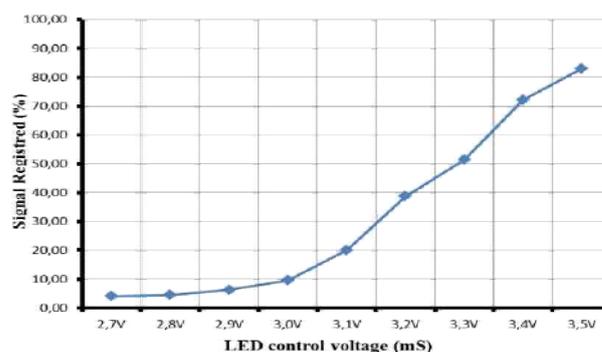


Figura 4. Nivel de señal obtenida dependiente de la tensión de iluminación de los LEDs.

Como era de esperar, el aumento de los niveles de tensión de alimentación de los LEDs provocó un aumento de la amplitud de la señal recibida por la cámara. No obstante, voltajes inferiores a 3 V no proporcionaron amplitudes de señal más altas que el ruido existente.

Se aplicaron varios estímulos eléctricos con periodos de estimulación diferentes consiguiendo que la actividad rítmica del corazón se sincronizara con los estímulos aplicados. Además, se realizaron registros ópticos para cada uno de los periodos de estimulación aplicados con el fin de comprobar el funcionamiento del estimulador desarrollado. Las señales registradas fueron filtradas mediante un filtro paso banda entre 1 y 20 Hz y se midió la duración del potencial de acción en el 50% de su amplitud (APD50). Se observó que el aumento del periodo de estimulación provocaba un aumento del APD50, tal y como se describe en la literatura.

Durante el registro de la Figura 5, se aplicaron estímulos con un periodo de 500ms en el lado izquierdo del ventrículo. El mapa de isócronas representa el tiempo de activación en cada región cardíaca. La primera región activada eléctricamente es la parte izquierda del corazón (en rojo) donde se situó el electrodo # 1, el resto del tejido es progresivamente activado para finalmente terminar en el punto #3 aproximadamente 120ms después del inicio.

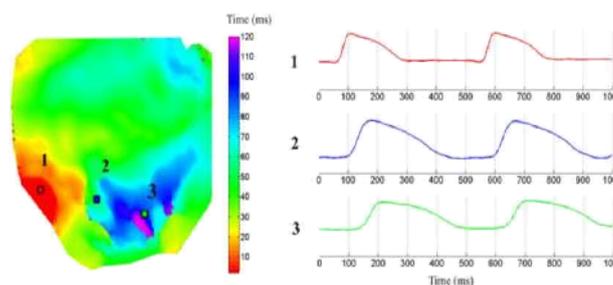


Figura 5. Mapa de isócronas (izquierda) y medidas individuales de varios píxeles (derecha) de un registro óptico ventricular.

Por último, un episodio de FA fue inducido después de aplicar una estimulación eléctrica con un periodo de 180 ms. La Figura 6 muestra el mapa de isócronas y el potencial de acción de 3 localizaciones.

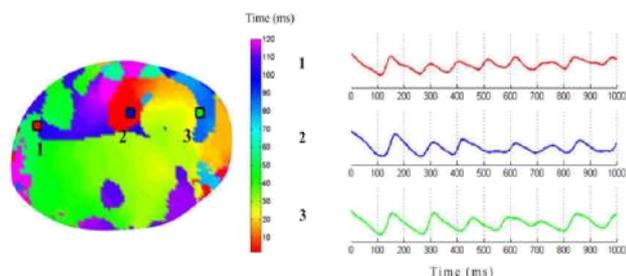


Figura 6. Mapa de isócronas (izquierda) y mediciones individuales de píxeles (derecha) de un registro óptico auricular durante registros de FA. Las posiciones de estas señales (derecha) están numeradas en el mapa de isócronas (izquierda).

El anterior mapa de isócronas ilustra la naturaleza caótica durante un episodio de FA donde se pueden identificar varios frentes de activación simultáneos. Este comportamiento también es observado en las señales individuales, donde los tiempos de activación y la forma del potencial de acción son difíciles de identificar.

4. Discusión

En este trabajo, se ha desarrollado y validado un sistema de control electrónico para experimentación cardiaca. El desarrollo de este sistema ha permitido el control de la presión auricular, la aplicación de estímulos eléctricos programados, el control de encendido, sincronía de los LEDs y finalmente la medición de las variables más importantes del sistema Langendorff. Los módulos desarrollados han demostrado su correcto funcionamiento durante varios experimentos de corazón aislado porcino. Gracias a este sistema se han logrado varias mejoras respecto a anteriores prototipos utilizados anteriormente. En primer lugar, este es el primer sistema que incluye en un mismo software de control la gestión integral de todos los subsistemas que coexisten en un experimento de corazón aislado. Por otra parte, la conexión inalámbrica y su mecanizado en cajas diseñadas especialmente para su uso en entornos de laboratorio han permitido la utilización de los módulos en el mismo espacio de trabajo en el que se lleva a cabo el experimento. La automatización de ciertas tareas como el control de bombas o luces LED permite al investigador centrarse en tareas más importantes durante el experimento. Además, la independencia de los diferentes módulos permite que estos continúen funcionando en caso de interrupción de la comunicación con el PC. Finalmente, este es el primer equipo de control para sistemas de perfusión Langendorff que permite el control automático de la presión aórtica a través del flujo de la bomba.

5. Conclusión

En el presente trabajo se describe un sistema de control modular para experimentos con corazones aislados y perfundidos mediante presión controlada. El control automático de la presión se logró mediante la gestión del flujo de la bomba de perfusión. Se incluyeron en el sistema una red inalámbrica ZigBee y se unificó el software de control. Este equipo fue instalado y validado en laboratorio dando un resultado satisfactorio durante varios experimentos de corazón aislado porcino.

Referencias

- [1] Miller JT., O'rouke RA, Crawford MH. Left atrial enlargement: an early sign of hypertensive heart disease. *Am. Heart. J.*, vol 116, sup 4, 1988, pp 1018-1051.
- [2] Healey JS., Connolly SJ. Atrial fibrillation Hypertension as a causative agent, Risk Factor for complications and potential therapeutic Target. *Am J Cardio.*, vol 91, sup 10, 2003, pp 9G-14G.
- [3] Dunn FG, Chandraratna P, Dacarvalho JGR, Basta LL , Frohlich ED. Pathophysiologic assessment of hypertensive heart disease with echocardiography. *Am. J. Cardiol* vol 39, sup 6, 1977, pp 789-795.
- [4] Tarazi RC, Miller A, Frohlich ED, Dustan HP. Electrocardiographic changes reflecting left atrial abnormality in hypertension. *Circulation*, vol 34, 1966 , pp 818-822.
- [5] Frohlich ED., tarazi RC, Dustan HP. Clinical-physiological correlations in the development of hypertensive heart disease. *Circulation* vol 44, 1971, pp 446-455
- [6] Pearson AC, Gudipati C, Nagelhout D, Sear J, Cohen JD, Labovitz AJ. Echocardiographic evaluation of cardiac structure and function in elderly subjects with isolated systolic hypertension. *J. Am. Coll. Cardiol* vol 17, sup 2, 1991 , pp 422-430.
- [7] Kannel WB, Wolf PA, Benjamin EJ, Levy D. Prevalence, incidence, prognosis, and predisposing conditions for atrial fibrillation: population-based estimates. *Am. J. cardiol*, vol 82 ,sup 8, 1998 , 2N-9N.
- [8] Langendorff O. Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen Investigation of the living mammalian heart. *Pflügers*, vol 61 ,1895 , 291.
- [9] Chorro Gascó FJ, Such-Belenguer L, López-Merino V. Modelos animales de enfermedad cardiovascular, *Revista Española De Cardiología*, vol 62 , 2009 , pp 69.
- [10] Lee P, Yan P, Ewart P, Taghavi F, Yan P, Ewart P, Ashley EA, Loew LM, Kohl P, Bollensdorff C, Woods CE. In Situ Optical Mapping of Voltage and Calcium in the Heart, vol 7, 2012 , e42562. doi:10.1371/journal.pone.0042562.
- [11] Encheva E,m., Kostov Y, Tchernev E, Tung L. Fluorescence imaging of electrical activity in cardiac cells using an all-solid state system. *IEE trasnBiomed*, vol 51, sup 2, 2004 ,pp 333-41.
- [12] Efimov IR, Vladimír P, Nikolski, Salama G. Optical Imaging of the Heart of the Heart *Circ Res*, vol 94 , sup 1, 2004, pp 21-33.
- [13] Filgueiras-Rama D, Martins RP., Ennis SR., Mironov S, Jiang J, Yamazaki M, Kalifa J, Jalife J, Berenfeld O. Optical Mapping in a Sheep Model of Stretch-Induced Atrial Fibrillation. *J Vis Ex*, vol. 29, 2011, pp 3103. doi: 10.3791/3103.
- [14] Ravelli F, Alessie M. Effects of Atrial Dilatation on Refractory Period and Vulnerability to Atrial Fibrillation in the Isolated Langendorff-Perfused Rabbit Heart. *Circulation*, vol 96, sup 5, 1997, pp 1686-1695.

Localización de fuentes fibrilatorias mediante sistemas reducidos de cartografía eléctrica de superficie durante fibrilación auricular

M. Rodrigo¹, M.S. Guillem¹, A.M. Climent², A. Liberos¹, F. Fernández-Avilés²,
F. Atienza², O. Berenfeld³

¹ ITACA, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, (mirodbor@teleco.upv.es)

² Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

³ Center for Arrhythmia Research, University of Michigan, Ann Arbor, USA

Resumen

La ablación de fuentes fibrilatorias ha demostrado reducir la aparición de nuevos episodios de Fibrilación Auricular (FA). Las fuentes fibrilatorias pueden ser localizadas no invasivamente mediante el uso de sistemas de Cartografía Eléctrica de Superficie (CES), aunque estos sistemas no se usan en la práctica clínica debido a su gran número de electrodos. Este trabajo estudia la cantidad de electrodos necesaria para una detección eficaz.

Nueve configuraciones uniformes de 8 a 66 electrodos fueron evaluadas en 14 pacientes con FA. Las señales de CES se obtuvieron simultáneamente a registros invasivos auriculares. Las medidas de Frecuencia Dominante (FD) y rotores superficiales se compararon con las medidas invasivas.

Los resultados obtenidos mostraron que 12 electrodos son suficientes para la detección no invasiva de FD: el error medio cometido fue estable e inferior a 0.5 Hz y la correlación superior a 0.8 para configuraciones de 12 o más electrodos. Sin embargo, para la detección de rotores superficiales se requieren al menos 32 electrodos: la distribución de rotores presentó valores altos de correlación (>0.8) para configuraciones de 32 o más electrodos, y su presencia en áreas relacionadas con aurícula derecha (AD) e izquierda (AI) presentó diferencias significativas entre pacientes con AD o AI más rápida en configuraciones de 32 o más electrodos.

Los sistemas reducidos de CES permiten distinguir entre fuentes fibrilatorias de AI o AD con resultados similares a los obtenidos con sistemas de alta resolución. Estos resultados abren la puerta al uso en la práctica clínica de la CES de bajo coste.

1. Introducción

Diversos estudios han demostrado la existencia de fuentes fibrilatorias responsables del mantenimiento de la Fibrilación Auricular (FA), y cuya ablación puede evitar la aparición de nuevos episodios. Estas fuentes fibrilatorias pueden identificarse como regiones auriculares con actividad espontánea a un ritmo de activación elevado [1] o regiones con actividad eléctrica auto-sostenida mediante un patrón reentrante [2]. La Cartografía Eléctrica de Superficie (CES) permite la identificación no invasiva de las fuentes fibrilatorias, bien mediante la medida de Frecuencias Dominantes (FD) [3] o de rotores superficiales [4], y se postula como una herramienta útil para la selección de pacientes y planificación de procedimientos de ablación. Pese sus

prometedores resultados, el principal inconveniente para la introducción de esta técnica diagnóstica en la práctica clínica es la complejidad de los sistemas de registro, con decenas e incluso centenas de derivaciones. El propósito de este trabajo es estudiar el número de electrodos necesarios para la localización no invasiva de las fuentes fibrilatorias, con el objetivo proporcionar un sistema de CES simplificado que proporcione resultados útiles en pacientes con FA.

2. Métodos

Se incluyeron 14 pacientes de FA persistente/paroxística refractarios a fármacos y admitidos para ablación. Todos los pacientes dieron su consentimiento informado y el protocolo fue aprobado por el Comité Ético del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid.

Se obtuvieron electrogramas intracardiacos (EGM) de las dos aurículas mediante el uso de catéteres introducidos a través de la vena femoral izquierda. Simultáneamente se registraron los electrocardiogramas (ECG) en una distribución de 66 electrodos colocados en el torso del paciente (Figura 1A). La actividad ventricular fue pausada mediante la administración de un bolo de adenosina y se utilizaron segmentos sin actividad ventricular de 4 segundos de duración para el análisis [3-4].

El efecto del número de derivaciones se estudió en 8 configuraciones uniformemente distribuidas de 8, 12, 18, 24, 32, 42, 54 y 66 electrodos y en la configuración estándar de 8 electrodos (Figura 1A). La actividad eléctrica del torso se proyectó sobre un modelo genérico de torso 3D en el que el potencial superficial fue reconstruido utilizando las señales de los diferentes conjuntos de derivaciones. La señal de los nodos desconocidos se calculó como la media ponderada de los nodos con señal original, en la que el peso de cada nodo original se estableció proporcional a d^{-4} , siendo d la distancia entre el nodo original y el nodo desconocido. Se definieron 2 áreas superficiales relacionadas con la actividad eléctrica auricular (Figura 1B): Aurícula Izquierda (AI) cubriendo la parte izquierda, superior y trasera superior del torso; y Aurícula Derecha (AD) cubriendo la parte delantera, derecha y trasera inferior [3-

4]. También se segmentó el torso en 7 áreas genéricas (Figura 1C) con el objetivo de medir la estabilidad en la distribución de rotores.

La Densidad Espectral de Potencia (DEP) se calculó en las señales de ECG y EGM mediante el periodograma de Welch, y la Frecuencia Dominante (FD) se obtuvo como la contribución dominante entre 3 y 30 Hz. En las medidas no invasivas, se consideró la DF de la AD/AI la FD más alta presente en el área superficial de la AD/AI respectivamente, y la FD más alta del torso completo como la FD Superior (FDS).

Por último, los potenciales superficiales reconstruidos en el torso 3D fueron remuestreados a 128 Hz y filtrados en banda estrecha con un filtro centrado en la FDS con un ancho de banda de 2 Hz. Posteriormente se calcularon los mapas de fase mediante la transformada de Hilbert, y se definieron las singularidades de fase (SF) como aquellos nodos rodeados por fases desde 0 a 2π . Aquellas SF presentes durante dos rotaciones completas se consideraron como rotores [4].

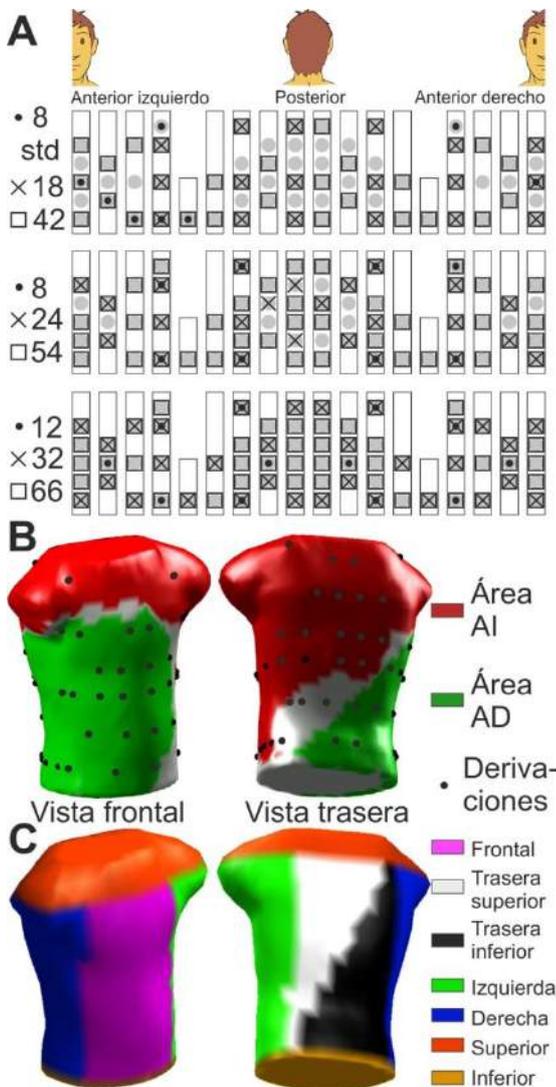


Figura 1. Distribución de derivaciones y áreas en el torso. (A) Distribución de los conjuntos de derivaciones. (B) Torsor 3D con las 66 derivaciones (puntos negros) y las áreas de AI (rojo) y AD (verde). (C) Distribución de las 7 áreas del torso usadas para evaluar la estabilidad de los rotores.

3. Resultados

3.1. Frecuencias dominantes

En primer lugar se procedió a evaluar la distribución de FD en el torso de los pacientes para la configuración de máxima resolución (66 electrodos), y la relación de esta distribución con las FD detectadas invasivamente en ambas aurículas. La Figura 2 muestra el error medio observado entre la FD medida en la superficie del torso y la FD medida en el EGM de la aurícula izquierda (arriba) o derecha (abajo). Se puede observar como existen áreas en las que el error es significativamente menor para cada aurícula: la región izquierda del torso, incluyendo la axila, para la AI, y la región delantera derecha para la AD.

Con el objetivo de evaluar la detección de FD para las diferentes configuraciones de electrodos se evaluó el error cometido al calcular la FD superior (FDS) entre la medida invasiva y no invasiva (Figura 3A). Se puede observar que este error es superior en las distribuciones de 8 electrodos, tanto estándar como uniforme ($> 1\text{Hz}$) que en configuraciones de 12 o más electrodos. A partir de 12 electrodos el error medio al calcular la FDS se estabiliza alrededor de 0.5 Hz. También se estimó la correlación entre las medidas invasivas y no invasivas, tanto para la FDS como para las frecuencias de la AI y AD y el gradiente entre ambas (AI-AD, Figura 3B). En este caso se observa que el coeficiente de correlación muestra valores bajos para las configuraciones de 8 electrodos y se estabiliza en valores relativamente altos para 12 electrodos o más (0.8 para AI, 0.9 para gradiente, 0.95 para AD y FDS), siguiendo una relación inversamente proporcional al error calculado en la Figura 3A. Estos resultados sugieren que el uso de más de 12 electrodos uniformemente distribuidos no aumenta la precisión en la medida no invasiva de la FD.

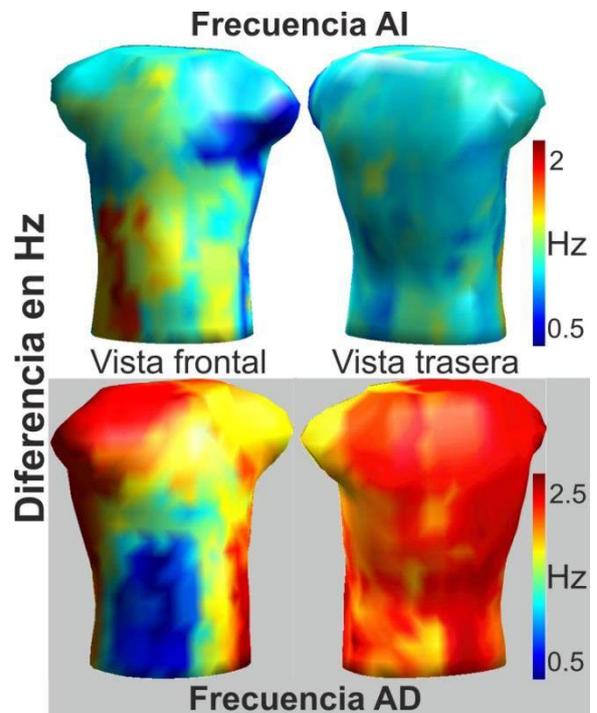


Figura 2. Distribución superficial del error medio en Hz entre la FD de la AI (arriba) o la AD (abajo) y la FD de la CES.

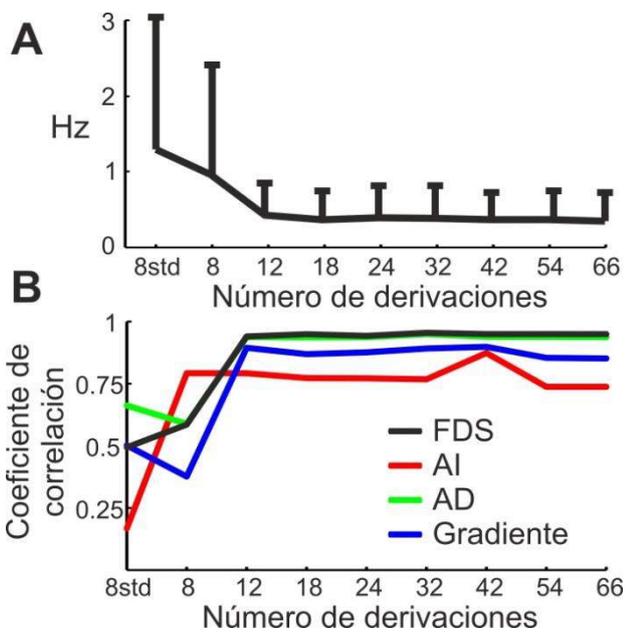


Figura 3. Relación entre medidas invasivas y no invasivas de la FD. (A) Error observado (en Hz) entre la FD Superior invasivamente (EGM) y no invasivamente (CES). (B) Coeficiente de correlación entre las medidas de FD invasivas (EGM) y no invasivas (CES).

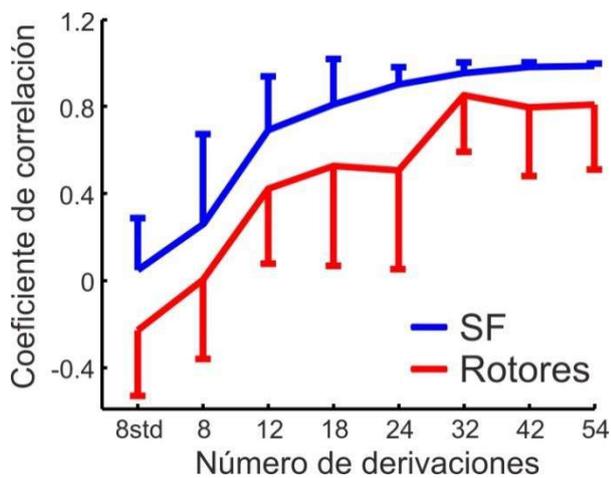


Figura 4. Estabilidad de la distribución de SF/Rotores en función del número de derivaciones.

3.2. Rotores de superficie

Con el objetivo de analizar el número de electrodos necesarios para la detección de fuentes fibrilatorias con patrón reentrante se procedió al cálculo de la coherencia de la distribución de rotores y SF detectada con resolución variable con la distribución obtenida con la máxima resolución (66 derivaciones). Para ello, se calculó el coeficiente de correlación del número de rotores o SF en cada una de las 7 áreas de la Figura 1C entre las distintas configuraciones y la configuración de máxima resolución (Figura 4). En esta figura se puede observar como la correlación presenta un valor bajo para configuraciones de pocos electrodos, y su valor aumenta para configuraciones con mayor número de electrodos. La correlación para SF presenta valores más altos (>0.95 para configuraciones de 24 o más electrodos) que para rotores (>0.8 para configuraciones de 32 o más electrodos).

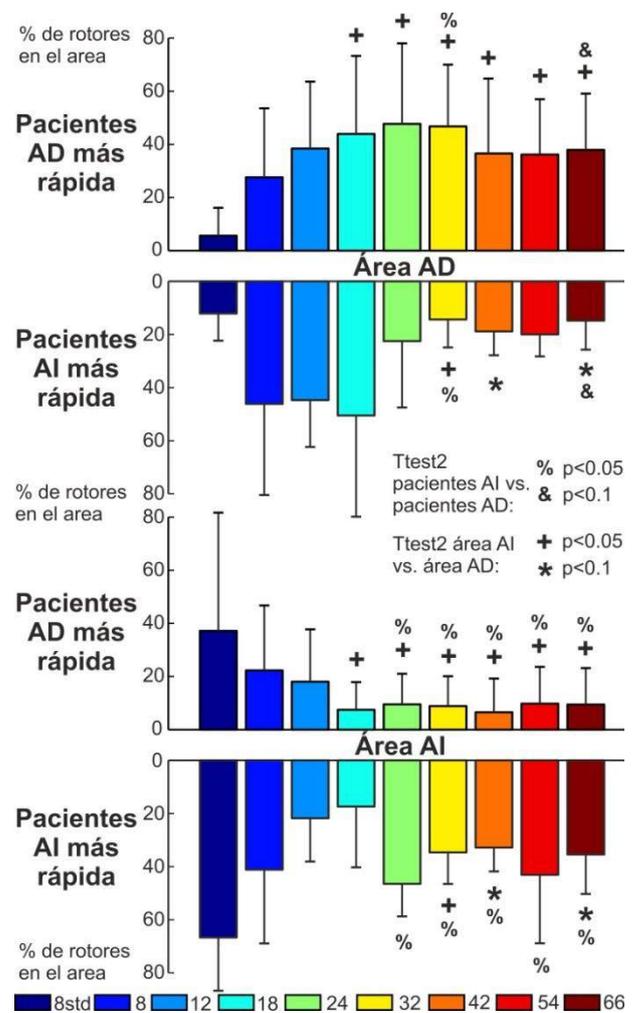


Figura 5. Distribución superficial de los rotores en las áreas de AD y AI para pacientes con la AD más rápida (arriba) y con la AI más rápida (abajo).

Por último, una vez analizada la precisión de las medidas no invasivas en función del número de electrodos, se procedió a analizar la habilidad de estas medidas para la discriminación de pacientes con FA. Para ello, se separaron los pacientes en dos grupos: aquellos con la AD más rápida medida en el EGM (N=10) y aquellos con la AI más rápida (N=4). Posteriormente, se cuantificó el porcentaje de rotores en las áreas de AD y AI del torso de la Figura 1B. En la Figura 5 se muestra el resultado de este cálculo, en el que se puede observar como los pacientes de AD más rápida muestran más rotores en el área de la AD, mientras que los pacientes con la AI más rápida muestran más rotores en el área de la AI. Sin embargo, la distribución de estos porcentajes solo tiene significancia estadística para configuraciones de 32 o más electrodos. La combinación de estos resultados con los de la figura 3 sugiere que para la detección no invasiva de rotores auriculares son necesarios al menos 32 electrodos uniformemente distribuidos.

4. Discusión

Aunque no existe un amplio consenso sobre la naturaleza de los mecanismos de mantenimiento de la FA, diversos estudios han demostrado la existencia de ciertas regiones auriculares cuya actividad es responsable del

mantenimiento de la FA, y cuya ablación evita la aparición de nuevos episodios fibrilatorios. Estas regiones han sido ampliamente estudiadas mediante técnicas invasivas de identificación de FD [1] y patrones reentrantes [2]. Además, también existe evidencia de que tanto las FD como los patrones reentrantes son detectables no invasivamente mediante el estudio de la CES [3-4]. Sin embargo, un problema para extender la CES a la práctica clínica es el gran número de derivaciones de este sistema.

Estudios anteriores defienden que el número de derivaciones necesarias para poder reconstruir las señales de CES es de aproximadamente 30 [5-7]. Este número es similar tanto para señales obtenidas en individuos sanos como en individuos con arritmias ventriculares o auriculares. Incluso en el caso de la FA, caracterizada por un patrón eléctrico definido como caótico, el número de electrodos a partir del cual no se aumenta la precisión de la señal reconstruida es aproximadamente 30 [7]. Hasta la fecha no se ha estudiado cuántos electrodos hacen falta para la identificación de fuentes fibrilatorias. Este estudio, en consonancia con los anteriores, defiende que para la identificación de patrones reentrantes durante episodios de FA son necesarios al menos 32 electrodos, ya que para ello se necesita la reconstrucción del mapa eléctrico de superficie completo. Sin embargo, para la medida de la FD, cuyo valor es extraído individualmente de cada derivación, 12 electrodos distribuidos uniformemente proporcionan suficiente precisión en el cálculo de la FD de ambas aurículas.

Es necesario mencionar que la CES es la única técnica que permite la obtención simultánea de señales de toda la extensión de ambas aurículas sin recurrir a complejos sistemas invasivos como los catéteres de tipo *balón*, escasamente introducidos en la práctica clínica debido al riesgo asociado a su tamaño. El registro panorámico de la actividad auricular mediante CES puede permitir la localización de fuentes fibrilatorias en escenarios en los que otros métodos fracasarían, concretamente en pacientes de FA crónica en los que no hay diferencias en la FD entre aurículas y cuya única técnica de localización es el mapeo panorámico en busca de patrones reentrantes.

Aunque el número de pacientes de este estudio es limitado, los resultados obtenidos se hayan en consonancia con los de estudios anteriores. Sin embargo, de la literatura se extrae que la colocación óptima de los electrodos en el torso es altamente dependiente de la población bajo estudio [6-7], por lo que en este trabajo se ha optado por analizar únicamente el número de electrodos para una distribución uniforme. Por último, los resultados de correlación obtenidos en este trabajo muestran valores para configuraciones de gran número de electrodos que son más bajas que las presentadas en otros trabajos superiores en algunos casos a 0.98 [5-7]. Ello se debe a que en este trabajo se han cuantificado medidas secundarias realizadas sobre la señal de ECG, altamente dependientes de pequeñas variaciones de la señal, mientras que los trabajos anteriores calculan valores de correlación entre las propias señales de ECG.

5. Conclusiones

Los sistemas de CES de baja resolución permiten obtener resultados similares en la localización de fuentes fibrilatorias auriculares que los sistemas de alta resolución. Este trabajo muestra que 12 electrodos uniformemente distribuidos son suficientes para la identificación de la FD de ambas aurículas, mientras que son necesarios al menos 32 para la localización de rotores en una u otra aurícula. Los resultados de este trabajo pueden ser la base para la introducción de sistemas no invasivos de bajo coste para la localización de fuentes fibrilatorias en pacientes con FA, ayudando a la selección de pacientes y la planificación del proceso de ablación.

Agradecimientos

Este trabajo ha recibido fondos de: Universitat Politècnica de València a través de sus iniciativas de investigación; Generalitat Valenciana (ACIF/2013/021); Fundación Española para la Investigación Sanitaria (PI13/00903); Sociedad Española de Cardiología; Ministerio de Ciencia e Innovación (Red RIC) y Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC-13).

Referencias

- [1] Atienza F, Almendral J, Ormaetxe JM, et al. Comparison of radiofrequency catheter ablation of drivers and circumferential pulmonary vein isolation in atrial fibrillation. A noninferiority randomized multicenter RADAR-AF Trial. *J Am Coll Cardiol*, vol 64, 2014, pp 2455-67 (ISBN: 978-0-7695-3982-9).
- [2] Narayan SM, Krummen DE, Clopton P, et al. Direct Or Coincidental Elimination of Stable Rotors or Focal Sources May Explain Successful Atrial Fibrillation Ablation: On-Treatment Analysis of the CONFIRM (CONventional ablation for AF with or without Focal Impulse and Rotor Modulation) Trial. *J Am Coll Cardiol*, vol 62, 2013, pp 137-47 (ISBN: 978-0-7695-3982-9).
- [3] Guillem MS, Climent AM, Millet J, et al. Noninvasive localization of maximal frequency sites of atrial fibrillation by body surface potential mapping. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, vol 6, sup 2, 2013, pp 294-301 (ISSN: 1941-3084).
- [4] Rodrigo M, Guillem MS, Climent AM, et al. Body surface localization of left and right atrial high-frequency rotors in atrial fibrillation patients: a clinical-computational study. *Heart Rhythm*, vol 11, sup 9, 2014, pp 1584-91 (ISSN: 1547-5271).
- [5] Lux RL, Smith CR, Wyatt RF, Abildskov JA. Limited lead selection for estimation of body surface potential maps in electrocardiography. *IEEE Trans Biomed Eng*, vol 25, sup 3, 1978, pp 270-6 (ISSN: 0018-9294).
- [6] Finlay DD, Nugent CD, Donnelly MP, Black ND. Selection of optimal recording sites for limited lead body surface potential mapping in myocardial infarction and left ventricular hypertrophy. *J Electrocardiol*, vol 41, sup 3, 2008, pp 264-71 (ISSN: 1532-8430).
- [7] Guillem MS, Bollmann A, Climent AM, et al. How many leads are necessary for a reliable reconstruction of surface potentials during atrial fibrillation? *IEEE Trans Inf Technol Biomed*, vol 13, sup 3, 2009, pp 330-40 (ISSN: 1089-7771).

Estudio comparativo de Núcleo Accumbens e Hipotálamo Lateral como Dianas de Estimulación Cerebral Profunda en el Tratamiento de la Obesidad

M. Casquero-Veiga¹, J. Pascau^{2,3}, M. Desco^{1,2,3}, ML. Soto-Montenegro^{1,2}

¹ Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España, mcasquero@hggm.es

² CIBER de Salud Mental (CIBERSAM), Madrid, España

³ Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, España

Resumen

En este trabajo se propone la Estimulación Cerebral Profunda (DBS) en el Núcleo Accumbens (NAcc) e Hipotálamo Lateral (LH) como tratamiento contra la obesidad. Se implantaron bilateralmente electrodos en treinta y cinco ratas Zucker obesas, formando cuatro grupos: NAcc-sham/DBS, LH-sham/DBS. La estimulación se aplicó durante quince días. Se monitorizaron peso e ingesta en los sujetos, y se evaluaron el efecto de la DBS y su durabilidad al mes sobre el metabolismo cerebral mediante PET con 2-desoxi-2-[¹⁸F]fluoro-D-glucosa.

La NAcc-DBS no afecta a peso o ingesta, aunque modula las vías cognitivas y de recompensa deterioradas en los individuos obesos. Por su parte, la LH-DBS reduce la ganancia de peso y produce cambios en los sistemas cerebrales de control de ingesta y recompensa [9], desapareciendo dichos efectos al retirar la estimulación en ambas dianas.

1. Introducción

La OMS define el sobrepeso y la obesidad como la acumulación anormal o excesiva de grasa que puede perjudicar a la salud [1]. Su prevalencia actual ha alcanzado niveles epidémicos, afectando la obesidad en 2014 al 13% de la población mundial y al 16.6% de la española [2]. Se trata de una patología multifactorial, con una importante base neuropsiquiátrica, en la cual los centros de saciedad y apetito cerebrales juegan un papel crucial. De hecho, la ingesta de comida activa los circuitos dopaminérgicos de recompensa, cuya alteración causa la adopción de comportamientos compulsivos y pérdida de control, muy similares a los observados en casos de drogadicción [3]. Por ello, la obesidad puede ser considerada como una “adicción a la comida”[4].

Actualmente los tratamientos se centran en rutinas físicas y dietéticas encaminadas a modificar el estilo de vida de los pacientes. Sin embargo, en casos de obesidad resistente a tratamiento, los especialistas recurren a procedimientos farmacológicos y quirúrgicos con importantes efectos secundarios, y que fracasan en el control a largo plazo de la enfermedad [5], [6]. Estos hechos resaltan la necesidad de encontrar nuevas aproximaciones terapéuticas.

Recientemente se ha propuesto la Estimulación Cerebral Profunda (DBS) como potencial estrategia terapéutica, la cual consiste en la estimulación de núcleos cerebrales profundos mediante electrodos localizados en el cerebro por medio de cirugía estereotáxica. Su actividad modifica

la función alterada de las dianas cerebrales mediante estímulos eléctricos enviados por un generador de pulsos, provocando un efecto ablativo mediante estimulación de alta frecuencia (100-130 Hz) [7]. Por ello, distintos estudios proponen el hipotálamo lateral (LH) [7] y el Núcleo Accumbens (NAcc) [8] como dianas, al albergar el centro del apetito y de recompensa, respectivamente.

La Tomografía por Emisión de Positrones (PET), junto con la 2-desoxi-2-[¹⁸F]fluoro-D-glucosa (FDG), supone una potente herramienta para la cuantificación de variaciones en el metabolismo de glucosa en diferentes regiones cerebrales. Así, es posible observar diferencias en los patrones de activación e inhibición neuronales, basadas en el acoplamiento metabólico existente entre la captación de glucosa astrocitaria y la activación neuronal, derivados de la acción de la DBS. Esta metodología permite caracterizar respuestas en el metabolismo de glucosa bajo estados fisiológicos y patológicos, así como describir el funcionamiento de las redes neuronales [9].

Recientemente hemos publicado cómo la LH-DBS induce una menor ganancia de peso en los animales, y modula regiones cerebrales relacionadas con el control de la ingesta de comida tras quince días de estimulación [9]. En este trabajo, hemos evaluado el potencial de la NAcc-DBS como tratamiento de la obesidad, siendo nuestra hipótesis que la NAcc-DBS debería provocar una menor ingesta de comida y una consecuente reducción en la ganancia de peso, mientras que induciría una modulación cerebral similar a la observada con la LH-DBS. Además, hemos evaluado la durabilidad del efecto de la estimulación un mes después de haber retirado la DBS tanto en NAcc como en LH, pudiendo finalmente comparar ambos núcleos como dianas de DBS para el tratamiento de la obesidad.

2. Materiales y métodos

2.1. Animales

Se han empleado 35 ratas Zucker macho obesas (fa/fa-, Charles Rivers Laboratories, España) de 10 semanas de edad; mantenidas en estabulación separada, con un ambiente controlado de temperatura (24±0.5°C) y humedad, un ciclo de 12 horas de luz-oscuridad, comida (pienso comercial para roedores de laboratorio) y agua *ad libitum* (salvo las 6-8 horas previas al estudio PET, durante las cuales permanecieron en ayunas pero se

mantuvo el libre acceso a agua). Toda la manipulación de los animales se realizó según las normas sobre protección de los animales de experimentación aplicada en la UMCE (RD 53/2013), habiendo sido todos los procedimientos aprobados por el Comité de Ética de Experimentación Animal del HGUGM.

2.2. Cirugía estereotáxica

Todos los sujetos se sometieron a cirugía a las 11 semanas de edad, la cual se realizó bajo anestesia con ketamina/xylacina (85/15%, 1mg/kg). Se implantaron bilateralmente electrodos bipolares concéntricos con conector (iridio-platino, Bilaney Consultants CmbH, Düsseldorf, Alemania) en NAcc (AP:+1.2 desde Bregma, ML: +1.5 mm, DV: -8.2 desde la duramadre) ($N=17$) y LH (AP: -4.00 mm desde Bregma, ML: +1.6 mm, DV: -8.2 desde la duramadre) ($N=18$), de acuerdo con el atlas de Paxinos y Watson [10]. Los electrodos se fijaron a la superficie craneal con cemento acrílico dental (Technovit®, Heraeus-Kulzer, Alemania). Una vez concluida la cirugía, se realizó una primera imagen por Tomografía Computerizada (CT) de cada animal para comprobar la correcta ubicación de los electrodos y corregir errores significativos. Se administró Buprex (0.1 mg/kg, vía SC) y ceftriaxona (100 mg/kg, vía SC) al finalizar la cirugía, a las 24 horas y a las 48 horas.

2.3. Estimulación Cerebral Profunda (DBS)

El protocolo de estimulación comenzó 7 días después de las cirugías, garantizando la completa recuperación de los animales. Los animales se dividieron en cuatro grupos: NAcc/LH-sham (operados sin estimular), y NAcc/LH-DBS (operados y con estimulación). Se empleó un estimulador aislado (CS 420 8i, CIBERTEC), fijando un modo de estimulación con parámetros de corriente continua de 130 Hz, 300 μ A y pulsos de 90 μ s. La estimulación se aplicó 1 hora diaria durante quince días.

2.4. Control de peso e ingesta de comida y agua

La estabulación individual permitió calcular de manera precisa el volumen de sólido y líquido ingerido por cada sujeto, cuyo registro se realizó dos veces por semana durante todo el trabajo. El control de peso se realizó diariamente durante el periodo de estimulación, y dos veces por semana durante el siguiente mes.

2.5. Estudios de imagen

Se realizaron dos adquisiciones en todos los animales: inmediatamente después de haber finalizado el protocolo de DBS (post-1-día), y un mes después (post-1-mes). En el estudio post-1-mes incluimos los mismos animales LH-sham y LH-DBS cuyo estudio post-1-día fue publicado en Soto-Montenegro *et al.*, 2014 [9]. Este diseño experimental permitió determinar los efectos de la DBS a largo plazo, así como su duración una vez concluido el tratamiento. Se emplearon tres técnicas de neuroimagen:

- *PET (Tomografía por Emisión de Positrones)*: Se utilizó un escáner PET/CT para pequeño animal (ARGUS PET/CT, SEDECAL, Madrid), bajo anestesia con isoflurano (3% inducción, 1.5% mantenimiento, en 100% O₂). Se inyectó ~1 mCi de FDG por la vena de la

cola y, tras 45 min de captación, se adquirieron las imágenes durante 45 min. La reconstrucción de las imágenes PET se realizó mediante el algoritmo 2D-OSEM, con una resolución espacial de 1.45 mm de *Full Width Half Maximum* (FWHM) y un tamaño de vóxel de 0.3875x0.3875x0.775 mm³. La ventana de energía de adquisición fue de 400-700 keV, y se aplicaron correcciones para el tiempo muerto de los detectores y el de decaimiento de la FDG.

- *CT (Tomografía Computerizada)*: Las imágenes se adquirieron con el tomógrafo anterior, aplicando 320 mA, 45 kV, 360 proyecciones, 8 disparos y 200 μ m de resolución. Se obtuvo un primer CT de todos los animales tras las cirugías para corroborar la correcta colocación de los electrodos, y dos CTs más junto a cada imagen PET para facilitar su posterior registro espacial. Las imágenes CT se reconstruyeron con el algoritmo FDK [11], con vóxeles isotrópicos de 0.121 mm.

- *MR (Resonancia Magnética)*: Se obtuvo una imagen de un único sujeto antes de la cirugía como plantilla anatómica con un escáner Biospec 70/20 de 7 Teslas (Bruker, Ettlingen, Alemania), con antena de volumen y superficie específica para cerebro de rata. Se adquirió una secuencia T2 spin-eco, con TE=33 ms y TR= 3732 ms. Se obtuvieron 34 cortes de 0.8 mm de grosor.

2.6. Cuantificación de imágenes

Los datos PET se analizaron mediante un protocolo previamente descrito por nuestro grupo [9]. Brevemente, se realizó un análisis comparativo vóxel a vóxel tras haber registrado las imágenes PET a un CT de referencia aleatorio mediante un método automático basado en información mutua [12]. Las imágenes PET registradas se suavizaron con un filtro Gaussiano isotrópico (2 mm FWHM). Se segmentó una máscara de cerebro total a partir de la imagen de MR registrada a las imágenes de estudio, la cual permitió eliminar vóxeles fuera del cerebro del análisis. La intensidad de la imagen se normalizó a la actividad media de sustancia blanca.

2.7. Análisis estadístico

Se empleó el paquete de software SPM12 (Statistical Parametric Mapping software package, versión 6225, Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, London, UK). La comparación entre grupos se realizó mediante un ANOVA multifactorial, con un nivel de significación $p<0.05$ (sin corregir). Sólo se consideraron los "clusters" significativos que incluían 50 o más vóxeles adyacentes.

Las variaciones de peso e ingesta se evaluaron mediante ANOVA, comparando los grupos NAcc-sham y NAcc-DBS ($p<0.05$).

3. Resultados

Las cirugías reflejaron una tasa de mortalidad del 40%, limitando el tamaño de la muestra a 18 animales, distribuidos entre los grupos NAcc-sham ($N=2$), NAcc-DBS ($N=6$), LH-sham ($N=4$) y LH-DBS ($N=6$).

3.1. Valoración de la variación de peso e ingesta

Las diferencias entre los grupos NAcc-DBS y NAcc-sham resultaron en únicamente el 0.19% a día 15, pero se

incrementaron hasta el 8.35% un mes después de haber terminado el tratamiento. Sin embargo, asociamos esta mayor diferencia a un error experimental en la toma de medidas. De hecho, no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p=0.602$).

De igual modo, tampoco se han encontrado diferencias significativas en la variación de ingesta de agua ($p=0.759$) o comida ($p=0.676$).

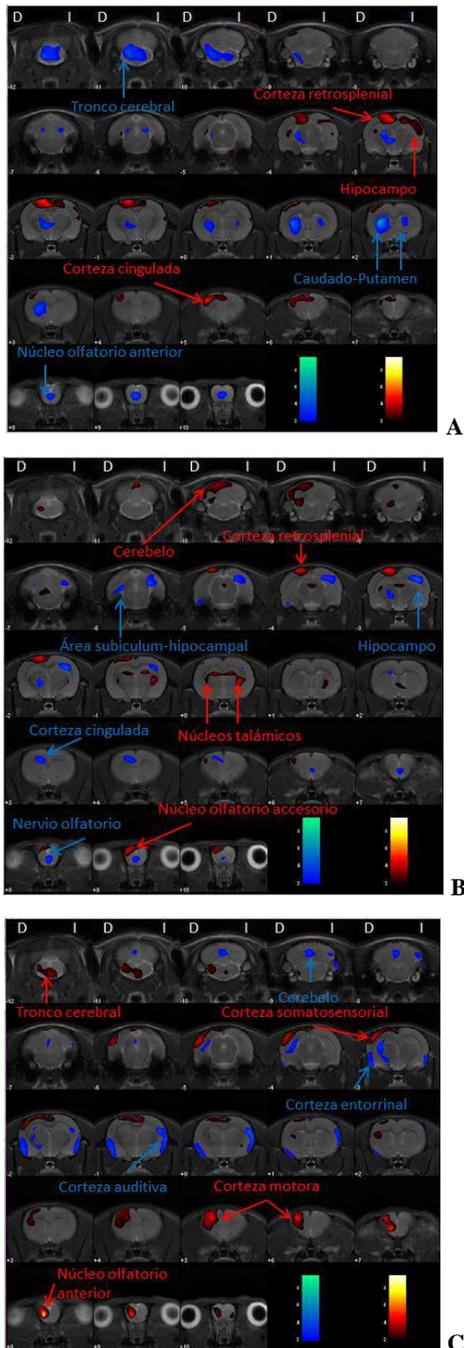


Figura 1. Áreas moduladas por la DBS en los estudios NAcc-post-1-día (A), NAcc-post-1-mes (B) y LH-post-1-mes (C) sobre la imagen de MR. Las regiones coloreadas indican **incremento** o **disminución** significativos en la captación de FDG por los animales DBS frente a los animales sham, respectivamente; $p<0.05$ (sin corregir). Coordenadas dadas con respecto al atlas de Paxinos y Watson (2008).

3.2. Estudio *in vivo* de los efectos de la DBS

En el estudio post-1-día los animales NAcc-DBS mostraron una mayor captación de FDG en corteza retrosplenial ($T=5.73$, $p=0.001$), corteza cingulada ($T=5.43$, $p=0.001$) e hipocampo ($T=2.56$, $p=0.021$); mientras que se observó una menor captación de FDG en el eje NAcc-caudados-tálamo ($T=4.32$, $p=0.002$) y en el núcleo olfatorio anterior ($T=4.29$, $p=0.019$) (Figura 1.A). Además, no se han observado diferencias globales entre los grupos ($p=0.172$).

En los estudios post-1-mes se observan notables diferencias en comparación con los post-1-día. Así, el grupo NAcc-DBS mostró una mayor captación de FDG en los núcleos talámicos ($T=5.16$, $p=0.001$), la corteza retrosplenial ($T=4.85$, $p=0.001$), el núcleo olfatorio accesorio ($T=4.39$, $p=0.002$) y el cerebelo ($T=2.60$, $p=0.005$); y una menor captación de FDG en hipocampo ($T=4.95$, $p=0.001$), área subiculum hipocampal ($T=3.66$, $p=0.005$), nervio olfatorio ($T=3.41$, $p=0.007$) y corteza cingulada ($T=3.28$, $p=0.008$) (Figura 1.B). Sin embargo, sí se observan ahora diferencias globales significativas, mostrando el grupo NAcc-DBS menor captación de glucosa que el NAcc-sham ($p=0.017$).

Por otro lado, los animales LH-DBS mostraron en el estudio post-1-mes un incremento en la captación de FDG en bulbo olfatorio ($T=8.87$, $p<0.001$), corteza somatosensorial ($T=4.41$, $p=0.001$) y tronco cerebral; mientras se observó una reducción en corteza auditiva ($T=4.89$, $p=0.001$), corteza entorrinal ($T=4.17$, $p=0.002$) y cerebelo ($T=3.11$, $p=0.007$) (Figura 1.C). No se observaron diferencias significativas a nivel global ($p=0.896$).

4. Discusión

Este estudio se diseñó con el objetivo de validar el potencial que presenta la DBS aplicada en NAcc o LH en recuperar la funcionalidad de los sistemas de recompensa y apetito cerebrales en ratas Zucker obesas. Así, pese a esperar una menor ganancia de peso asociada al tratamiento, la variación de peso resultó prácticamente solapante entre los grupos NAcc-DBS y NAcc-sham. Esta progresión nos impide asociar las diferencias observadas al final del estudio a posibles efectos de la DBS. La ausencia de dicho efecto podría derivar de la impedida modulación anorexigénica de la leptina en hipotálamo [7], siendo la DBS en NAcc incapaz de solventar el desequilibrio homeostático presente en estos animales, lo que explicaría la ausencia de variación en la ingesta entre los grupos. De igual modo, la afectación de la cápsula del NAcc por la estimulación [7], o la errónea concepción de la obesidad como patología psiquiátrica, podrían explicar la ausencia del efecto buscado sobre el peso corporal.

Sin embargo, la DBS sí ha producido cambios metabólicos en regiones cerebrales disfuncionales en pacientes obesos. Así, en pacientes con tendencia a la obesidad se ha observado una mayor activación de la vía córtico-estriado-talámica dependiente del sentimiento de recompensa asociado a la comida [13]. Consecuentemente, la reducción del metabolismo en este

circuito causada por la NAcc-DBS podría ser empleada para normalizar patrones de actividad alterados. Por otro lado, el sobrepeso y la obesidad se relacionan con una deficiente actividad hipocámpal, que deriva en deterioro cognitivo [14]. En este contexto, la mayor captación de glucosa en el hipotálamo observada en NAcc-DBS podría compensar la actividad dañada que esta estructura muestra en pacientes obesos.

Además, la modulación de las estructuras cerebrales observada en el estudio post-1-día no persiste en el estudio post-1-mes. Así, aunque en los animales LH-DBS sí permanecen clusters como la corteza motora/cingulada o el tronco, en los animales NAcc-DBS no solo desaparece la modulación, sino que se observa un efecto rebote de la misma al incrementar la captación de glucosa en regiones que en el estudio post-1-día aparecían disminuidas. Esta observación refuerza la idea de la potencial reversibilidad de la DBS [15].

Por último, nuestro estudio está sujeto a una serie de limitaciones. En primer lugar, nuestro tamaño muestral es considerablemente escaso. Además, el trabajo se centra únicamente en la rata Zucker obesa, omitiendo el posible efecto de la estimulación en ratas Zucker de peso normal, u otro modelo animal de obesidad. Finalmente, nuestros resultados utilizando un protocolo de DBS intermitente podrían ser distintos a los que proporcionaría un protocolo continuo, pudiendo estos resultar en mayores diferencias en la ganancia de peso. En este sentido, los resultados mostrados necesitan una posterior validación de la DBS como tratamiento contra la obesidad, posiblemente aplicando un protocolo de DBS continuo y crónico en un modelo animal de obesidad diferente.

5. Conclusión

Nuestro estudio nos ha permitido comparar dos estructuras cerebrales como potenciales dianas para DBS en el tratamiento de la obesidad. Atendiendo a los resultados es posible concluir que el LH podría ser una diana potencialmente efectiva contra la obesidad, al producir una significativa reducción en la ganancia de peso en este modelo animal [9]. Además, tanto en el grupo NAcc-DBS como en el LH-DBS hemos encontrado cambios significativos en la captación de FDG nada más terminar el tratamiento, reflejando la modulación de diferentes regiones cerebrales asociadas con el control de ingesta de comida, recompensa y deterioro cognitivo (núcleos de la base, hipocampo, tálamo y caudados). Así, la DBS parece normalizar el funcionamiento deteriorado de estas estructuras en pacientes obesos, apoyando un potencial uso futuro de la DBS en terapias contra la obesidad.

Agradecimientos

Agradecemos a Alexandra de Francisco, Yolanda Sierra e Iván Balsa por su apoyo durante la manipulación animal y adquisición de las imágenes. Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (PI14/00860, CPII14/0005) y la Fundación Mapfre.

Referencias

- [1] Página web de la OMS, “Obesidad y sobrepeso” (2015). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/> (Consultada: Junio 2015).
- [2] Página web del OECD, “OECD Obesity Update 2014,” *OECD - Better Policies for Better Lives* (2014). <http://www.oecd.org/health/obesity-update.htm> (Consultada: Junio 2015).
- [3] Kanters I. Can neuroimaging explain the underlying mechanisms of overeating when comparing obese to lean subjects?. Master Thesis, Utrecht University, 2010.
- [4] Volkow ND, Wang JG, Tomasi D, Baler RD. Obesity and addiction: neurobiological overlaps. *Obes. Rev.*, vol. 14, no. 1, 2013, pp. 2–18 (ISSN: 1467-789X).
- [5] Taylor J, Dietrich E, Powell J. New and emerging pharmacologic therapies for type 2 diabetes, dyslipidemia, and obesity. *Clin. Ther.*, no 35, sup 1, 2013, pp A3-17 (ISSN: 01492918).
- [6] Stefater MA, Kohli R, Inge TH. Advances in the surgical treatment of morbid obesity. *Mol. Aspects Med.*, vol. 34, no. 1, 2013, pp. 84–94 (ISSN: 00982997).
- [7] Halpern CH, Wolf JA, Bale TL *et al.* Deep brain stimulation in the treatment of obesity. *J. Neurosurg.*, vol. 109, no. 4, 2008, pp. 625–34 (ISSN: 0022-3085).
- [8] Mantione M, van de Brink W, Schuurman PR, Denys D. Smoking cessation and weight loss after chronic deep brain stimulation of the nucleus accumbens: therapeutic and research implications: case report. *Neurosurgery*, vol. 66, no. 1, 2010, p. E218 (ISSN: 0148396X).
- [9] Soto-Montenegro ML, Pascau J, Desco M. Response to deep brain stimulation in the lateral hypothalamic area in a rat model of obesity: in vivo assessment of brain glucose metabolism. *Mol. Imaging Biol.*, vol. 16, no. 6, 2014, pp. 830–837 (ISSN: 1860-2002).
- [10] G. Paxinos and C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 6^a ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2014 (ISBN: 9780125476126).
- [11] Abella M, Vaquero JJ, Sisniega A *et al.* Software architecture for multi-bed FDK-based reconstruction in X-ray CT scanners. *Comput. Methods Programs Biomed.*, vol. 107, no. 2, 2012, pp. 218–232 (ISSN: 01692607).
- [12] Pascau J, Vaquero JJ, Abella M *et al.* Multimodality workstation for small animal image visualization and analysis. *Mol. Imaging Biol.*, vol. 8, no. 2, 2006, pp. 97–98 (ISSN: 1860-2002).
- [13] Stice E, Yokum S, Burger KS, Epstein LH. Youth at Risk for Obesity Show Greater Activation of Striatal and Somatosensory Regions to Food. *J Neurosci*, vol. 31, no. 12, 2011, pp. 4360–4366 (ISSN: 0270-6474).
- [14] Mueller K, Sacher J, Arelin K *et al.* Overweight and obesity are associated with neuronal injury in the human cerebellum and hippocampus in young adults: a combined MRI, serum marker and gene expression study. *Transl. Psychiatry*, vol. 2, 2012, p. e200 (ISSN: 2158-3188).
- [15] Kuhn J, Gaebel W, Klosterkoetter J, Woopen C. Deep brain stimulation as a new therapeutic approach in therapy-resistant mental disorders: ethical aspects of investigational treatment. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.*, vol. 259 Suppl 2, 2009, pp. S135–41 (ISSN: 09401334).

Optimización del protocolo de calibración para sistemas de posicionamiento ópticos multicámara

D. García-Mato^{1,2}, E. Marinetto^{1,2}, L. Sanz-Díaz^{1,2}, M. Desco^{1,2}, J. Pascau^{1,2}

¹ Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, Madrid, España, {dgmato, emarinetto, lsanz, desco, jpascau}@hggm.es

² Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

Resumen

La Radioterapia Intraoperatoria (RIO) es una técnica para el tratamiento del cáncer basada en la aplicación de radiación de alta dosis directamente en el lecho tumoral o tumor durante la cirugía. Un sistema de posicionamiento óptico (OptiTrack, NaturalPoint Inc., USA) ha sido instalado recientemente en el quirófano de oncología del Hospital General Universitario Gregorio Marañón para facilitar a los oncólogos la planificación del procedimiento mediante navegación en tiempo real. El sistema está compuesto de ocho cámaras independientes, por lo que necesita ser calibrado para una correcta navegación. Actualmente, la calibración del sistema se realiza justo antes del procedimiento de la RIO, lo que requiere aproximadamente una hora. En este artículo se evalúa la posibilidad de calibrar cada cierto periodo de tiempo el sistema de posicionamiento y así definir protocolos óptimos del guiado durante el procedimiento RIO. Para ello, se define la metodología óptima para la identificación de cámaras descalibradas, capaz de detectar e identificar descalibraciones con una alta precisión. Además, se ha analizado la estabilidad de las calibraciones del sistema durante 5 días tras la calibración inicial del sistema. Los resultados muestran la viabilidad de nuevos protocolos basados calibraciones cada 4 o 5 días, permitiendo el ahorro de tiempo y recursos humanos necesarios para esta tarea.

1. Introducción

La radioterapia intraoperatoria (RIO) es una técnica basada en la aplicación de una dosis alta de radiación durante la cirugía mediante haces de electrones a tumores irresecables o residuos tumorales postquirúrgicos de alto riesgo [1]. La radiación es producida por un acelerador lineal y colimada sobre el volumen de interés mediante una pieza de metacrilato denominada aplicador o cono. Este procedimiento permite una aplicación precisa de la dosis y una minimización de la exposición a la radiación de los tejidos sanos circundantes, que son desplazados o protegidos antes del tratamiento durante la cirugía [2].

Para una correcta administración de la dosis, es necesaria la planificación del tratamiento. Concretamente, la planificación dosimétrica de la RIO es especialmente compleja en comparación con otras técnicas de radioterapia debido a los cambios en la geometría y anatomía producidos durante la cirugía [3]. Por ello, los parámetros óptimos del procedimiento son determinados *in situ* por el oncólogo radioterápico, basándose en su experiencia y conocimientos previos. Actualmente, esta planificación se realiza mediante el empleo de un planificador virtual que permite simular el procedimiento

de RIO mostrando virtualmente la posición del aplicador respecto a la anatomía del paciente obtenida mediante tomografía axial computarizada (TAC) o resonancia magnética [4]. Además, permite valorar y comparar los distintos parámetros del procedimiento como el diámetro y ángulo del bisel del aplicador, la posición del mismo respecto al paciente o la energía del haz de radiación. De este modo, el tratamiento óptimo es previamente planificado por el oncólogo radioterápico en colaboración con el cirujano.

Para una mayor precisión en la planificación del tratamiento es necesario conocer la posición real del aplicador durante el tratamiento de RIO. Con este objetivo se ha instalado un sistema de posicionamiento óptico multicámara Optitrack (NaturalPoint Inc., Oregón, EEUU) que está siendo evaluado en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Este sistema óptico está compuesto por 8 cámaras posicionadas entorno al paciente dentro del quirófano. Las cámaras emiten luz infrarroja (longitud de onda 850 nm) y son capaces de detectar marcadores ópticos retrorreflectantes [5]. La posición y orientación de objetos puede ser obtenida usando una configuración espacial de 3 o más marcadores ópticos, denominada cuerpo rígido o *rigid-body*. Los marcadores son localizados en el espacio tridimensional usando el método de triangulación geométrica, capaz de obtener la posición tridimensional de los marcadores a partir de las proyecciones bidimensionales de éstos obtenidas por cada cámara del sistema [6].

Para el seguimiento tridimensional de objetos, las cámaras deben ser calibradas de forma que el sistema conozca las posiciones relativas de las mismas en el espacio. El procedimiento de calibración requiere el uso de una herramienta, denominada OptiWand, compuesta por 3 marcadores ópticos a una distancia fija y conocida por el sistema. Esta herramienta se desplaza a lo largo de todo campo de visión de las cámaras durante la calibración. Dado que el sistema conoce la configuración espacial de los marcadores, es capaz de estimar las posiciones relativas de las cámaras en el espacio, el punto focal y las aberraciones ópticas de las lentes a partir de los datos recogidos por la visión de cada cámara que compone el sistema de guiado.

Una pequeña variación en la posición de cualquiera de las cámaras OptiTrack resulta en una descalibración del sistema, y, por lo tanto, en un aumento del error en el posicionamiento de objetos. Si esta variación en la

posición es excesiva, el sistema podría ser incapaz de posicionar correctamente la configuración espacial de marcadores, ya que el método de triangulación geométrica empleado no obtendría una solución única.

El procedimiento de calibración del sistema de posicionamiento requiere condiciones muy específicas: la disponibilidad del quirófano antes de la cirugía, la ausencia de instrumentos quirúrgicos capaces de reflejar luz infrarroja, el uso de herramientas de calibración y la limpieza del quirófano antes de la cirugía. Todo este proceso se realiza en un tiempo aproximado de una hora justo antes del procedimiento de RIO.

Una alternativa viable al actual protocolo de calibración, que obliga a calibrar cada vez que el sistema es utilizado, podría ser la calibración del sistema cada cierto periodo de tiempo. Este nuevo planteamiento supondría una reducción considerable en el tiempo empleado para la preparación del sistema de guiado en los procedimientos de RIO. Sin embargo, no se conoce la estabilidad temporal de las calibraciones del sistema. Además, esta estabilidad está sujeta a otros factores extrínsecos como son movimientos accidentales de las cámaras que pueden ocurrir durante la cirugía o la limpieza del quirófano. Por este motivo, se hace necesario detectar alteraciones en la posición de las cámaras del sistema de forma rápida y con alta sensibilidad para evitar un aumento en los errores de posicionamiento.

Los objetivos de este trabajo son la determinación de una metodología óptima para la detección de descalibraciones del sistema de posicionamiento OptiTrack y la evaluación de la estabilidad temporal de la calibración del sistema.

2. Materiales

En esta sección se describen los materiales utilizados para la realización de este trabajo. En primer lugar se utilizó un sistema de guiado óptico multicámara OptiTrack (OptiTrack, NaturalPoint Inc., USA) compuesto por 8 cámaras modelo Flex 13. Este sistema está instalado en el quirófano de oncología del Hospital General Universitario Gregorio Marañón, donde las cámaras están fijadas a unas barras metálicas ancladas al techo y rodeando la zona quirúrgica (Figura 1).

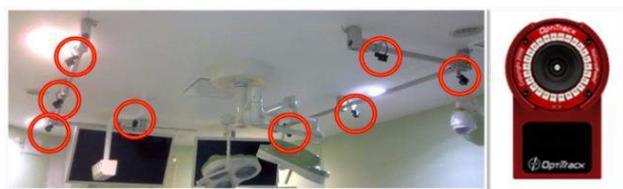


Figura 1. Distribución de cámaras del sistema de guiado en el quirófano (izquierda). Cámara Optitrack (derecha).

Además, se usó la herramienta de calibración OptiWand, y un cuerpo rígido constituido por cuatro marcadores ópticos (NDI Polaris Pointer).

Finalmente, se utilizó el sensor de orientación PhidgetSpatial Precision 3/3/3 (Phidgets Inc., Alberta, Canadá) que fue acoplado a la parte trasera de una de las

cámaras del sistema para cuantificar variaciones angulares en la posición de la cámara (Figura 2).



Figura 2. Sensor acoplado a cámara OptiTrack.

3. Métodos

Para la determinación de la metodología óptima de detección de cámaras descalibradas se han diseñado dos experimentos que permiten analizar los errores del sistema, la contribución de cada cámara a éstos así como la sensibilidad del método para detectar desplazamientos accidentales. Por otro lado, para analizar la estabilidad temporal de la calibración se ha realizado un experimento longitudinal a lo largo de 5 días consecutivos. En las subsecciones siguientes se describe con más detalle la metodología empleada para cada uno.

3.1. Detección de descalibraciones.

En relación al primer objetivo se propuso un procedimiento para la detección de descalibraciones del sistema basado en el uso de combinaciones de cámaras dentro del sistema de posicionamiento. Cuando se emplea todo el conjunto de cámaras del sistema para guiado, una descalibración en una de las cámaras no genera un aumento en el error de posicionamiento suficiente para que dicha descalibración sea detectable mediante el análisis del error de posicionamiento 3D de un objeto. Por el contrario, si se emplean combinaciones de un menor número de cámaras, como por ejemplo parejas de cámaras, una ligera descalibración introducida en el sistema es capaz de generar un aumento considerable del error. Además, si esta descalibración es excesiva, la capacidad de posicionamiento de las combinaciones de cámaras se pierde ya que la triangulación geométrica no produce una solución única y se dará lugar a datos de posicionamiento no válidos. Por lo tanto, cuanto menor sea el número de cámaras más propenso será el sistema a generar posiciones no válidas. Sin embargo, no todas las descalibraciones pueden ser detectadas analizando la capacidad del sistema para posicionar el marcador óptico, ya que la descalibración sufrida en una cámara puede ser lo suficientemente pequeña como para que las parejas de cámaras conteniendo la descalibración continúen posicionando el marcador.

El procedimiento propuesto consiste en obtener la posición 3D de un único marcador usando combinaciones de parejas de cámaras del sistema. Se adquirió la posición de un marcador óptico en posición estática usando todas las posibles combinaciones de parejas de cámaras. La adquisición de datos de posicionamiento usando tan sólo dos cámaras fue posible modificando los parámetros de configuración de las cámaras del sistema (exposición y sensibilidad), de manera que únicamente 2 cámaras fueran capaces de visualizar marcadores y, por lo tanto, de adquirir posiciones. Se obtuvieron 1000 muestras de la

posición 3D del marcador por cada una de las 28 distintas combinaciones de parejas de cámaras del sistema. Esta adquisición fue repetida para diferentes estados de calibración, en los que se simularon descalibraciones del sistema alterando la orientación (manualmente) de hasta cuatro cámaras seleccionadas aleatoriamente.

La sensibilidad de una pareja de cámaras a la descalibración fue evaluada mediante la adquisición de datos de posicionamiento de un marcador por una pareja de cámaras aislada. El sensor de orientación PhidgetSpatial Precision 3/3/3 fue incorporado a la parte trasera de una de las cámaras. Se provocaron manualmente descalibraciones consecutivas de dicha cámara hasta que el sistema fue incapaz de proporcionar una posición 3D del marcador empleado. Para cada uno de los distintos estados de calibración, se adquirieron 1000 muestras de la posición 3D del marcador óptico, así como de la posición angular respecto al estado inicial de calibración de la cámara con el sensor acoplado.

3.2. Evaluación de la estabilidad temporal.

Primeramente, el sistema de 8 cámaras fue calibrado usando la herramienta OptiWand. A continuación, se introdujo una descalibración en el sistema variando la orientación de la cámara nº 3. Seguidamente, un marcador óptico fue colocado en el centro del quirófano en una posición estable. Por último, se adquirieron datos de posicionamiento del marcador cada 4 horas durante 5 días consecutivos. Estos datos de posicionamiento consistían en la posición del marcador obtenida usando todas las cámaras del sistema, y la posición obtenida usando todas las 28 posibles combinaciones de parejas de cámaras del sistema.

La evaluación de la estabilidad temporal fue realizada estudiando la variabilidad de los datos de posicionamiento de un mismo escenario durante 5 días consecutivos. El objetivo de este estudio longitudinal es la evaluación de la influencia de los factores intrínsecos del sistema OptiTrack en el error de posicionamiento. Por ello, se evitó la influencia de factores externos que pudieran afectar al rendimiento del sistema, tales como la entrada de personas en el quirófano y alteraciones en las condiciones normales de temperatura e iluminación.

4. Resultados y discusión

4.1. Detección de descalibraciones.

Se analizó la validez de posicionamiento de cada combinación de cámaras del sistema para los distintos estados de calibración. En la figura 3 se representa la validez de los datos de posicionamiento para dos estados de calibración: todas las cámaras calibradas y una cámara descalibrada. El color azul indica que más del 90% de las 1000 muestras de posición 3D adquiridas fueron válidas, mientras que el color rojo indica el caso contrario. De la figura se puede observar cómo, cuando todas las cámaras están calibradas, el marcador es localizado correctamente por todas las parejas de cámaras. Sin embargo, cuando la cámara 3 es descalibrada, algunas cámaras, en combinación con la descalibrada no son capaces de localizar el marcador.

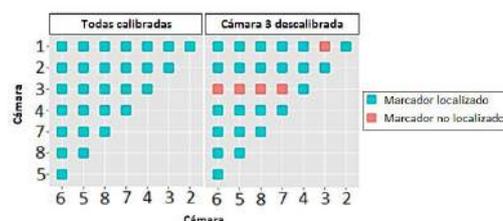


Figura 3. Representación de la localización de un marcador óptico con todas las posibles parejas de cámaras.

Además, se evaluó la reproducibilidad de esta metodología propuesta estudiando los resultados obtenidos para 5 repeticiones distintas. Los resultados obtenidos fueron similares para las 5 repeticiones realizadas y para los cuatro estados de calibración evaluados en el experimento, esto implica que una única repetición (duración aproximada de 5 segundos) es suficiente para la detección de descalibraciones.

Como se puede observar en la figura 3, existen parejas de cámaras, conteniendo la cámara descalibrada (cámara nº3), que generan datos de posicionamiento válidos. Por lo tanto, se analizaron en profundidad las posiciones del marcador proporcionadas por las distintas parejas de cámaras del sistema. La figura 4 muestra, haciendo uso de escala de colores, la posición 3D del marcador óptico adquirida por todas las posibles parejas de cámaras del sistema estando la cámara nº3 descalibrada. Aquellas posiciones con coordenadas $(x, y, z) = (0, 0, 0)$ se corresponden con datos de posicionamiento no válidos. Los resultados muestran que, a pesar de que algunas parejas conteniendo la cámara 3 fueron capaces de generar posiciones 3D válidas, existe una diferencia significativa con las posiciones 3D obtenidas por parejas de cámaras calibradas.

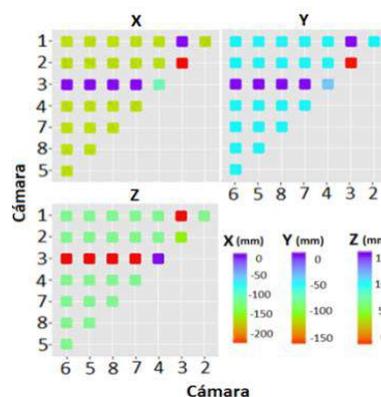


Figura 4. Posición 3D de un marcador óptico para todas las parejas de cámaras del sistema. La cámara 3 descalibrada.

La sensibilidad de las parejas de cámaras OptiTrack fue evaluada adquiriendo posiciones angulares usando el sensor de orientación PhidgetSpatial Precision. La tabla 1 muestra la variación en la orientación de la cámara descalibrada (tomando como referencia la posición de calibración), así como la capacidad de posicionamiento asociada a cada una de las descalibraciones. Los resultados indican que alteraciones en la orientación de una cámara aproximadamente mayores de 0.16 grados provocan la pérdida de posicionamiento en aquellas parejas de cámaras conteniendo dicha descalibración.

Estado del sistema	Variación angular (°)	Marcador
Sistema calibrado	0.00 ± 0.00	Localizado
Descalibración 1	0.03 ± 0.09	Localizado
Descalibración 2	0.07 ± 0.09	Localizado
Descalibración 3	0.12 ± 0.10	Localizado
Descalibración 4	0.16 ± 0.09	No localizado

Tabla 1. Variación en la orientación de la cámara, y capacidad de posicionamiento en cada caso.

4.2. Evaluación de la estabilidad temporal.

El error de posicionamiento del marcador a lo largo del tiempo (5 días) está representado en la figura 5. Este error ha sido calculado como la diferencia entre la posición 3D adquirida y la posición referencia, que es la posición tridimensional obtenida utilizando todas las cámaras del sistema inmediatamente después del proceso de calibración. En negro se muestra el error de posicionamiento al localizar el marcador usando el sistema OptiTrack completo, en azul los errores de parejas de cámaras conteniendo la cámara descalibrada (cámara nº3), y en rojo los errores de aquellas parejas constituidas por cámaras correctamente calibradas. Los resultados muestran un mayor error de posicionamiento en aquellas parejas de cámaras conteniendo la descalibración, posibilitando una fácil detección e identificación de la cámara descalibrada incluso 5 días después de la calibración. Analizando únicamente aquellas parejas de cámaras calibradas, se puede observar que el error se mantuvo por debajo de 2 mm en todos los casos, y menor de 1 mm en la gran mayoría de ellos. En cuanto al posicionamiento usando el sistema completo, el error no superó 0.65 mm durante los 5 días del experimento.

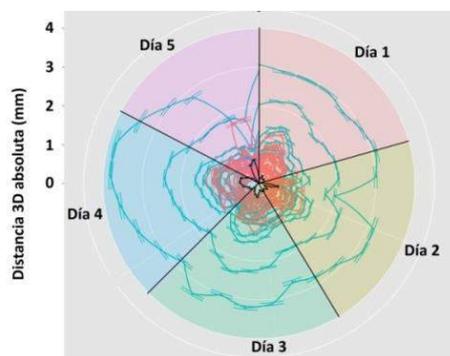


Figura 5. Variación temporal de la posición 3D de un marcador óptico posicionado por el sistema. En negro se representa la variación usando el sistema completo, en azul usando las parejas de cámaras conteniendo la descalibración, y en rojo las parejas compuestas de cámaras calibradas.

5. Conclusiones

Los resultados de este trabajo han permitido proponer una metodología capaz de detectar e identificar instantáneamente, en aproximadamente 5 segundos, cámaras descalibradas en el sistema. Además, se ha demostrado la alta sensibilidad de esta metodología que detecta variaciones en la posición de calibración de las cámaras en el orden de 0.16 grados de orientación.

Se ha demostrado que ligeras descalibraciones en el sistema, incapaces de provocar datos de posicionamiento

no válidos, pueden ser también detectadas e identificadas atendiendo a la posición 3D proporcionada por aquellas parejas de cámaras que contienen la descalibrada. Definiendo un valor máximo de distorsión para el posicionamiento tridimensional, sería posible detectar variaciones en la orientación de las cámaras menores a 0.16° y, por lo tanto, aumentar la sensibilidad de la metodología propuesta.

El estudio longitudinal del comportamiento temporal del sistema ha permitido demostrar que los datos de posicionamiento proporcionados por las cámaras OptiTrack se mantienen estables durante 5 días posteriores al procedimiento de calibración presentando una mínima variabilidad, en ausencia de influencia de factores externos como la entrada de personas en el área quirúrgica o cambios en las condiciones (iluminación y temperatura) del quirófano. Esta variabilidad en el posicionamiento tridimensional es coherente con una valoración realizada en el año 2013 con el mismo sistema de posicionamiento en [3]. Además, se ha demostrado la capacidad de la metodología propuesta para detectar e identificar descalibraciones hasta 5 días después de la calibración del sistema.

Finalmente, los resultados de este trabajo han demostrado la viabilidad de protocolos de calibración basados en calibrar cada 4 o 5 días, siendo capaces de identificar cámaras descalibradas al instante. Estos nuevos protocolos permitirán reducir el tiempo de calibración previo al procedimiento de RIO, facilitando la introducción de este sistema de navegación en la práctica clínica.

Referencias

- [1] Gunderson LL, Willett CG, Calvo FA, Harrison LB. Intraoperative Irradiation: Techniques and Results (2nd ed.). Humana Press, 2011 (ISBN: 978-1-61779-014-0)
- [2] Calvo FA, Meirino RM, Orecchia R, Intraoperative radiation therapy: First part: Rationale and Techniques. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, vol. 59, no. 2, 2006, pp. 106–15.
- [3] García-Vázquez V, Marinetto E, Santos-Miranda JA, Calvo FA, Desco M, Pascau J. Feasibility of integrating a multi-camera optical tracking system in intraoperative electron radiation therapy scenarios. *Phys. Med. Biol.*, vol. 58, no. 24, 2013, pp. 8769–82 (ISSN:0031-9155).
- [4] Pascau J, Santos Miranda JA, Calvo FA, Bouché A, Morillo V, González-San Segundo C, Ferrer C, López Tarjuelo J, Desco M. An innovative tool for intraoperative electron beam radiotherapy simulation and planning: description and initial evaluation by radiation oncologists. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, vol. 83, no. 2, 2012, pp. e287–95
- [5] OptiTrack. OptiTrack - Flex 13 Camera.
- [6] Bailey B, Field ST. Real Time 3D motion tracking for interactive computer simulations. *Time*, 2007.

Herramientas de modelado para Bioingeniería, casos de estudio: a) Antena de relajometría por Resonancia Magnética, b) Bobina generadora de gradientes magnéticos

J.R. Maestre Rendón^{1,2}, C. Amaya Jaramillo¹, Nazario Félix¹, Francisco del Pozo Guerrero^{1,3}, J.J. Serrano Olmedo^{1,3}

¹CTB, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España, jr.maestre@alumnos.upm.,es

²Dpto. Ingeniería Biomédica, Universidad Politécnica de Sinaloa, Mazatlán, México, jmaestre@upsin.edu.mx

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

Resumen

En el campo de la imagenología, clínica, la resolución y el contraste de imágenes médicas es el reto a obtener por los radiólogo en cada estudio o adquisición obtenida, aunque existen diversas técnicas de software que ayudan a apreciar de manera favorable estos conceptos, su potenciación es determinada por la tecnología del equipo y la intensidad de su campo magnético, este último concepto asociado para la técnica de Resonancia Magnética Nuclear. En la actualidad existe un método alternativo, que permite observar de manera eficaz ciertas regiones o secciones anatómicas diana, y con una mayor claridad visual que las técnicas actualmente en uso, es a través del uso de agentes de contraste, como ejemplo el Gadolinio, que permite potenciar y resaltar en intensidad, las secciones anatómicas que fueron programadas para su estudio. Para su uso, los agentes de contraste deberán ser evaluados en un equipo de relojometría de ciclado rápido por resonancia magnética, que tiene la función de obtener los valores T1 y T2, tiempos de relajación del elemento. El objetivo del presente trabajo de investigación, es un estudio de las diferentes herramientas de software de simulación involucradas en el análisis de los elementos transceptores, del equipo de relajometría de ciclado rápido por RM (Resonancia Magnética), elemento que tiene como función obtener los vectores de magnetización transversal y longitudinal de la muestra de gadolinio, así como la bobina generadora de gradientes de campo magnético, para entender el comportamientos de las nanopartículas ante las variaciones de campo electromagnético.

1. Introducción

El avance de la nanotecnología en diferentes áreas ha dado como resultado un gran impacto en las ciencias y sobretodo en la biomedicina, actualmente existen muchas áreas de estudio con el uso de nanopartículas como son: agentes de contraste, hipertermia, administración de fármacos, etc.

Este artículo realiza un análisis comparativo y funcional de las diferentes herramientas de software de simulación y modelado CAD (Diseño Asistido por Computadora, por sus siglas en inglés), exponiendo una guía de factores y parámetros experimentados, los razonamientos considerados para elaborar este estudio, y sugerir la elección y uso de la herramientas de software más apropiada para obtener los valores cualitativos y cuantitativos de los elementos a analizar. Se modelará

como ejemplo y sustento del presente trabajo de investigación, las bobinas y antenas de los equipos del laboratorio de Bioinstrumentación, elementos que intervienen en la caracterización de las nanopartículas para la biomedicina, se expone en este documento los resultados obtenidos en este estudio comparativo, sustentado mediante diagramas de radiación de los dispositivos, la obtención de valores cuantitativos en graficas de: barridos de frecuencia, diagramas de irrigación de campos eléctricos y magnéticos; y los valores cualitativos como los vectores de magnetización de una determinada muestra de nanopartículas, etc.

2. Modelado y descripción general del sistema.

El modelado se realiza para los elementos de adquisición y de gradientes de campo, estos equipos analizados en el presente trabajo tendrán como objetivo final aplicar a las nanopartículas para su uso en la biomedicina.

2.1. Relajómetro de ciclado rápido

El equipo de relajometría por resonancia magnética tiene la función de cuantificar el comportamiento a priori de partículas superparamagnéticas cuando se emplean como agentes de contraste (AC) en MRI (Imagen Resonancia Magnética), y el empleo de radiaciones no ionizantes como posible terapia de hipertermia en tejidos diana específicos.

Para la caracterización de las partículas como AC en MRI se emplean los Perfiles de Dispersión de la Relajación Magnética Nuclear (NMRD), que expresan la medida de la relajatividad (tasa de relajación por concentración del AC) dependiente de la intensidad del campo magnético externo aplicado.

A continuación se describe el diagrama de bloques que conforma al equipo de relajometría de ciclado rápido por resonancia magnética.

El relajómetro de ciclado rápido de campo es la única técnica que permite la medición de tiempos de relajación espín nuclear sobre una amplia gama de intensidades de campo magnético con un solo instrumento, ofreciendo así una investigación más completa de la dinámica molecular en una variedad de sustancias y materiales, se ha utilizado

para estudiar las propiedades de conformación de soluciones acuosas (formulaciones), la dinámica de proteínas y es especialmente importante en los estudios para el desarrollo de agentes de contraste para imágenes de Resonancia Magnética clínica.

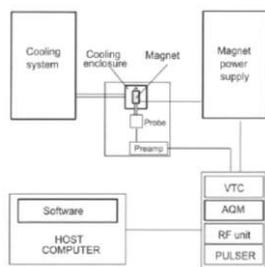


Figura 1. Diagrama de bloques del equipo relajómetro de ciclado rápido de campo.

El presente trabajo estudiará los elementos de adquisición (bobinas receptoras y generadoras), estructuras centrales en el diagrama de bloques anteriormente expuesto, elementos que serán analizados con las herramientas de software para modelados de antenas, y con los siguientes paquetes de cómputo: 4NEC2, COMSOL de la compañía Ansoft, CST Computer Simulation Technology AG y MAXWELL de Ansys.

El análisis de estos dispositivos transceptores, que intervienen en un proceso modular de la compleja estructura y estudio de nanopartículas, con fines biomédicos. Se tiene como objetivo analizar y comprender sensitivamente el funcionamiento de los elementos y obtener información cualitativa y cuantitativa del proceso de adquisición, una correcta elección de software, permitirá realizar eficientemente los estudios de caracterización de los agentes de contraste para imágenes médicas. En este análisis se obtendrán los diagramas de irrigaciones de los campos magnéticos de las antenas, caracterizando fielmente la bobina del relajómetro de ciclado rápido de campo, del equipo SMARTracer - Stellar Magnetic Relaxation Tracer, de la compañía Stellar-Italy. Este equipo de ciclado rápido de campo tiene la función de medir la relajación magnética nuclear transversal y longitudinal como una función de la intensidad del campo magnético.

2.1.1 Propiedades del equipo relajómetro de RM

Para una correcta caracterización de las antenas, se deben conocer las características de funcionamiento del equipo SMARTracer, las cuales son las siguientes:

- Intensidad máxima de campo de 2 Teslas con una inhomogeneidad menor a 150 ppm.
- Control de temperatura de -40°C a +140°C con una precisión y estabilidad de 0.1°C.
- Consola digital de Resonancia Magnética Nuclear de gran desempeño con adquisición directa de señales en un rango de hasta 90 MHz.
- Capacidad de medir las Relajaciones Magnéticas Nucleares de un amplio rango de materiales.
- Principales secuencias de pulsos para la medición de tiempos de relajación implementadas y la posibilidad

de modificar los parámetros principales para el diseño de nuevas secuencias de pulsos.

Este equipo es esencial para la caracterización y el diseño de Agentes de Contraste (AC) en MRI. Obtención de parámetros dinámicos que ayudan a predecir el comportamiento del sistema cuando el AC está ligado a una biomolécula específica, su aplicación se encuentra asociada a la investigación básica y aplicada en bioquímica y biología, diagnóstico médico y ciencia de los materiales para la obtención de información de dinámica molecular [1]

2.2. Gradiente de campo magnético

Se ha desarrollado una bobina que sea capaz de generar gradientes de campo magnético con el objetivo de someter a las nanopartículas a este fenómeno y su modelado y procesado es efectuado en las herramientas de software CAD para su estudio.

Para producir un gradiente de campo magnético se hace uso del comportamiento entre corriente y campo magnético para lo cual se ha desarrollado un equipo microcontrolado en corriente, para controlar el flujo de corriente de la bobina de la Figura 2.

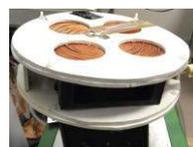


Figura 2. Bobina generadora de gradientes de campos magnéticos.

En este trabajo se presentan las simulaciones producidas por la bobina cuya corriente es controlada a través de un sistema de puente H.

Este dispositivo tiene como función principal el aislar el fenómeno para estudiar el comportamiento de las nanopartículas cuando se encuentran inmersas en un gradiente de campo magnético.

3. Sustento matemático

3.1. Ecuaciones de antenas

Densidad de flujo de potencia, se describe como la potencia que atraviesa una unidad de área de una esfera,

$$S_0 = \frac{W_0}{4\pi r_0^2} \text{ Watt/m}^2 \quad [1]$$

La directividad de una antena está en función de la posición y la densidad de flujo de potencia de una antena no isotrópica, y este valor variará según la dirección respecto la antena, respecto a la siguiente forma.

$$D(\theta, \phi) = \frac{S(\theta, \phi)}{S_0} \quad [2]$$

Nota: En términos generales se tiene la forma en coordenadas polares.

La ganancia directiva de una antena se define como.

$$G(\theta, \phi) = \eta D(\theta, \phi) \quad [3]$$

donde η es el factor de eficiencia de la antena, cuyo valor está comprendido entre cero y uno.

Con estas ecuaciones se obtiene la expresión analítica del diagrama de radiación en forma normalizada que se expresa como:

$$F(\theta, \phi) = \frac{G(\theta, \phi)}{G_{max}} \quad [4]$$

3.2. Magnetismo

Es conocido que el magnetismo y la corriente se encuentran relacionados entre sí, así lo ha demostrado Maxwell, Ampere y Biot-Savart que son las principales leyes y ecuaciones que se aplican en este fenómeno

Biot-Savart:
$$d\vec{B} = \frac{\mu_0 d\vec{L} \times \vec{i}}{4\pi r^2} \quad [5]$$

Ley de Ampere
$$\oint_C \vec{B} \cdot d\vec{l} = \mu_0 I_C \quad [6]$$

Ecuaciones de Maxwell para el magnetismo

$$\oint \vec{B} \cdot d\vec{l} = 0 \quad [7]$$

$$\oint \vec{B} \cdot d\vec{s} = \mu_0 \epsilon_0 + \frac{d\Phi_E}{dt} + \mu_0 i_{enc} \quad [8]$$

4. Modelado de los dispositivos

En base a la necesidad y uso de las fórmulas matemáticas referenciadas anteriormente, analizamos las herramientas software adecuadas que permitan apreciar los fenómenos físicos involucrados, con el objetivo de obtener e interpretar los diagramas de radiación de estos elementos transceptores.

4.1. Antena del relajómetro de ciclado rápido por RM (Resonancia Magnética)

El primer procedimiento es crear el modelo y la forma geométrica de la antena para su estudio. En la herramienta de simulación, se deberán de brindar las propiedades y las características de los materiales con que está conformado el elemento, la permitividad eléctrica, la permeabilidad magnética, etc. con el objeto de realizar una simulación realística del modelo y lo más fiel posible al contexto real.

Para la creación de la geometría, es necesario analizar físicamente, la forma, estructura y dimensiones reales de la antena y bobinas en estudio, y desarrollar el modelo geométrico y digital del elemento para su análisis.

A continuación en la Figura 3 se ilustra las imágenes del equipo de relajometría de ciclado rápido de campo de resonancia magnética, y se exhibe en la zona interior de los electroimanes, el elemento de transmisión y adquisición de los tiempos T1 y T2, que son los vectores de magnetización transversal y longitudinales de RM, datos que se requieren obtener de la muestra en análisis.



Figura 3. Equipo: relajómetro de ciclado rápido de campo de resonancia magnética y su antena

4.1.1 Características físicas de la antena

Los siguientes parámetros son los adquiridos del elemento físico real, estos valores fueron definidos en la configuración, conformación y caracterización de la antena para su simulación:

Frecuencia de trabajo: Hasta 85.2 MHz (Aprox. 2 Teslas)

Diámetro de la espira: 1 cm

Distancia entre las espiras: 1mm

Longitud de la antena helicoidal: 1,5cm

Diámetro del conductor: 1.27 mm

4.2. Bobina generadora de gradientes magnéticos

Para la generación de gradientes magnéticos se recurrió al uso de software especializado de tal manera que, el gradiente producido por la bobina sea lo más lineal posible en el espacio

4.2.1 Características físicas de la bobina generadora de campo magnético

La bobina fue realizada con alambre AWG 18 cuyas características son:

Radio externo: 10.6 cm

Radio interno: 1.8 cm

Altura entre bobinas: 5 cm

5. Resultados comparativos obtenidos

Los resultados obtenidos y comparados en la evaluación de las herramientas de software tipo CAD, son los siguientes: los diagramas de distribución del campo magnético, gráficas de ganancia de los elementos, diagramas de radiación, patrón directividad de campos electromagnéticos, diagramas de vectores magnéticos, etc.

Los resultados obtenidos fueron realizados en un ordenador con las siguientes características:

- Procesador: Intel dual core quad 2.67 Ghz
- Memoria RAM: 4 GHz
- Tarjeta gráfica: Nvidia GeForce 9800 GT

El estudio fue realizado con geometrías tridimensionales (3D), y el diseño conserva características similares en los diferentes simuladores.

Según nuestra experiencia hemos realizado las siguiente Tabla 1 comparativa.

Software	Barrido en frecuencia	Diagrama radiación	Diagrama vectores de campos	menor Carga CPU
4NEC2	2	1	4	1
CST	1	2	3	3
COMSOL	3	3	2	4
MAXWELL	4	4	1	2

Tabla 1. Tabla comparativa de los simuladores analizados (cualitativamente). Nota: 1 Mejor - 4 peor [Evaluado].

Con estos resultados es posible seleccionar la herramienta adecuada, para caracterizar y analizar los elementos en estudio, y dicho análisis ayudará al lector en sugerirle el software adecuado con respecto al resultado que desea obtener.

Las gráficas resultantes obtenidas en el proceso de análisis son:

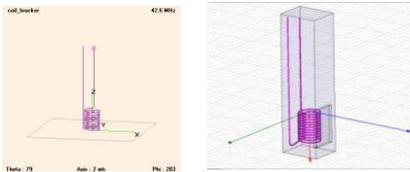


Figura 4. Modelado de la antena del SMARTracer

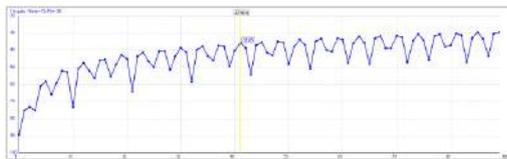


Figura 5. Gráfica de la ganancia total de la antena, con barrido de frecuencia.

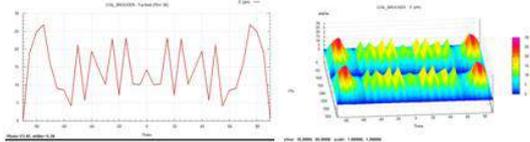


Figura 6. Estudio de radiación angular de la antena

Los diagramas de radiación de la antena transceptora de resonancia magnética, son los que se muestran a continuación:

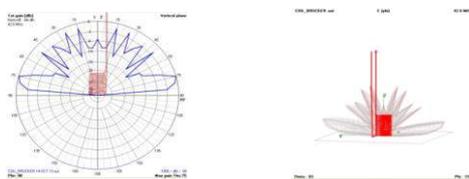


Figura 7. Diagrama de radiación de la antena de RM

En la siguiente ilustración, la Figura 8, se muestra el comportamiento del campo magnético producido por la corriente que circula a través de bobina de gradiente.

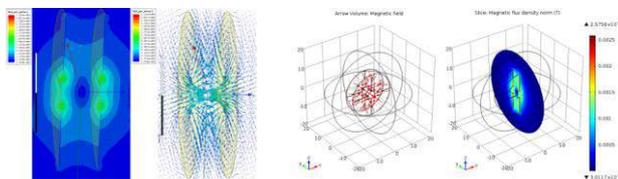


Figura 8. Campo magnético generado por la bobina

El trabajo mostrado en este documento, es uno de los estudios y actividades de investigación que se realizan en el Laboratorio de Bioinstrumentación y Nanomedicina (LBN) de la Universidad Politécnica de Madrid. Este tipo de análisis fortalece la interpretación de los resultados en el proceso de experimentación sobre nanopartículas que realiza el grupo de Bioinstrumentación y Nanomedicina del CTB (Centro de Tecnología Biomédica), aportando un

soporte gráfico-visual de los diferentes fenómenos físicos y electromagnéticos de los experimentos.

6. Conclusiones

El uso de simulaciones ayuda a acortar el tiempo de construcción de equipos ahorrando tiempo y dinero, así como que se puede predecir un comportamiento cercano a los fenómenos físicos que se desarrollan pero, debido a la carga de CPU para sistemas en 3D se requiere realizar un análisis de las diferentes herramientas CAD para, escoger de manera conveniente la más adecuada para un determinado trabajo.

Existe una gran variedad de herramientas software para la simulación de sistemas físicos y en especial de campos magnéticos, en este trabajo hemos seleccionados algunas de estas herramientas donde, se puede evidenciar en la Tabla 1, el mejor rendimiento de un software en una determinada característica no implica que sea el mejor, desde el punto de menor carga para el CPU Maxwell es de gran ayuda, pero, para sistemas complejos 4NEC resultado la mejor elección, COMSOL ofrece magníficos gráficos para su presentación pero su consumo de CPU es elevada, CST sobresale en la simulaciones de antenas.

Agradecimientos

Por último agradecer a las siguientes organizaciones e instituciones que brindaron su apoyo y equipo para el desarrollo del presente estudio: CTB (Centro de Tecnología Biomédica) de la UPM (Universidad Politécnica de Madrid), Ciber-bbn (Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina), UPSIN (Universidad Politécnica de Sinaloa), CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología), PROMEP (Programa de Mejoramiento de Profesorado) y SENESCYT (Secretaría de educación superior, Ciencia, Tecnología e Innovación).

Referencias

- [1] D. Mesquita Sousa, G. Domingos Marques, J. Manuel Cascais, and P. José Sebastião, "Desktop fast-field cycling nuclear magnetic resonance relaxometer," *Solid State Nucl. Magn. Reson.*, vol. 38, no. 1, pp. 36–43, 2010.
- [2] C. Bowick, J. Blyler, and C. Ajluni, *RF Circuit Design*. Elsevier, 2008.
- [3] D. Jiles, *Introduction to Magnetism and Magnetic Materials*, vol. 2. Auflage. 1998.
- [4] D. D. Wheeler and M. S. Conradi, "Practical exercises for learning to construct NMR/MRI probe circuits," *Concepts Magn. Reson. Part A*, vol. 40A, no. 1, pp. 1–13, Jan. 2012.
- [5] Ciber - BBN, Proyecto Nanomag - *Catálogo de nanopartículas y dispositivos / Técnicas de caracterización*. <http://www.ciber-bbn.es/media/407114/catalogo-de-nanopartículas-y-dispositivos-tecnicas-de-caracterización.pdf>

Diseño de un regulador no lineal por bloques para el sistema glucosa-insulina utilizando redes neuronales de alto orden

Onofre Orozco¹, Agustín Rodríguez-Herrero², Carlos E. Castañeda¹, G. García-Sáez², M. Elena Hernando²

¹ Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara, Lagos de Moreno, México, onofre.orozco.23@gmail.com, ccastaneda@lagos.udg.mx

² Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España, {arodri,ggarcia,elena}@gbt.tfo.upm.es

Resumen

En este trabajo se propone un algoritmo de control en lazo cerrado para el control automático de la diabetes tipo 1 basado en la identificación de sistemas no lineales con redes neuronales artificiales y mediante la regulación basada en la forma controlable no lineal por bloques.

Como paciente virtual se utiliza el modelo de Hovorka al que se conecta el algoritmo de control utilizando prealimentación procedente de la terapia prescrita con insulina y un módulo de seguridad para evitar las hipoglucemias.

El identificador neuronal es entrenado en línea con un filtro de Kalman extendido con una función de activación definida por la tangente hiperbólica. El controlador no lineal por bloques se basa en la estructura de la red neuronal, cuya salida es la propuesta de dosificación de insulina antes de prealimentación y módulo de seguridad. El algoritmo presenta un peso que se interpreta como una ganancia de controlabilidad.

La glucosa del paciente está condicionada al valor de la ganancia, se definen tres ensayos con diferentes valores: ensayo A (10^{-3}); ensayo B ($7 \cdot 10^{-4}$) y ensayo C ($9 \cdot 10^{-3}$).

El valor del peso de controlabilidad condiciona la cantidad de insulina propuesta por el controlador de forma directa en el paciente virtual medio del modelo de Hovorka.

1. Introducción

La diabetes es una enfermedad crónica caracterizada por la hiperglucemia, que es una alta concentración de glucosa en la sangre. La diabetes mellitus tipo 1 (DMT1) se presenta cuando el páncreas no produce insulina, debido a un proceso auto inmune que destruye las células beta. En la actualidad es imposible regenerar las células beta y por tanto curar esta enfermedad [1]. Los pacientes con DMT1 deben monitorear sus niveles de glucemia por medio de un glucómetro extrayendo varias muestras de sangre al día. Esta medida puede complementarse con un sensor continuo de glucosa subcutánea (CGM, por sus siglas en inglés *Continuous Glucose Monitoring*). La terapia convencional para la DMT1 requiere del suministro exógeno de insulina inyectada de forma subcutánea 3 ó 4 veces al día. Los sistemas de infusión subcutánea continua de insulina (bombas de insulina) suministran microdosis de insulina de cinética rápida de forma periódica y cada poco tiempo.

Las terapias con insulina exógena requieren mantener la glucosa en niveles de normalidad en los periodos de ayuno mediante la administración de bolos basales (u_b en la Figura 1, sección 2.1). Sin embargo la insulina utilizada

para reducir la glucosa derivada de los carbohidratos de los alimentos se realiza con bolos prandiales (u_p en la Figura 1, sección 2.1).

El comportamiento dinámico del sistema glucosa-insulina ha sido estudiado ampliamente, generando modelos matemáticos con ecuaciones diferenciales no lineales. En su mayoría los modelos propuestos suelen organizar el sistema glucosa-insulina en compartimentos, para describir la interacción entre la insulina y la glucosa, dando lugar a los llamados modelos compartimentales. La disponibilidad de dichos modelos permite a los investigadores ahorrar una gran cantidad de recursos y tiempo al realizar experimentos y pruebas *in silico* [2]. En el desarrollo de este trabajo se eligió el modelo compartimental propuesto por Hovorka y colaboradores [3, 4], que a nuestro criterio es uno de los modelos que describe con una calidad aceptable el comportamiento dinámico glucosa-insulina de los pacientes con DMT1.

Un páncreas endocrino artificial (PEA) es la integración de un sensor de medición continua de glucosa, una bomba de infusión y un algoritmo de control. El PEA pretende independizar al enfermo de DMT1 de su enfermedad y reducir el coste sanitario. En el diseño de controladores, es complicado deducir el comportamiento no lineal del sistema glucosa-insulina, los cuales tienen perturbaciones internas o externas, parámetros desconocidos o dinámicas no modeladas y retardos. Una herramienta muy atractiva para tratar con la problemática antes mencionada son las redes neuronales artificiales [4]. Las redes neuronales recurrentes de alto orden (RHONN, por sus siglas en inglés de *Recurrent High Order Neural Network*), permiten identificar la dinámica del sistema a controlar [5].

En este trabajo se propone utilizar una RHONN en tiempo discreto para identificar el sistema glucosa-insulina; la apropiada selección de la RHONN resuelve el problema identificar la dinámica del modelo de la planta [6]. Dicha red es entrenada en línea con un filtro de Kalman extendido (EKF, por sus siglas en inglés *Extended Kalman Filter*) [7]. Una vez identificada la dinámica del sistema a la RHONN se le aplica la técnica del control por bloques con el objetivo de estabilizar la planta y llevar a la salida del sistema glucosa-insulina a un valor deseado siguiendo una señal de referencia. Como perturbaciones principales solamente se consideran las ingestas de

carbohidratos para estimular la dinámica del sistema del paciente con DMT1 simulado. Se propone diseñar la RHONN con la estructura del modelo propuesto por Hovorka [4], añadiendo el modelado de la señal de medida CGM. Se utiliza una función de activación *tangente hiperbólica*, así como modificación estructural de los términos de alto orden de la RHONN. El principal objetivo de este trabajo es comprobar el efecto de la elección del valor de los pesos de controlabilidad de la RHONN. En este trabajo se ajustan heurísticamente los pesos de controlabilidad, con el objetivo de comprobar la hipótesis de que la variación del peso de controlabilidad generará un efecto en la variable de glucosa en el paciente.

2. Metodología

El modelo matemático del sistema glucosa-insulina [4], se complementa con una ecuación diferencial que representa la dinámica del sensor de medición subcutánea que mide la glucosa intersticial. La ecuación (1) modela esa dinámica [8].

$$\frac{dC(t)}{dt} = k_{a_int}[G(t) - C(t)] \quad (1)$$

donde $C(t)$ es la concentración de glucosa en mg/dl en el tejido subcutáneo, $G(t)$ es la concentración en mg/dl de glucosa en plasma y k_{a_int} es la tasa de transferencia constante. El sistema glucosa-insulina está descrito por un conjunto de nueve ecuaciones diferenciales, el cual es discretizado por el método de Euler [9].

2.1. Red neuronal recurrente de alto orden

La RHONN no solo considera la combinación lineal entre sus componentes sino también los productos entre ellos [10]. La flexibilidad en el diseño de la RHONN permite incorporar información a priori en el modelo neuronal sobre la estructura de la dinámica glucosa-insulina del paciente, obtenida a través del modelo. Para el desarrollo de este trabajo se propone una RHONN con una estructura triangular [6] representada en el sistema de ecuaciones (2).

$$\begin{aligned} \chi^1(k+1) &= \omega_1(k)S(\chi^1(k)) + \bar{\omega}_1\chi^2(k) \\ \chi^i(k+1) &= \omega_i(k)S(\chi^1(k), \dots, \chi^i(k)) + \bar{\omega}_i\chi^r(k) \quad (2) \\ \chi^r(k+1) &= \omega_r(k)S(\chi^r(k)) + \bar{\omega}_r u(k) \\ \tilde{y}(k) &= \chi^1(k), \quad i = 2, \dots, r-1 \end{aligned}$$

donde $\omega_i(k)$ es el i -ésimo peso sináptico calculado en línea, $\bar{\omega}_i$ representa pesos sinápticos de controlabilidad, r es la cantidad de ecuaciones diferenciales del sistema glucosa-insulina, $\chi^i(k)$ representa el i -ésimo bloque de la red neuronal que identifica la dinámica de la i -ésima variable de estado del modelo matemático, sin identificar sus parámetros.

En la estructura de la RHONN propuesta, la variable $\chi^2(k+1)$ del desarrollo del sistema de ecuaciones (2), contiene los términos de alto orden dado por el producto de funciones de activación $(S(\chi^2(k))S(\chi^4(k)))^2$ que se utilizan para mejorar el desempeño de la RHONN. El algoritmo de entrenamiento utilizado para calcular en línea los pesos sinápticos de la RHONN es un EKF [6]. El

propósito del algoritmo de entrenamiento es reducir el error de identificación, calculando en cada iteración los valores de los pesos sinápticos. La función de activación $S(\cdot)$ de la red se muestra en la ecuación (3).

$$S(\chi^i(k)) = \tanh(f(\chi(k), k)) \quad (3)$$

donde “tanh” es la tangente hiperbólica y uno de los términos no lineales de la red neuronal y $f(\chi(k), k) = \omega_i(k)S(\chi^1(k), \dots, \chi^i(k))$.

La red neuronal proporciona la identificación de cada una de las variables de estado; para proceder a realizar acciones de control como se propone en la Figura 1 para el desarrollo en particular del presente trabajo.

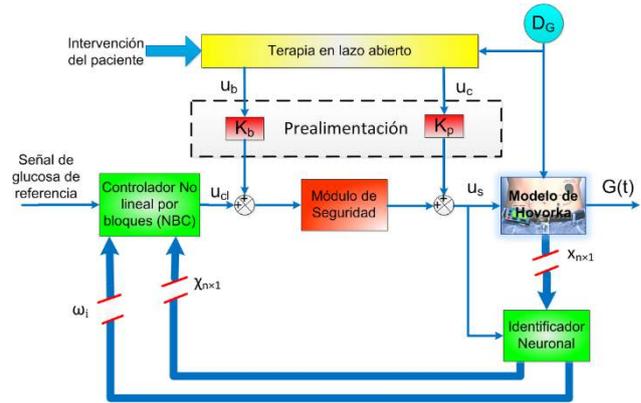


Figura 1. Diagrama de la topología propuesta.

2.2. Controlador no lineal por bloques

La estructura de la técnica de control no lineal por bloques (NBC, por sus siglas en inglés *Non-Linear Block Control*) requiere que el sistema tenga la forma triangular que impone las siguientes condiciones: la primera variable de estado debe ser la variable a controlar; a continuación debe de existir una correlación entre cada variable de estado y su predecesor y para finalizar el parámetro de control debe estar contenido en la última variable de estado. La ley de control diseñada está basada en el identificador neuronal actualizado con el algoritmo EKF, como se aprecia en la Figura 1. Con la aplicación de la técnica NBC se introduce la transformación iterativa basada en el error de seguimiento mostrada en el sistema de ecuaciones (4).

$$\begin{aligned} \varepsilon^1(k) &= \chi^1(k) - \chi_d^1(k) = x_1(k) - \chi_d^1(k) + \Delta_1(k) \\ \varepsilon^i(k) &= \chi^i(k) - \chi_d^i(k) = x_i(k) - \chi_d^i(k) + \Delta_i(k) \quad (4) \\ & \quad i = 2, \dots, r \end{aligned}$$

donde $\chi_d^i(k)$ es el valor deseado para $\chi^i(k)$ y la ecuación (5) describe el valor deseado de las variables de estado.

$$\begin{aligned} \chi_d^2(k) &= \bar{\omega}_1^+ [K_1 \varepsilon^1(k) - \tilde{f}_1(\chi^1(k), k)] \\ \chi_d^{i+1}(k) &= \bar{\omega}_i^+ [K_i \varepsilon^i(k) - \tilde{f}_i(\chi^i(k), k)] \quad (5) \\ & \quad i = 2, \dots, r \end{aligned}$$

donde $\tilde{f}_i(\chi^i(k), k) = \omega_i S(\chi^i(k)) - \chi_d^i(k+1)$, con K como una matriz triangular superior que contiene los autovalores (*eigenvalores*) del error de identificación

$\Delta_i(k)$ en su diagonal, $\bar{\omega}_i^+ = \bar{\omega}_i^T (\bar{\omega}_i \omega_i^T)^{-1}$ que es la matriz pseudoinversa de $\bar{\omega}_i$ la cual existe y es no nula.

3. Implementación del algoritmo de control

A partir del desarrollo de las ecuaciones (4) y sustituyendo la ecuación (2) en (5) obtenemos la función de control [9], mostrada en la ecuación (6).

$$u(k) = [\bar{\omega}_9]^{-1} [\tilde{f}_9(\chi^9(k), k) + K\varepsilon^9(k)] \quad (6)$$

donde $u(k)$ es la señal de control que está en función del error de identificación $\tilde{f}_9(\chi^9(k), k) = \omega_9 S(\chi^9(k)) - \chi_d^9(k+1)$ y el error de seguimiento $\varepsilon^9(k) = x_9(k) - \chi_d^9(k) + \Delta_9(k)$.

Antes de suministrar la insulina propuesta por la ecuación (6) al paciente, con la topología mostrada en la Figura 1 se prealimenta una proporción del microbolo de insulina K_b de la terapia basal que tiene prescrita el paciente en su terapia por bomba. La suma de la dosis de prealimentación $K_b \cdot u_b$ y la propuesta por el algoritmo de control u_{cl} se condiciona a través de un sistema denominado módulo de seguridad. Este sistema evita el riesgo frente a episodios de hipoglucemia, suspendiendo el suministro de insulina. Finalmente se suma al bolo condicionado por el módulo de seguridad un porcentaje del bolo prandial $K_p \cdot u_p$, (ver Figura 1, sección 2.1).

4. Diseño de las pruebas *in silico*

Se toma como referencia el plan de ingestas en gramos de carbohidratos D_G de la Figura 1 de un estudio documentado *in vivo* procedente de un ensayo clínico en un hospital [11], con 41 g en el desayuno; 60 g para la comida y 57 g durante la cena a las 8:00, 14:00 y 20:00 respectivamente. Las simulaciones se realizarán durante 4 días en los que el paciente virtual está controlado en lazo cerrado. La ventana de evaluación del experimento abarca desde las 10 p.m. del segundo día hasta las 23:59 p.m. del 4º día.

Al paciente virtual se le suministra la insulina mediante un PEA basado en la ley de control (6). El objetivo es observar los cambios glucémicos en función del peso de control $\bar{\omega}_9$. Con la finalidad de observar el efecto del peso de controlabilidad en la glucosa intersticial se definen tres ensayos: ensayo A, donde $\bar{\omega}_9 = 7 \cdot 10^{-4}$; B [9], donde

$\bar{\omega}_9 = 10^{-3}$; y ensayo C, donde $\bar{\omega}_9 = 9 \cdot 10^{-3}$.

5. Resultados de simulación

En esta sección se presentan los resultados de simulación correspondientes a la identificación y el efecto en la variable a controlar por la variación del peso de controlabilidad $\bar{\omega}_9$ como parámetro de prueba.

Para el valor mínimo del peso del controlabilidad se establece que no exista hipoglucemia por encima del 5% del tiempo de simulación, su valor máximo se establece cuando la dosis indicada por el controlador es despreciable en comparación a las proporciones consideradas como prealimentación.

5.1. Identificación de la dinámica de las variables de estado por la RHONN en tiempo discreto

Por simplicidad solo se presenta una gráfica con la identificación de la variable de estado que muestra la glucosa intersticial. En la Figura 2 se muestra cómo la RHONN identifica la variable de estado $C(k)$. La relación entre el tiempo de estabilización de la RHONN y el tiempo de simulación es despreciable.

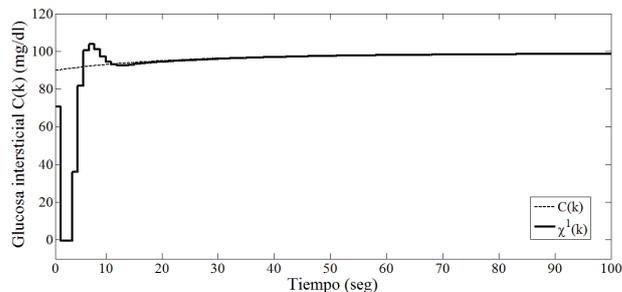


Figura 2. Identificación (RHONN) de la glucosa intersticial.

5.2. Resultados del experimento

En la Figura 3 se muestra por un lado el periodo de tiempo nocturno (desde las 22:00 hasta las 7:45) o control basal, en el que se observa cómo el transitorio del cambio a lazo cerrado hace que en el ensayo B la glucosa se encuentre en zona de normalidad por largo tiempo estando el máximo en 128 mg/dl; en el ensayo A aparecen episodios de hipoglucemia (67 mg/dl) estando el máximo en 139 mg/dl, atribuido a que una mayor concentración de insulina durante el periodo de ayuno estimula la

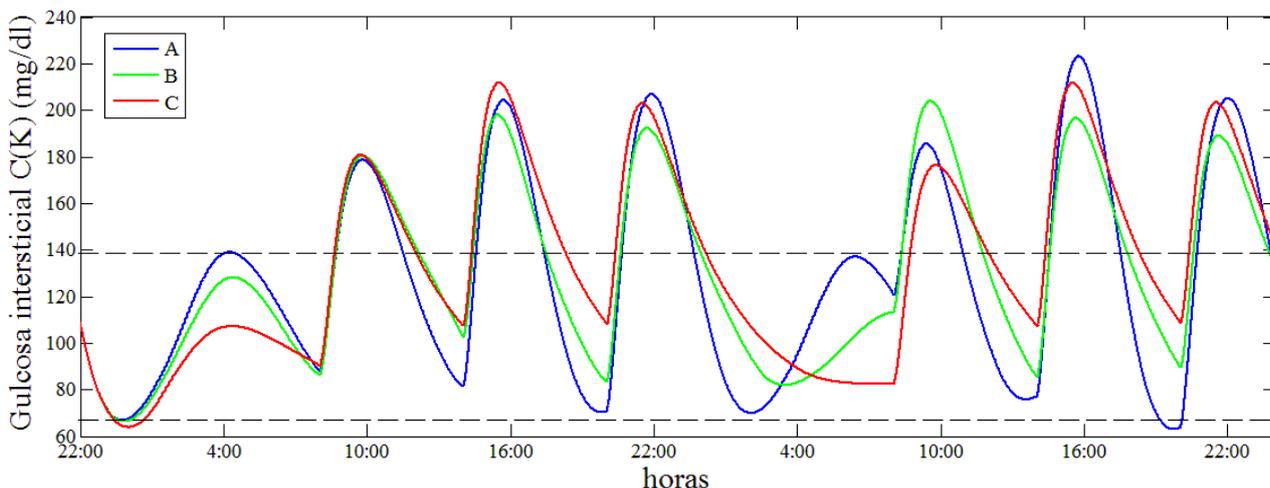


Figura 3. Perfiles de concentración de glucosa intersticial $C(k)$.

producción endógena de glucosa; y en el ensayo C la concentración mínima de glucosa es de 64 mg/dl retornando a la condición de normoglucemia con un máximo de 109 mg/dl. Por otro lado en la Figura 3 se muestran los periodos postprandiales del desayuno, comida y cena. Centrándose en este último para asegurar la desaparición del transitorio, en el periodo comprendido desde las 20:00 hasta las 22:00, en el que se observa que en el ensayo A la hiperglucemia alcanza los 207 mg/dl y finaliza la evaluación con 123 mg/dl; en el ensayo B la máxima concentración de glucosa se encuentra en 192 mg/dl y la concentración de glucosa final es de 138 mg/dl; en el ensayo C el máximo valor de hiperglucemia es 203 mg/dl, terminando la evaluación con 142 mg/dl.

La disposición de la insulina indicada por el algoritmo de control en cada uno de los ensayos fue: para el ensayo A 77 UI, para el B 74 UI y para el C 73 UI.

6. Discusión

El trabajo se presenta para el paciente medio del modelo de Hovorka que se obtiene de los parámetros de 6 pacientes virtuales presentados en [4]. Otros modelos podrían haberse utilizado, como por ejemplo el modelo de Cobelli que forma parte del Simulador de Virginia/Padova [12].

Hemos utilizado el ajuste heurístico para obtener los valores del peso $\bar{\omega}_9$ utilizados en los experimentos. El ajuste heurístico carece de aplicación práctica por el peligro que supone inducir una hipoglucemia en una paciente real, por lo tanto habría que proponer un método automático de ajuste del peso $\bar{\omega}_9$ al paciente [13].

En los periodos nocturnos se aprecia una subida de glucosa en todos los ensayos debido a la producción endógena. El mejor peso de controlabilidad para el periodo nocturno se corresponde con el ensayo C, que aproxima la propuesta del controlador a la terapia en lazo abierto. Sin embargo, el mejor peso para el periodo postprandial es un peso cuyo límite lo darían entre el ensayo A y el B para evitar la hipoglucemia postprandial. Por tanto se justifica la necesidad de realizar un ajuste (manual o automático) del peso de controlabilidad a los diferentes periodos.

7. Conclusiones

El valor del peso de controlabilidad condiciona la cantidad de insulina propuesta por el controlador de forma directa en el paciente virtual medio del modelo de Hovorka. La identificación de la red tiene un corto transitorio identificando todas las variables de estado.

Agradecimientos

Este trabajo es resultado de la estancia de colaboración con el Grupo de Bioingeniería y Telemedicina de la Universidad Politécnica de Madrid, que ha sido apoyado por el Centro Universitario de los Lagos de la Universidad de Guadalajara y por CONACYT (México) mediante la beca 284966. Igualmente se agradece al programa de retención con número 120489.

Referencias

- [1] G. Williams, and J. C. Pickup, *Handbook of Diabetes*, 3rd edn, Blackwell Publishing, 2004.
- [2] D. C. Klonoff, "The Artificial Pancreas: How Sweet Engineering Will Solve Bitter Problems", *J Diabetes Sci Technol*, vol. 1, no. 1, 2007
- [3] Hovorka Roman, V. Canonico, L. J. Chassin, U. Haueter, M. Massi-Benedetti, M. O. Federici, T. R. Pieber, H. C. Schaller, L. Schaupp, T. Vering, and M. E. Wilinska, "Nonlinear model predictive control of glucose concentration in subjects with type 1 diabetes", *Institute of Physics Publishing Physiological Measurement*, Am J Physiol Endocrinol Metab 282, 2002.
- [4] Hovorka Roman, Fariba Shojaee-Moradie, Paul V. Carroll, Ludovic J. Chassin, Ian J. Gowrie, Nicola C. Jackson, Romulus S. Tudor, A. Margot Umpleby, and Richard H. Jones, "Partitioning glucose distribution/transport, disposal, and endogenous production during IVGTT", *The American Physiological Society, Physiol. Meas.* 25 2004.
- [5] S. Haykin, *Neural Networks A Comprehensive Foundation*, Pearson Prentice Hall, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada, 1999.
- [6] C. E. Castañeda and P. Esquivel, "Decentralized neural identifier and control for nonlinear systems based on extended Kalman filter", *Elsevier Neural Networks*, vol. 31, pp. 81-87, July 2012.
- [7] R. A. Felix, E. N. Sanchez, and A. G. Loukianov, "Avoiding controller singularities in adaptive recurrent neural control", *Proceedings IFAC'05*, Praga, 2005.
- [8] M. E. Wilinska, L. J. Chassin, C. L. Acerini, J. M. Allen, D. B. Dunger, and R. Hovorka, "Simulation environment to evaluate closed-loop insulin delivery systems in type 1 diabetes," *J. Diabetes. Sci. Technol.*, vol. 4, no. 1, pp. 132–44, Jan. 2010.
- [9] O. Orozco, C. E. Castañeda, A. Rodríguez-Herrero, G. García-Saéz and M. E. Hernando "Glucose-Insulin regulator for Type 1 Diabetes using high order neural networks". *Proc. of the Intl. Conf. on Advances In Computing, Communication and Information Technology (CCIT 2014)*, London, Uk, pp 122-9, 2014.
- [10] E. B. Kosmatopoulus, A. Manolis and P. A. Ioannou, "Dynamical neural networks that ensure exponential identification error convergence", *Neural Networks*, vol. 10, pp. 299-314, 1997.
- [11] I. Capel, M. Rigla, G. García-Sáez, A. Rodríguez-Herrero, B. Pons, D. Subías, F. García-García, M. Gallach, M. Aguilar, C. Pérez-Gandía, E. J. Gómez, A. Caixàs and M. E. Hernando, "Artificial Pancreas Using a Personalized Rule-Based Controller Achieves Overnight Normoglycemia in Patients with Type 1 Diabetes." *Diabetes Technol The*, 16.3, 172–179, 2014.
- [12] C. Dalla Man, F. Micheletto, D. Lv, M. Breton, B. Kovatchev and C. Cobelli, "The UVA/PADOVA Type 1 Diabetes Simulator New Features," *J Diabetes Sci Technol*, vol. 8, pp. 26-34, 2014.
- [13] J. J. Hernández de la Encina, A. Rodríguez Herrero, C. Pérez Gandía, E. J. Gómez Aguilera, M. E. Hernando Pérez, "Método Paramétrico de Inicialización en Páncreas Artificial", *XXIX Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*, Cáceres, 16-18, 2011.

Rastreo de glaucoma basado en detección guiada por imágenes, análisis automático de imágenes y telemedicina

J. Gómez Valverde¹, G. Fatti², A. Antón López²

¹ Biomedical Image Technologies, Universidad Politécnica de Madrid, España, jjgvalverde@die.upm.es

² Servicio Oftalmología, Parc Salut del Mar, Barcelona, España

Resumen

Se estima que más del 50% de la población que padece glaucoma no está diagnosticada. En España, esta patología afecta al 2,1% de los mayores de 40 años, aumentando hasta el 3,7% en los mayores de 70 años. El rastreo mediante telemedicina ha demostrado ser un método coste/efectivo seleccionando adecuadamente la población de riesgo y la periodicidad entre campañas. En el presente trabajo presentamos un novedoso enfoque de rastreo aprovechando la teleoftalmología, optimizando los procesos de realización de los estudios a los pacientes y aplicando el análisis automático de imágenes multimodales y algoritmos de aprendizaje automático. Los resultados hasta ahora, han permitido la evaluación de 809 pacientes y el diagnóstico de 124 casos sospechosos de glaucoma. Los tiempos medios de realización de estudios (12-15 minutos) y de diagnóstico por telemedicina (1-3 minutos) se ajustan a las expectativas iniciales. Las siguientes tareas someterán la implementación de los algoritmos de análisis de imagen y aprendizaje automático, finalizando con un ambicioso estudio de análisis de costes.

1. Introducción

El glaucoma en España afecta al 2,1% entre los mayores de 40 años y su prevalencia aumenta con la edad. Es del 2,2% entre 50 y 59 años, del 2,4% entre 60 y 69 años y de un 3,7% por encima de los 70 años. Además, un 1,7% de la población sufre hipertensión ocular, está por ello predispuesta a desarrollar glaucoma [1]. La mayor parte de los pacientes con glaucoma no sufren síntomas por lo que con frecuencia no se diagnostica hasta fases avanzadas de la enfermedad. Se estima que el porcentaje de casos no diagnosticados supera el 50%. Burr et. al. [2] en una revisión sistemática sobre coste y efectividad de realizar campañas de rastreo, concluyeron que, aunque la información disponible es limitada, el rastreo de glaucoma puede ser coste/efectivo si se dirige a población de riesgo (mayores de 50 años) y se repite en periodos de 2 o más años [2].

El diagnóstico de glaucoma se basa en la medición de la presión (aunque un 30% tienen valores normales de presión) y, sobre todo, en la identificación del daño estructural (fondo de ojo mediante biomicroscopía, retinografías y OCT) y del daño funcional (perimetría). El concepto y el diagnóstico de glaucoma han variado a lo largo de la historia. Hoy en día, se define el glaucoma como una neuropatía óptica progresiva con cambios estructurales típicos en la estructura (papila del nervio óptico y capa de fibras nerviosas (CFN)) y alteraciones características de la función visual (sensibilidad al contraste, visión de colores, detección de movimiento...), cuyo factor de riesgo más importante es la presión

intraocular elevada. Por ello, el diagnóstico de la enfermedad se basa en la identificación de los mencionados cambios estructurales en el nervio óptico, y las alteraciones de la función visual (pruebas psicofísicas), no siendo imprescindible para su diagnóstico la presencia de una presión intraocular elevada. De forma análoga, tampoco una presión intraocular con un valor normal descarta el glaucoma. El estándar de atención en la consulta de oftalmología en un centro especializado consiste en la evaluación oftalmológica completa, la realización de un campo visual y la obtención de una o varias imágenes. Este proceso implica el desplazamiento del paciente a un centro sanitario, la realización de las pruebas y el tiempo del médico especialista.

Para la detección o rastreo del glaucoma se suelen emplear varias pruebas dado que ninguna tiene por sí sola suficiente sensibilidad y especificidad y, además, la Academia Americana de Oftalmología y la Sociedad Europea de Glaucoma recomiendan considerar simultáneamente la evaluación del daño funcional y el daño estructural para el diagnóstico de glaucoma. Las pruebas funcionales, útiles e imprescindibles en diagnóstico y seguimiento del glaucoma, exigen repetidos exámenes en los sujetos sin experiencia y con frecuencia tienen una alta tasa de falsos positivos [3]. Para detectar glaucoma en grandes poblaciones es necesario recurrir a pruebas rápidas, sin aprendizaje por parte del paciente, que puedan ser realizadas por personal no facultativo, y que tengan suficiente sensibilidad y especificidad. Existe por ello una tendencia ascendente hacia el empleo de métodos de imagen, en constante progreso, en la detección de glaucoma en detrimento de las pruebas funcionales.

En este trabajo presentamos algunos resultados preliminares de un estudio que pretende analizar la precisión diagnóstica, el coste y la utilidad de la detección de glaucoma con métodos de aprendizaje automático, análisis de imagen multimodal y telemedicina. Como aspectos innovadores de este proyecto destacamos el empleo simultáneo de retinografías y OCT en la detección de glaucoma, el desarrollo y aplicación de un método automático de análisis de imagen que permita realizar un primer filtro de la imágenes, y la evaluación del coste y la utilidad de este método de detección mediante modelos matemáticos de simulación.

El proyecto se ha dividido en tres fases diferenciadas: en la primera se realizará una campaña de cribado de glaucoma mediante teleoftalmología, a continuación se

procederá al diseño e implementación del análisis automático de retinografías e imágenes de OCT y su incorporación en una herramienta de diagnóstico asistido por ordenador mediante aprendizaje automático. Por último, se aplicarán modelos de simulación de eventos discretos para el análisis de coste-efectividad y coste-utilidad.

A continuación describiremos los aspectos esenciales de las primeras dos fases del estudio describiendo las modalidades de imagen utilizadas. Posteriormente mencionaremos las consideraciones a tener en cuenta en el análisis de imagen y aprendizaje automático en el estudio. Por último, presentaremos el enfoque adoptado en el proyecto para la campaña de cribado mediante teleoftalmología junto con los primeros resultados obtenidos.

2. Métodos

2.1. Tomografía de Coherencia Óptica (OCT)

La OCT es una técnica de imagen relativamente reciente que se basa en la interferometría de baja coherencia. Permite obtener imágenes por secciones o reconstrucciones 3D de tejido semitransparente a través de las medidas del tiempo de retardo y la amplitud de la luz reflejada [4]. Cada sección o corte está formado por múltiples líneas o A-scans, siguiendo la terminología de los ultrasonidos, que representarían las diferentes intensidades de la luz reflejada a diferentes profundidades dentro de la muestra o tejido en estudio. Las primeras variantes utilizadas fueron de dominio temporal y han sido sustituidas en los últimos años por las de fuente de barrido y de dominio espectral. La superior velocidad de escaneado de éstas dos últimas (decenas y cientos de miles de A-scans por segundo) ha permitido generar imágenes 3D de forma más eficiente facilitando su uso en la clínica diaria. Existen múltiples estudios publicados que demuestran la capacidad de clasificar los casos como normales o glaucomatosos, tras comparar distintos parámetros (espesor capa de fibras, espesor de la capa de células ganglionares, índice excavación/papila...) de un sujeto con una base de datos normativa, con una sensibilidad y especificidad en torno al 90%. Concretamente la curva de características operativas obtenida con el espesor medio de la capa de fibras nerviosas oscila 0,88 y 0,95 [5]. Hasta ahora la OCT no se ha empleado para el rastreo por su elevado coste y su falta de portabilidad.

La asociación de dos pruebas de imagen aumenta la información disponible y probablemente la precisión diagnóstica. Existen tres razones fundamentales para emplear dos pruebas distintas de imagen (retinografías y OCT) para la detección de glaucoma. Primera, permiten el rastreo por telemedicina optimizando el tiempo de médico especialista necesario en el proceso. Segunda, aumentan las probabilidades de obtener al menos una imagen de calidad y evaluable. Tercera, la asociación de una retinografía en color de la superficie de la retina con una imagen bi y/o tridimensional de la retina como la OCT permite sumar información complementaria para el diagnóstico. La retinografía ofrece una imagen en color

donde son identificables hemorragias, alteraciones pigmentarias y de color, y la morfología de la papila o los vasos sanguíneos. La OCT permite estudiar cada una de las 10 capas de la retina en un corte pseudo-histológico de la retina, ofrece datos cuantitativos sobre espesor de las distintas capas, y compara las medidas obtenidas con alta resolución y reproducibilidad con bases de datos normales. La suma de ambas técnicas no ha sido evaluada en la detección extra-hospitalaria de glaucoma. Recientemente se han desarrollado cámaras OCT pequeñas, portátiles y menos costosas, como la que se pretende utilizar en este proyecto, que pueden ser de gran ayuda en este entorno.

2.2. Análisis de Imagen y Aprendizaje automático

El diagnóstico manual o por evaluación de un experto de patologías oculares de alta prevalencia exige un gran esfuerzo en el cribado de miles de imágenes. Los sistemas de diagnóstico asistido por ordenador (más conocidos por sus siglas en inglés CAD, Computer-Aided Diagnosis) pueden reducir el coste, tiempo y esfuerzo enormemente. Las nuevas técnicas de análisis y tratamiento de imágenes, junto con los avances en el procesamiento masivo de información son cada vez más relevantes en todas las especialidades médicas, destacando la oftalmología como una de las áreas de mayor interés para realizar sistemas de cribado automático [6]. En los últimos años se ha producido un gran avance en el desarrollo de sistemas de cribado basados en imágenes centrados principalmente en la retinopatía diabética [7], el glaucoma [8], la degeneración macular asociada a la edad y la retinopatía del prematuro [9]. El análisis de imagen puede aplicarse tanto a retinografías como a OCT.

Aunque se han producido grandes avances en los algoritmos de análisis de imagen incluidos en sistemas CAD para cribado oftalmológico todavía quedan retos pendientes por resolver. Uno de ellos es la obtención de una referencia objetiva fiable y robusta (ground-truth) que permita segmentar automáticamente estructuras básicas (disco óptico, venas y la fovea) y lesiones (exudados, microaneurismas y hemorragias). Algunos autores [10] proponen que el uso de bases de datos de imágenes abiertas debería ser un requisito para evaluar cualquier algoritmo de análisis. Otra tendencia en alza es el uso de índices integrados obtenidos en base a características significativas identificadas clínicamente, que a través de unos rangos numéricos establecidos previamente permite clasificar diferentes patologías. Se han desarrollado nuevas técnicas de aprendizaje automático (*machine learning*) que compensan las limitaciones prácticas de no disponer de suficientes imágenes de entrenamiento para el diseño de algoritmos de diagnóstico [11]. Por último, es destacable el uso de varias modalidades de imagen simultáneamente (retinografías y OCT) para optimizar los algoritmos de segmentación respecto al diagnóstico con una única modalidad.

2.3. Teleoftalmología

La teleoftalmología es la rama de la telemedicina que se encarga de proporcionar servicios de diagnóstico y seguimiento de patologías oculares a través del uso de

equipos médicos digitales y tecnologías de telecomunicación [12]. Sus beneficios en costes y mejora en sensibilidad y especificidad han sido resaltados en numerosos proyectos desde hace varios años. Aunque el ámbito de aplicación más extendido sigue siendo la retinopatía diabética, existen experiencias en otras patologías como el glaucoma que avalan su potencial para el diagnóstico y seguimiento [13].

3. Resultados

Para el cálculo del tamaño de la muestra de pacientes que tienen que recibir la evaluación oftalmológica completa se han tenido en cuenta: una significación del 5%, una potencia del 80% y una razón de individuos por grupo de 2 negativos por cada positivo. Para detectar como estadísticamente significativa una diferencia en el área bajo la curva ROC de 8 puntos por encima de 0.84 (es decir, un área bajo la curva de 0.92) son necesarios 222 pacientes, 74 positivos y 148 negativos. El valor de referencia de 0.84 se ha obtenido de la literatura, teniendo en cuenta que los estudios publicados son sobre población seleccionada y el nuestro será sobre población general. Se ha tomado el menor valor publicado. La población de referencia incluye 14.618 hombres y mujeres de 50 a 79 años. De estudios anteriores del grupo se obtuvo un elevado porcentaje de pérdidas debido a causas diversas (censo incompleto o erróneo, imposibilidad de contactar, muertes y, en los contactados, rechazo a participar o no cumplimiento de los criterios de inclusión). Concretamente, de la muestra seleccionada a priori a partir del censo sanitario (RAC) participaron aproximadamente el 25%. Por lo tanto, teniendo en cuenta que sólo un 25% de los pacientes seleccionados aleatoriamente del censo acudieron finalmente a la visita del estudio, es necesario seleccionar 4000 pacientes aleatoriamente (RAC) para conseguir una muestra de 1000 retinografías e imágenes OCT.

El proyecto ha adaptado una herramienta de teleoftalmología que permite realizar la detección y seguimiento de campañas de cribado de patologías de alta prevalencia como la retinopatía diabética, la degeneración macular asociada a la edad y el glaucoma además de otras de menor impacto como las alteraciones vítreo retinianas o la enfermedad vascular obstructiva. La Figura 1 muestra el flujo de tareas utilizado en la fase del proyecto actual.

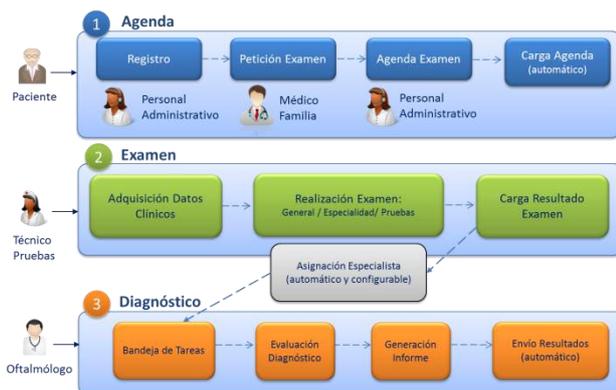


Figura 1. Flujo de actividades campaña de detección de glaucoma a través de herramienta de teleoftalmología.

El personal del Centro de Atención Primaria programa las visitas de las personas incluidas voluntariamente en el estudio. De manera automática se cargan en la agenda junto con los antecedentes de la historia clínica (diabetes y tipo, hipertensión, hiperlipidemia, A.C.V., hábito fumador así como niveles de filtrado glomerular y de hemoglobina glucosilada). Siete profesionales sanitarios (enfermeros y optómetras) se encargan de realizar las pruebas médicas y de cargar los resultados en la herramienta de telemedicina. Las pruebas realizadas consisten en un estudio de agudeza visual, tonometría, retinografías de ambos ojos centradas en mácula y papila y tres informes reportados por el OCT (iVue 100 de Optovue, Inc Fremont, CA, USA), uno de papila de ambos ojos y otros de la mácula de cada ojo.

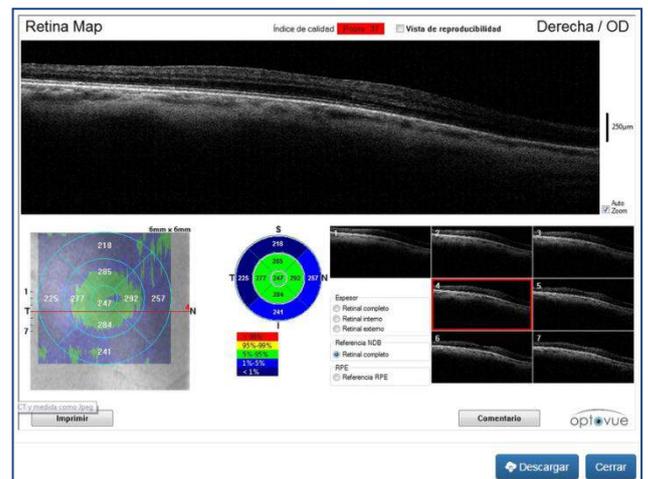


Figura 2. Ejemplo informe del OCT de la Mácula cargado durante el examen

Una vez completado el estudio la herramienta se encarga automáticamente de remitir el estudio a la bandeja de tareas de ocho oftalmólogos. Los especialistas interpretan la información de la historia clínica junto con las pruebas médicas incluidas en cada estudio, para lo cual deben marcar todos los hallazgos identificados en las imágenes disponibles para cada paciente.

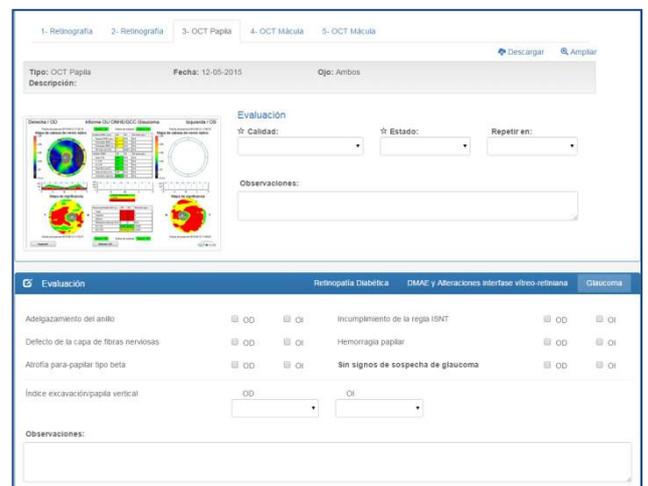


Figura 3. Ventana de identificación de hallazgos clínicos en las pruebas del estudio. Los especialistas deben evaluar todas las imágenes para completar el diagnóstico global.

Una vez completada esta fase la herramienta se encarga automáticamente de clasificar la patología atendiendo a un protocolo adaptado a partir de las recomendaciones de la Sociedad Europea de Glaucoma y que el oftalmólogo puede modificar antes de concluir el diagnóstico. Esta etapa finaliza con la creación de un informe PDF que se remitirá al Centro de Salud para su posterior envío al paciente y con la carga en la agenda del Hospital si se identifica que el paciente tiene un diagnóstico positivo.

Actualmente está finalizando la campaña de cribado, por lo que los resultados no son definitivos. Hasta la fecha se han realizado 809 estudios de los cuales 773 ya han sido diagnosticados por teleoftalmología. El tiempo medio de realizando de las pruebas y carga en la herramienta de telemedicina se ha determinado entre 12 y 15 minutos. El número de pacientes identificados con sospecha de glaucoma han sido 124. La evaluación de los datos e imágenes de cada paciente y la elaboración del informe requiere entre 1 y 3 minutos para el especialista y no se han detectado dificultades significativas en el proceso de evaluación.

Los próximos pasos supondrán la realización de los estudios pendientes hasta llegar a 1000 casos, así como la evaluación en consulta presencial de todos los casos positivos detectados por teleoftalmología, así como 2 casos negativos por cada positivo. En paralelo se comenzará con la siguiente fase de análisis automático multimodal y aprendizaje automático para compararla con las otras dos modalidades de cribado presencial y por teleoftalmología. Respecto al análisis de datos, se calculará la sensibilidad, especificidad y curva de características operativas ROC, se calculará sumando los costes unitarios generados durante el diagnóstico (datos de campo) y el tratamiento (bibliografía disponible) y se definirá el grado de la enfermedad en el momento del diagnóstico. Por último se aplicará un modelo de simulación de eventos discretos basado en la experiencia del grupo en previas campañas de detección y en datos disponibles en la bibliografía y se estimarán los años de calidad de visión ganados (QAVY).

4. Conclusiones

El 2,1% de los mayores de 40 años en España sufren glaucoma. Además, su prevalencia aumenta con la edad. Las campañas de cribado de glaucoma pueden ser coste/efectivas dirigidas a población de riesgo y en periodos de 2 o más años. La teleoftalmología se ha mostrado como un método efectivo para realizar las campañas de rastreo. En el presente artículo se ha presentado el enfoque de un proyecto que busca demostrar que el cribado del glaucoma con teleoftalmología puede ser mejorado a través del uso de una selección adecuada de pruebas, la optimización del proceso de realización de las mismas, el análisis automático de imágenes multimodales y su aplicación en algoritmos de aprendizaje automático. La adaptación de una herramienta de teleoftalmología ha permitido la evaluación de 809 pacientes y el diagnóstico de 124 casos sospechosos de glaucoma hasta el momento. Tras la finalización de la campaña, se iniciará la revisión en

consulta de los pacientes, así como la implementación de los algoritmos de análisis de imagen y aprendizaje automático para poder concluir con un exhaustivo análisis de costes.

Agradecimientos

Este proyecto está financiado por el Instituto de Salud Carlos III (FIS PI15/00412).

Referencias

- [1] A. Antón, M. T. Andrada, V. Mujica, M. A. Calle, J. Portela, and A. Mayo, "Prevalence of primary open-angle glaucoma in a Spanish population: the Segovia study," *Journal of glaucoma*, vol. 13, no. 5, pp. 371-376, 2004.
- [2] J. M. Burr, G. Mowatt, R. A. Hernández, M. A. R. Siddiqui, J. A. Cook, T. Lourenco, C. R. Ramsay, L. D. Vale, C. M. Fraser, and A. Azuara-Blanco, "The clinical effectiveness and cost-effectiveness of screening for open angle glaucoma: a systematic review and economic evaluation," 2007.
- [3] P. De Tarso Ponte Pierre-Filho, R. B. Schimiti, J. P. C. De Vasconcellos, and V. P. Costa, "Sensitivity and specificity of frequency-doubling technology, tendency-oriented perimetry, SITA Standard and SITA Fast perimetry in perimetrically inexperienced individuals," *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, vol. 84, no. 3, pp. 345-350, 2006.
- [4] M. Wojtkowski, "High-speed optical coherence tomography: basics and applications," *Applied Optics*, vol. 49, no. 16, pp. D30-D61, 2010.
- [5] G. Li, A. K. Farsi, J.-F. Boivin, L. Joseph, and P. Harasymowycz, "Screening for glaucoma in high-risk populations using optical coherence tomography," *Ophthalmology*, vol. 117, no. 3, pp. 453-461, 2010.
- [6] N. Patton, T. M. Aslam, T. MacGillivray, I. J. Deary, B. Dhillon, R. H. Eikelboom, K. Yogesana, and I. J. Constable, "Retinal image analysis: concepts, applications and potential," *Progress in retinal and eye research*, vol. 25, no. 1, pp. 99-127, 2006.
- [7] M. R. K. Mookiah, U. R. Acharya, C. K. Chua, C. M. Lim, E. Y. K. Ng, and A. Laude, "Computer-aided diagnosis of diabetic retinopathy: A review," *Computers in biology and medicine*, vol. 43, no. 12, pp. 2136-2155, 2013.
- [8] L. Jiang, Z. Zhuo, D. W. K. Wong, X. Yanwu, Y. Fengshou, C. Jun, T. Ngan Meng, K. Chee Keong, X. Dong, T. Yih Chung, A. Tin, and W. Tien Yin, "Automatic glaucoma diagnosis through medical imaging informatics," *Journal of the American Medical Informatics Association*, vol. 20, no. 6, pp. 1021-7, Nov., 2013.
- [9] M. D. Abràmoff, M. K. Garvin, and M. Sonka, "Retinal imaging and image analysis," *Biomedical Engineering, IEEE Reviews in*, vol. 3, pp. 169-208, 2010.
- [10] M. D. Abràmoff, M. Niemeijer, M. S. A. Suttorp-Schulten, M. A. Viergever, S. R. Russell, and B. van Ginneken, "Evaluation of a system for automatic detection of diabetic retinopathy from color fundus photographs in a large population of patients with diabetes," *Diabetes care*, vol. 31, no. 2, pp. 193-198, 2008.
- [11] C. I. Sánchez, M. Niemeijer, M. D. Abràmoff, and B. van Ginneken, "Active learning for an efficient training strategy of computer-aided diagnosis systems: application to diabetic retinopathy screening," *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention—MICCAI 2010*, pp. 603-610: Springer, 2010.
- [12] K. Bahaadinbeigy, and K. Yogesana, "A literature review of teleophthalmology projects from around the globe," *Digital Tele-retinal Screening*, pp. 3-10: Springer, 2012.
- [13] S. Kumar, A. Giubilato, W. Morgan, L. Jitskaia, C. Barry, M. Bulsara, I. J. Constable, and K. Yogesana, "Glaucoma screening: analysis of conventional and telemedicine-friendly devices," *Clinical & experimental ophthalmology*, vol. 35, no. 3, pp. 237-243, 2007.
- [14] M. T. Leite, H. L. Rao, L. M. Zangwill, R. N. Weinreb, and F. A. Medeiros, "Comparison of the diagnostic accuracies of the Spectralis, Cirrus, and RTVue optical coherence tomography devices in glaucoma," *Ophthalmology*, vol. 118, no. 7, pp. 1334-1339, 2011.

Pósters 2

Jueves 5 de Noviembre

Controlling virtual scenarios for minimally invasive surgery training using the EVA Tracking System

I. Oropesa^{1,2}, J.A. Sánchez-Margallo³, P. Sánchez-González^{1,2}, J.B. Pagador³, G. Tsoikas⁴,
N. Skarmas⁴, F.M. Sánchez-Margallo³, E.J. Gómez^{1,2}

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

² Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Zaragoza, Spain

³ Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España; {jasanchez, jbpagador, msanchez} @ccmijesususon.com

⁴ Avaca Technologies, Athens, Greece; {gtsoikas, nskarmas} @ avaca.gr

Abstract

Software-based solutions such as virtual reality simulators and serious games can be useful assets for training minimally invasive surgery technical skills. However, their high cost and lack of realism/fidelity can sometimes be a drawback for their incorporation in training facilities. In this sense, the hardware interface plays an important role as the physical connection between the learner and the virtual world. This article presents the first efforts in integrating the EVA Tracking System, based on computer vision, to control a virtual serious game with real laparoscopic instruments. Integration between the game engine and the tracking system is achieved using ZeroC Ice and Apache Thrift frameworks. Control of the game is viable in this manner, though there are several functional limitations (grasping, rotation), as well as a need to compromise between robustness and lag. Validation with real users will be the next step towards establishing the acceptance and viability of this new solution.

1. Introduction

Training of minimally invasive surgical (MIS) technical skills has undergone a profound transformation in recent decades. The long-standing mentor-apprentice model is being gradually transformed into structured, objective learning programmes. Hands-on performance in real surgeries is delayed until the resident masters technical skills in patient-free laboratory settings. These skills laboratories provide the means to train technical abilities required of MIS surgeons in box trainers, mannequins or cadavers without the stress and information overload of a real surgery, thus encouraging deliberate practice [1].

A common trend in recent decades has been the introduction of Technology Enhanced Learning (TEL) to support MIS learning. Software-based solutions, mainly represented by virtual reality (VR) simulators, have become consolidated companions to technical skills' learning. These simulators offer the chance to reproduce the technical and nontechnical challenges surgeons will face in the operating room (OR) with a high level of fidelity and reproducibility. Their use is widely accepted as a means to train technical skills in different validation studies in the literature, especially at basic level [2].

More recently, a new variant for software-based learning is being explored in the form of serious games. A serious

game can be defined as an 'interactive computer application, with or without significant hardware component, that has a challenging goal, is fun to play and engaging, incorporates some scoring mechanism, and supplies the user with skills, knowledge or attitudes useful in reality' [3]. Underlying beneath them is the notion that the competitiveness and engaging mechanisms of a game can be applied to induce a learning "stealth mode". This, however, requires that the learning objectives of the game are clearly defined and that the learner never loses perspective of the main goal when playing a serious game, which is to acquire or train an ability [3].

A common component both for VR simulators and serious games comes from the fidelity the system offers compared to a real OR situation [5]. In this sense, the hardware interface plays an important role as the physical connection between the learner and the virtual world [4]. This may be achieved either by affixing magnetic/mechanical/optical sensors to real laparoscopic instruments or, most typically, by using joystick-type constructs. Typical problems with these approaches are their cost (acquisition and maintenance), bulkiness and modification of instruments' ergonomics, which may have an impact on fidelity [2].

Video-based tracking of laparoscopic instruments can potentially solve the above mentioned problems. A common solution to the problem consists in using stereoscopic video-based approaches. This solution has been tested in box trainers, where dual-camera approaches are more feasible [6]. However, rarely do surgeons operate using stereoscopic laparoscopes, and thus research in this field has mostly been devoted to techniques for extracting the 3D location of instruments based on the monoscopic image of the endoscope. In this sense, in previous works we presented and validated the EVA Tracking System, which can track instruments inside a box trainer and perform motion analysis for the assessment of MIS technical skills [7].

The goal of this work is to test the feasibility of employing a video-based tracking system to control a virtual MIS training application. An adaptation of the EVA Tracking System will be integrated with a new

serious game for MIS technical skills' training, the Kheiron Training System (KTS). The game aims to provide a low cost, portable and innovative approach to surgical training to engage the learner while ensuring learning outcomes are accomplished. By integrating EVA, the game aims to incorporate a non-expensive controller scheme with a high level of fidelity, allowing the use of real laparoscopic instruments without significant ergonomic modifications.

2. KTS Serious game

The KTS serious game combines box trainer practice and video gaming to provide residents and medical students with an innovative and engaging approach to psychomotor skills training. Its goal is to encourage deliberate practice of basic tasks and manoeuvres through a virtual environment where the actual elements displayed and the goals to achieve are not MIS related, but rather a part of the plot of the game itself.

The game, called "The Alchemist", is set in the work bench of an apprentice alchemist in his/her process to become a master potion-maker. To reach this goal, the player must complete a series of tasks/challenges such as lighting candles, mixing ingredients, catching mice, etc. Tasks are presented in increasing difficulty, and each is designed to train one/several technical aspects of MIS. As such, explanatory audio-visual supporting material is provided with each one of them to correlate the skills just practiced with their application in real surgical scenarios.

All tasks are performed with two magic wands that stand for the laparoscopic instruments. As such, motion of the wands mimics the movement of two real laparoscopic instruments inside a box trainer, which will be used to control the game.

3. EVA Tracking System

The EVA Tracking System is employed to provide real time information on the position of the laparoscopic instruments and send said coordinates to the game in order to control movements of the wands. The EVA is a computer vision-based tracking system that obtains the instrument tip position based solely on the intrinsic camera parameters and the geometrical properties of the instruments, without the need of external sensors. A first MATLAB[®] version of EVA was previously validated for motion analysis of MIS skills in box trainer settings [7].

The EVA Tracking System is currently implemented in C++ using OpenCV libraries to handle all image and video processing functionalities. EVA can track two laparoscopic instruments on the screen, provided that they each incorporate two different colour markers near their tip. Colour-based semi-automatic segmentation in HSV space is used to identify each instrument in the video.

For each marker, first and second order moments are calculated. The first order moment defines the centroid of the marker, which is used as a reference tracking point. The second order moment provides the orientation of the marker. This information is used in the next stage, which computes a Hough transform of the image to identify the

instruments' borders. Orientation information is used to filter lines with a higher probability of belonging to either instrument. In order to perform Hough analysis, edge information of the image is previously extracted by means of a Canny filter.

The reference 2D tracking point and the information from the borders of an instrument can be used to obtain a 3D estimation of its spatial location. Two previously validated methods can be used indistinctly. The first uses information of the apparent diameter of the instrument to calculate the depth of the point being tracked [7]. The second uses information from the geometrical projection of the instrument (a cylinder in real life, a trapezoid in the video frame) to determine its orientation and position [8]. A final post-processing phase allows to remove noisy measurements and smooth the output motion signal. This is achieved by means of a Kalman filter for each of the laparoscopic instruments used within the game.

4. KTS - EVA communication

Communication between the KTS game and the EVA Tracking System is based on two elements: (1) A hardware platform; and (2) an API that sends motion data from the tracker to the game engine.

4.1. Hardware input requirements

The KTS serious game is designed to be played on any box trainer setting. To that end, the game comes with a hardware input device consisting of a white empty box, a LED ring that illuminates the interior of the box and a camera affixed to the box to show its working space.

The KTS box is designed to be placed inside a box trainer during gameplay. The essential purpose of the box is to provide homogeneous conditions for tracking regardless of the space, background and illumination conditions of the box trainer, effectively providing an environment for chroma keying of the instruments. The front and top of the KTS box are completely open, in order to ensure freedom of movement of the instruments.

Any laparoscopic instrument can be tracked, as long as its shaft presents a black matte colour. As mentioned previously, the only modification required is the placement of a colour marker in their distal end, 2cm long. A calibration software allows beforehand to select and adjust the segmentation seed and thresholds for each marker (Fig. 1).

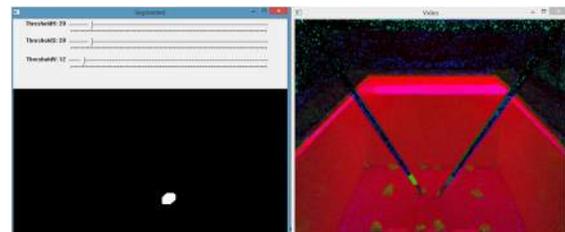


Figure 1. Calibration software. (Left) Segmented view and slide bars. (Right) HSV view inside the KTS box.

The software requires that the user places the instruments inside the KTS box and select a seed for each marker using the mouse. Around a neighbourhood of the seed, the

mean HSV values are computed. Three slide bars allow to control the tolerance/variance around the mean, to ensure a correct segmentation of the marker. The mean and the variance are then saved as the thresholds used for colour-based segmentation in the main tracking application. In this way, the possibility is opened for each user to try different combinations of marker colours.

4.2. Software API communication

Since EVA is developed in C++ and the game engine in C# and Unity 3D, an integration between the two platforms has to be performed on a low-level. ZeroC Ice and Apache Thrift frameworks are used. Although usually one of the above is enough, both of them are used to account for version differences of C# and C++ employed and incompatibilities between them.

The ZeroC/Thrift-based bridge acts as a mediator receiving calls from EVA and translating them to calls to the C# Unity engine. A message oriented approach is adopted to send motion data from the tracking system to the game (Fig. 2).

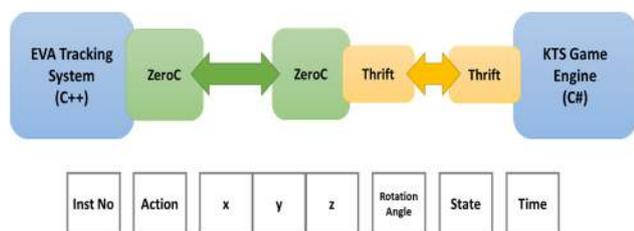


Figura 2. (Top) Communication architecture. (Bottom) Message configuration. Left to right: Instrument (left/right), Action (movement/grasping), Position (x,y,z), Rotation of instrument along its axis (°, currently not used), State (open/closed), Time (s)

Movements are communicated to the game with respect to the optical centre of the tracking system and are resampled and transformed on a real time basis to X, Y, Z Cartesian coordinates (in cm) with reference point the lower left hand of the KTS box closer to the player. The transformation takes into assumption that the camera and the box edge coordinates are constant.

Currently, the EVA tracking system only supports motion information. In order to handle rotation and grasping actions within the game, software-based solutions have been implemented. Rotation of the in-game wands are achieved by placing them over two specially designated areas on the alchemist’s workbench. On the other hand, grasping is achieved by keeping the wand still for two seconds over a virtual object. When this happens, the tracking system sends a flag on the *State* field to the game engine to open/ close the virtual tips of the wand. Objects are released when placed on a surface or when a collision with another object occurs.

5. Results and discussion

After integration of the different modules, the KTS game can be controlled using real laparoscopic instruments inside a box trainer. Figure 3 shows an image of a testing setting, installed inside the SIMULAP IC-05 box trainer, and running on a PC Intel® Core i7, 8GB DDR3 memory,

2.2GHz and NVIDIA® GeForce® 710M with 2Gb dedicated VRAM.



Figura 3. Testing setting. The KTS box is placed inside the SIMULAP IC-05 box trainer and covered with a surgical drape. The camera is used to track laparoscopic instruments, and occupies a fixed position

Figure 4 shows a capture of the game running parallel with an augmented view of the tracking system. Movements of the laparoscopic instruments inside the KTS box are tracked at ~10fps and sent to the KTS game engine, which in turn has a refresh rate of ~15fps. When the laparoscopic instruments are kept still for two seconds, the “Grasp” signal is sent and interpreted by the game. Finally, rotation of instruments works as expected when placed in the designated points inside the game.

Test runs with technical experts and surgeons show that in general, the tracking system performs best capturing long range motion (movements across the box) than precision movements around a target. This is reflected inside the game by a jerkiness in the movements of the instruments that may affect precise manoeuvres, such as lighting a candle or grasping a flask. This jerkiness is mainly caused by small variations in the detection of instrument borders in EVA, which in turn affect the depth estimation. Modification of Kalman parameters can increase the precision of the system, at the cost of introducing a slight lag to the controller. This delay in turn may affect the user experience and impact on the fidelity of the game. A compromise must thus be reached between speed and robustness when controlling the game.

Part of these limitations can also be explained away by the current hardware configuration of the game. Video-based tracking is usually sensitive to lighting conditions. In this sense, EVA could be negatively influenced by light variances inside the KTS box. The SIMULAP box trainer offers a transparent casing, which needs to be covered by surgical drapes to create the necessary lighting conditions, but even then, small variances in illumination may occur. Moreover, the glossy surface of the box can create reflections under the glow of the LEDs, leading to tracking errors. Although the KTS box was specifically designed to facilitate working conditions of EVA together with the KTS serious game, illumination could be further analysed to determine what changes should be introduced.

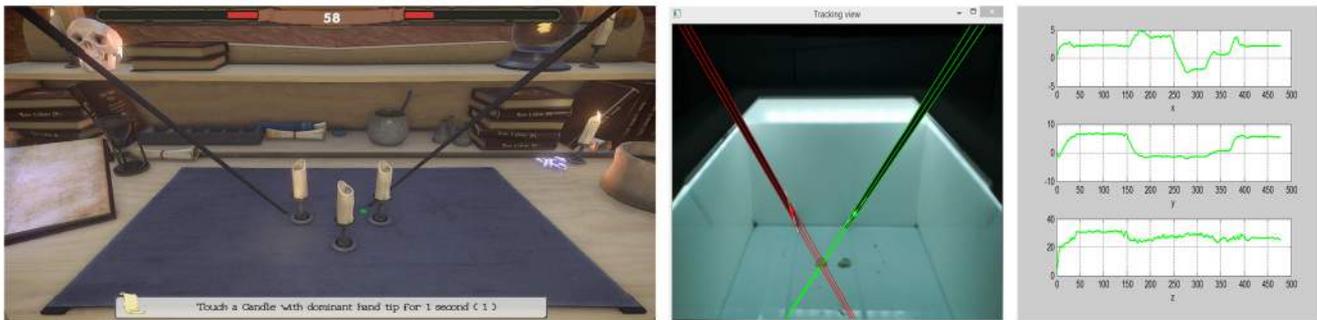


Figura 4. KTS game and EVA Tracking system. (Left) In-game capture of the KTS Candles (Dominant) Task. Goal of the task is to light the three candles shown hovering the right hand wand over them. (Middle) Tracking view inside the box trainer, corresponding with the in-game situation (Right) Final path covered with the dominant instrument performing the task (retrieved with Matlab®).

Additionally, new alternatives for detection of grasping and rotation are required to augment the fidelity of the game. The current solutions are thought of as provisional, and given the aforementioned precision issues, need to be re-evaluated. An obvious alternative comes from the use of sensing technology to detect the instrument state or the rotation. This, however, would again imply modifying the instruments and adding extra hardware. Instead, new alternatives are being considered based on computer vision combined with machine learning to, for example, detect if an instrument is open or closed [9].

A last limitation is the lack of haptic feedback for the trainee, since instruments are manipulated inside an empty box. However, it has been shown that for tasks where force application is necessary, artificially-generated feedback does not necessarily improve technical skills, but natural force feedback does. Thus, a possible improvement could come from exploring hybrid solutions in which the game requires manipulation of physical objects with a software counterpart inside the game.

6. Conclusions

We have presented the first efforts to include a computer vision-based tracking system, the EVA, in a virtual training scenario. This configuration is meant to increase the fidelity of virtual environments while decreasing their costs. Improvements still need to be carried out to fully ascertain the viability of the solution, but this first proof of concept reflects its potential.

The game is currently entering the last stages of development. Validation will take place on four European sites (Germany, Hungary, Romania and Spain) with end-users (residents and medical students). Trials will start in October 2015. Results will not only provide feedback on the pedagogical value of the game, but on the fidelity that a video-based tracking system such as EVA can provide.

Acknowledgements

This work has been carried out under project KTS (543202-LLP-1-2013-1-ES-KA3-KA3MP). This project has been funded with support from the European Commission. This communication reflects the views only of the author, and the Commission cannot be held

responsible for any use which may be made of the information contained therein.

References

- [1] Hiemstra E. Acquiring Minimally Invasive Surgical Skills. Leiden: Department of Minimally Invasive Surgery in Gynaecology, Faculty of Medicine/Leiden University Medical Center (LUMC), Leiden University, 2012
- [2] Oropesa I, Sanchez-Gonzalez P, Lamata P, Chmarra MK, Pagador JB, Sanchez-Margallo JA, Sanchez-Margallo FM Gomez EJ. Methods and Tools for Objective Assessment of Psychomotor Skills in Laparoscopic Surgery. *Journal of Surgical Research* 171(1): E81-E95, 2011.
- [3] Graafland M, Schraagen JM, Schijven MP. Systematic review of serious games for medical education and surgical skills training. *British Journal of Surgery*, 99(10), 1322–30, 2012.
- [4] Våpenstad C, Buzink SN. Procedural virtual reality simulation in minimally invasive surgery. *Surgical Endoscopy*, 27(2), 364–77, 2013
- [5] Lamata P, Gomez EJ, Bello F, Kneebone RL, Aggarwal R, Lamata F. Conceptual framework for laparoscopic VR simulators. *Computer Graphics and Applications, IEEE* 26(6): 69-79, 2006
- [6] Pérez Escamirosa F, Ordorica Flores RM, Oropesa I, Zalles Vidal CR, Minor Martínez A. Face, content, and construct validity of the EndoViS training system for objective assessment of psychomotor skills of laparoscopic surgeons. *Surgical Endoscopy*; doi: 10.1007/s00464-014-4032-6, 2014.
- [7] Oropesa I, Sánchez-González P, Chmarra MK, Lamata P, Fernández A, Sánchez-Margallo JA, Jansen FW, Dankelman J, Sánchez-Margallo FM, Gómez EJ. EVA: Laparoscopic instrument tracking based on endoscopic video analysis for psychomotor skills assessment, *Surgical Endoscopy*; 27(3): 1029-1039, 2013.
- [8] Cano AM, Sánchez-González P, Sánchez-Margallo F, Oropesa I, Pozo F Gómez E. Video-endoscopic image analysis for 3D reconstruction of the surgical scene. *4th European Conference of the International Federation for Medical and Biological Engineering, IFMBE Proc.*22(8): 923-926.
- [9] Sánchez-Margallo JA, Sánchez-Margallo FM, Pagador JB, Gómez EJ, Sánchez-Gonzalez P, Uson J and Moreno J Video-based assistance system for training in minimally invasive surgery. *Minimally Invasive Therapy & Allied Technologies*, 20(4): 197-205, 2011.

Evaluación de un entorno de rehabilitación cognitiva basado en tecnologías de Vídeo Interactivo y Eye-Tracking

N. Ballesteros¹, JM. Martínez-Moreno^{1,2}, J. López³, P. Sánchez-González^{1,2}, J. Solana^{1,2}
R. Sánchez-Carrión³, J.M. Tormos³, E.J. Gómez Aguilera^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación (UPM), Madrid, España
{nballesteros,jmartinez,psanchez,jsolana,egomez}@gbt.tfo.upm.es

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

³ Instituto Universitario de Neurorehabilitación Guttmann-UAB, Barcelona, España,
{jaumelopez,rsanchezcarrion,jmtormos}@guttman.com

Resumen

La incorporación de las nuevas tecnologías al proceso de rehabilitación ha permitido incrementar la intensidad de los tratamientos, personalizándolos y prolongándolos en el tiempo de forma sostenible. Los Entornos Virtuales (EV) interactivos apoyados en esta tendencia permiten reproducir Actividades de Vida Diaria (AVD) controladas que incrementan el valor ecológico de las terapias. Por sus características, el Vídeo Interactivo (VI) es una tecnología idónea para el desarrollo de EV sobre los que el neuropsicólogo implemente estrategias de intervención terapéutica.

Este trabajo tiene por objetivo evaluar el entorno de rehabilitación cognitiva desarrollado mediante VI e integrado con un sistema de Eye-Tracking (ET), para ser utilizado por pacientes con un déficit cognitivo. Para ello, se ha diseñado y desarrollado un estudio experimental en el que se ha evaluado la madurez del sistema en términos de robustez y usabilidad, capacidad de monitorización, y capacidad para guiar a los sujetos a través del entorno.

El análisis de los datos resultantes de la monitorización durante el estudio realizado con 34 sujetos sanos demuestra que el entorno cumple los requisitos necesarios para ser incorporado en terapias de rehabilitación cognitiva.

1. Introducción

El Daño Cerebral Adquirido (DCA) se ha convertido en una de las principales causas de discapacidad neurológica de las sociedades desarrolladas [1][2]. Teniendo en cuenta que hasta la más simple de las Actividades de Vida Diaria (AVD) que realizamos se ven condicionadas por nuestras habilidades cognitivas, el trastorno derivado de un déficit cognitivo supone al paciente, y a todo su entorno familiar, una gran pérdida de independencia y de su calidad de vida.

La rehabilitación neuropsicológica y, dentro de ésta, la estimulación cognitiva, favorece la recuperación de las funciones alteradas aprovechando la naturaleza plástica del sistema nervioso, tratando así de reincorporar a los pacientes a sus AVD [3]. Los sistemas tradicionales se basan en sesiones presenciales de trabajo personal y sincrónico entre terapeuta y paciente lo que requiere una gran dedicación de recursos. Por ello, estos sistemas pueden limitar su expansión a la mayor parte de beneficiarios potenciales, dificulta la personalización de las intervenciones, así como la modulación de intensidad

y duración de los programas. Además, carecen de la validez ecológica que permite convertir un proceso rehabilitador en un tratamiento realmente efectivo para el día a día del paciente [4].

La incorporación al proceso de rehabilitación de las nuevas tecnologías durante los últimos años ha permitido evolucionar hacia nuevos sistemas que permitan realizar intervenciones clínicas adaptadas y monitorizadas sobre AVD. En esta línea, y centrados en incrementar el valor ecológico de los tratamientos [5], los Entornos Virtuales (EV) interactivos permiten simular situaciones reales situando al usuario dentro de un escenario enriquecido. Explotar las ventajas de los EV para el tratamiento neuropsicológico permite la exposición fuera de riesgo del paciente ante situaciones de la vida cotidiana y dentro de un entorno controlado, ya que permite graduar la dificultad de la situación en función de los estímulos, distractores y elementos de ayuda que se ofrezcan [6].

El Vídeo Interactivo (VI), entendido como cualquier aplicación de vídeo en la que la secuenciación y selección de la información mostrada (estímulos cognitivos) se determina por la respuesta del usuario, es una de las tecnologías que permite desarrollar estos EV con fines terapéuticos [7]. Parte de su potencial se basa en entornos resultantes con interacciones sencillas, intuitivas y de fácil asimilación gracias a la utilización de imagen reales, lo que permite ajustar la carga cognitiva al interés de la sesión de rehabilitación.

El elevado número de estímulos que constituyen los entornos así como las diversas interacciones que el paciente puede realizar sobre ellos presentan numerosas oportunidades de intervención terapéutica sobre AVD. No obstante, aprovechar esta ventaja requiere de herramientas con alto potencial de monitorización que permitan al neuropsicólogo conocer con detalle no sólo el resultado de la sesión clínica sino las circunstancias en las que ésta fue desarrollada.

Analizar la información referente al comportamiento visual de un paciente puede ayudar a conocer la eficacia de las tareas de rehabilitación debido a la estrecha relación entre el sistema visual humano y la capacidad cognitiva del paciente [8][9]. Los dispositivos de Eye-Tracking (ET) [10] permiten realizar la monitorización

del comportamiento visual, ofreciendo al terapeuta información precisa y objetiva acerca de las fijaciones visuales realizadas por el paciente. Gracias a esta información, es posible conocer el foco de la atención de un paciente y su estado cognitivo en cada instante de la sesión clínica.

El objetivo de este trabajo es el de evaluar un entorno de rehabilitación cognitiva basado en la integración de las tecnologías de VI y ET, analizar su madurez de cara a ser utilizado por pacientes con deterioro cognitivo. Concretamente se pretende evaluar: (a) el potencial de estas tecnologías para realizar intervenciones terapéuticas sobre actividades de vida diaria; (b) la capacidad del sistema para monitorizar las sesiones en entornos complejos; y (c) la respuesta y experiencia de los usuarios ante el sistema.

2. Materiales y Métodos

2.1. El Entorno Virtual

En trabajos previos [7][11] se desarrolló un entorno de rehabilitación cognitiva basado en la integración de las tecnologías de VI y ET. En este entorno se diseñó y desarrolló la AVD “ir a comprar el pan”. En ella, el paciente recorre de forma virtual una serie de escenas que representan los diferentes pasos a seguir para alcanzar el objetivo final, desde que se encuentra sentado en el sofá de la casa hasta que compra el pan en la panadería. La AVD se divide en tres tareas secuenciales, correspondientes a los tres escenarios por los que transcurre la AVD: la casa, la calle y la panadería (Figura 1).



Figura 1 AVD "Ir a comprar el pan"

Para avanzar en la AVD, el paciente tiene que interactuar con los estímulos de cada escena, siendo de esta forma el propio paciente quien establece el flujo de la acción de la actividad.

El diseño de la AVD ha sido realizado por el equipo de neuropsicólogos del Institut Guttmann, siguiendo un modelo de definición de intervenciones terapéuticas en AVD [12]. Como resultado se obtiene una actividad definida a partir de una estrategia de intervención que permite guiar “virtualmente” al paciente durante la ejecución de la misma. A través de estímulos el sujeto recibirá la ayuda necesaria en cada momento como respuesta a sus interacciones. A esta versión de la actividad la llamaremos “AVD Guiada”

Con este sistema de ayuda se busca la creación de un entorno “*errorless learning*” [13], capaz de orientar al

paciente en la realización de la actividad de manera que la persona aprenda hábitos extrapolables a su día a día y se evite un aprendizaje negativo que pueda repercutir en su neurorrehabilitación.

Una segunda versión “No Guiada” de la AVD “ir a comprar el pan” ha sido desarrollada, en la que se ha suprimido la estrategia de intervención. Objetivos y estímulos son los mismos que en la primera versión, con la salvedad de que el sujeto no recibirá ningún tipo de ayuda durante la ejecución de la actividad. Las instrucciones y objetivos a cumplir durante la AVD serán proporcionados mediante una pantalla inicial previa al comienzo de la actividad.

2.2. Sistema de Monitorización

El EV cuenta con un sistema de monitorización que integra tres fuentes de datos presentes en cada tarea. Así, el entorno de rehabilitación cuenta con tres módulos de monitorización que registran la actividad del paciente atendiendo a:

- La ejecución de la AVD que permite seguir la huella del paciente en el flujo de la actividad, conociendo los errores, aciertos o tiempos de ejecución y reacción.
- La interacción del paciente con el entorno, que en este caso es la actividad del ratón del ordenador, tanto clics como movimientos realizados durante la ejecución de la AVD.
- La atención visual que, mediante la tecnología ET, deja constancia de la forma en la que el usuario explora visualmente la interfaz. De este modo, se puede establecer una relación entre dónde se ha dirigido el foco de la atención del visual del paciente y su estado cognitivo. En concreto, el dispositivo de ET utilizado en el entorno de rehabilitación es el Tobii 1750 [11], cuya integración en el EV se describe en el trabajo [11].

El conjunto de los tres registros posee parámetros comunes que permiten relacionarlos entre sí. La combinación de los datos aporta conocimiento objetivo sobre cómo se realizó la actividad, incluso enriqueciendo la información percibida por un observador presente durante la ejecución de la misma.

2.3. Métricas de evaluación

Para una evaluación de los resultados obtenidos, se han establecido una serie de métricas. Las más representativas se exponen a continuación:

- Tiempo de ejecución: tiempo total empleado para la realización la AVD completa.
- Número de errores: interacciones con estímulos inadecuados o ausencia de interacción.
- Número de clics: clics de ratón realizados por el usuario a lo largo de la actividad.
- Coordenadas de interacción: posición en la pantalla de cada uno de los clics realizados.

- Coordenadas de las fijaciones: posición del foco de la atención visual del usuario en cada instante de la actividad.

Otro punto importante en el estudio es la evaluación de la usabilidad del sistema. Para ello se ha adaptado una encuesta basada en el método estandarizado System Usability Scale (SUS) [15]. Cada usuario responderá a dicha encuesta tras la finalización de la sesión con el EV.

2.4. Estudio Experimental

En el estudio han participado un total de 34 sujetos sanos, con edades comprendidas entre los 17 y 34 años, y que no habían tenido contacto previo con el entorno de rehabilitación. Cada participante realizó una de las dos versiones de la AVD, por lo que quedaron establecidos dos grupos: 17 sujetos ejecutaron la AVD Guiada, y otros 17 que realizaron la AVD No Guiada. En cuanto al sexo de los participantes, el primer grupo “Guiado” compuesto por 8 hombres y 9 mujeres, siendo 10 y 7 respectivamente el balance dentro del grupo “No Guiado”.

3. Resultados

La Figura 5 refleja los resultados obtenidos en el estudio para las métricas de tiempo total, número de errores y número de interacciones. En cada figura se representan los resultados para ambos grupos de sujetos: AVD Guiada (izquierda) y AVD No Guiada (derecha). El análisis de estos datos muestra un aumento en los tres parámetros del grupo No Guiado frente al grupo Guiado.

Para el estudio de la interacción, además del número de clics realizados, se analiza el lugar de la pantalla donde fueron realizados. Los mapas de interacción (Figura 2) representan, para cada tarea, el valor acumulado para cada grupo de este parámetro. Se observa una mayor dispersión para el grupo que realiza la AVD No Guiada.

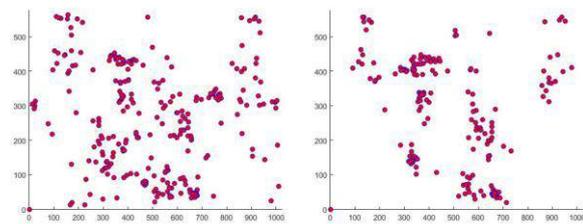


Figura 2. Mapas de interacción tarea 1 AVD Guiada (izquierda) AVD No Guiada (derecha)

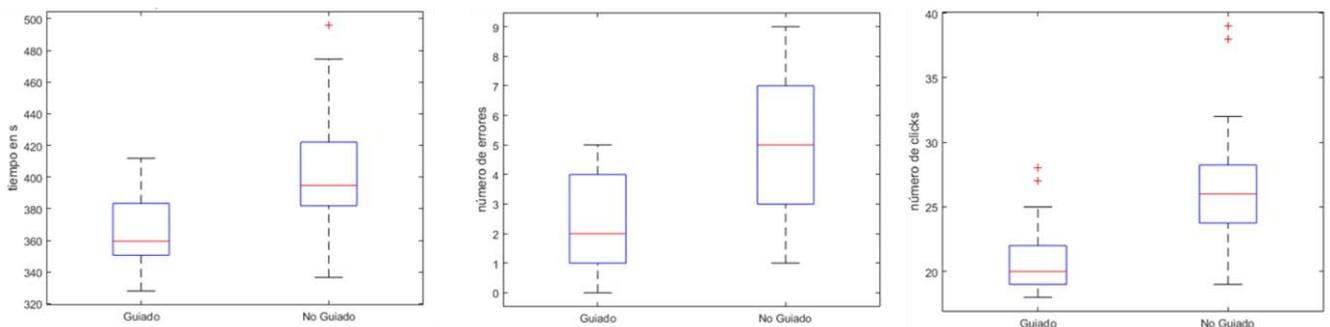


Figura 5 Representación de las métricas: tiempo total (izquierda), número de errores (centro), número de clics (derecha)

Los mapas de calor han sido utilizados para representar gráficamente los patrones de exploración visual de los sujetos. En la Figura 3 se muestra el acumulado de los datos de atención visual correspondientes a los sujetos de cada grupo para una escena de la primera Tarea de la AVD. En ellos se observa cómo ante una AVD Guiada aumenta la concentración de la atención visual del usuario en los estímulos clave para completar los objetivos.



Figura 3. Mapas de calor escena tarea 1 AVD Guiada (izquierda) AVD No guiada (derecha)

Finalmente la Figura 4 refleja los resultados relativos a la usabilidad del sistema. De las encuestas SUS analizadas se obtiene que el 79,4% superan el valor 68 (indicado con línea roja en el gráfico) en la escala SUS [15], predominando en el porcentaje restante los usuarios pertenecientes al grupo que ha realizado una AVD No Guiada.

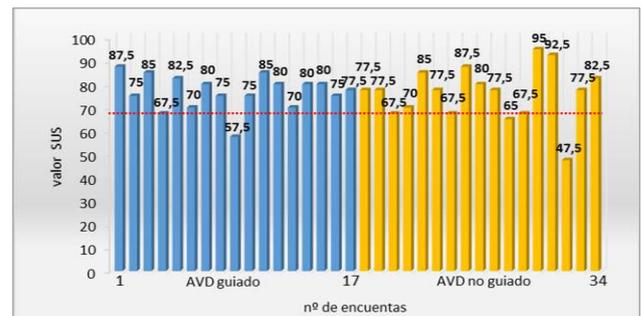


Figura 4. Resultados de la encuesta SUS

4. Discusión

El análisis de los resultados obtenidos en el estudio experimental permite confirmar que existen diferencias apreciables entre la ejecución de ambos grupos de sujetos. Se deduce que el comportamiento frente a la actividad es distinto entre los sujetos que han realizado la AVD Guiada y aquellos que han realizado la versión No Guiada.

Los resultados reflejados en los “*box plot*” (Figura 5) señalan que el aumento del número de errores está estrechamente ligado al número de clics y al tiempo empleado en la realización de la actividad. En cierto modo, esta relación se debe a la necesidad de corregir el error cometido con la interacción correcta, lo que incrementa el número de interacciones de ratón y el tiempo adicional en la ejecución.

Las diferencias encontradas entre los resultados de ambos grupos denotan una mejora de los tiempos de ejecución, reducción del número de errores y ratio de número de clics por acierto en aquel grupo que realizó la AVD Guiada. Algunos usuarios que realizaron esta versión han conseguido finalizar la actividad sin haber cometido ningún error, situación que no se da ante ninguno de los sujetos que se enfrentaron a una AVD No guiada.

En lo relativo a los mapas de interacción (Figura 2), patrones análogos se dibujan en ambos grupos debido a la necesidad de interactuar con los mismos estímulos para completar el objetivo de la actividad. Sin embargo, la AVD Guiada consigue focalizar las interacciones reduciendo la dispersión en la localización de los clics de ratón. Además, una AVD Guiada también reduce la dispersión en los patrones de fijaciones visuales (Figura 3), traducándose en una mayor concentración de la atención de los sujetos en los puntos de interés.

Como se puede observar en la Figura 4, un alto porcentaje de los participantes han otorgado al sistema una puntuación superior al valor 68. Este valor representa el umbral a partir del cual un sistema puede ser considerado como usable [15]. Por tanto, se puede afirmar que el entorno resulta fácil de usar, cualidad de gran importancia dado el usuario final al cual está dirigido.

5. Conclusiones

La integración de las nuevas tecnologías en el proceso de rehabilitación trata de generar terapias personalizadas, ubicuas, basadas en la evidencia y con alto valor ecológico. En este marco, se propone la evaluación de un EV basado en tecnologías de VI y ET como nueva herramienta de tratamiento que permita entrenar AVD.

El análisis de los datos obtenidos durante el estudio realizado demuestra, en primer lugar, la capacidad del entorno de rehabilitación para registrar los parámetros de monitorización que le den al neuropsicólogo la información necesaria sobre el comportamiento del paciente durante la actividad.

Como muestra de esta capacidad, durante el estudio realizado se ha detectado una diferencia en el patrón de comportamiento de los dos grupos de sujetos que denota la mayor eficacia del grupo Guiado frente al No Guiado. Por tanto, el EV permite a los neuropsicólogos realizar intervenciones sobre el comportamiento de los sujetos mediante los estímulos e interacciones planificadas en la AVD.

El potencial para realizar intervenciones terapéuticas sobre AVD, el alto nivel de monitorización sobre estas actividades, y la usabilidad demostrada, confirman que el

entorno de rehabilitación ha alcanzado la madurez buscada. Por tanto, podemos concluir que el sistema cumple los requisitos para ser utilizado por pacientes con DCA en proceso de rehabilitación cognitiva.

Agradecimientos

Este trabajo de investigación ha sido parcialmente financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad en el marco del Proyecto de investigación COGNITIO (TIN2012-38450).

Referencias

- [1] C.J. Murray, A.D. Lopez. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997a; 349: 1498-504.
- [2] World Health Organization. Burden of Disease Statistics; Available online: <http://www.who.org/> (último acceso agosto de 2015).
- [3] Bernabeu, M.; Roig T. Unidad de daño cerebral en el Institut Guttmann. Hospital de Neurorehabilitación. *Minusval*, 2, 76-81. 2002
- [4] Tormos JM et Al. REHABILITA: Tecnologías Disruptivas para la Rehabilitación del Futuro. *Actas CASEIB 2010: XXVIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*.
- [5] García-Molina, A.; Tirapu-Ustároz, J.; Roig, T. Validez ecológica en la exploración de las funciones ejecutivas. *Anales de psicología* 2007, vol 23, nº2, pp 289-299.
- [6] Gamito P. et al. A Review of the VR/AR Applications in the Neuroscience Domain. Andrew Yeh Ching Nee. *Augmented Reality-Some Emerging Application Areas*. 2011. pp 131 – 154. ISBN: 978-953-307-422-1
- [7] Martínez-Moreno JM, Sánchez-González P et Al. Entornos virtuales de vídeo interactivo para neurorehabilitación cognitiva. *Actas XXIX Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2011)*. 2011.
- [8] Suh M, Basu S, Kolster R, Sarkar R, McCandliss B, Ghajar J. Increased oculomotor deficits during target blanking as an indicator of mild traumatic brain injury. *Neuroscience Letters*, 410(3), 203-207. 2006.
- [9] Suh M, et al. Degree of brain connectivity predicts eye-tracking variability. *Journal of Korean Physical Society*, 53, 3468-3473. 2008.
- [10] Duchowski A. *Eye tracking methodology: theory and practice*. 2nd edition. Springer. 2007
- [11] Martínez-Moreno, JM. et Al. Integración de tecnologías eye-tracking con vídeos interactivos para neurorehabilitación cognitiva. *Actas XXX Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2012)*. 2012.
- [12] Martínez-Moreno, JM. et al. Modelling Ecological Cognitive Rehabilitation Therapies for Building Virtual Environments in Brain Injury. *Methods of Information in Medicine*. 2015. DOI: 10.3414/ME15-01-0050
- [13] Erica L. et al. Errorless Learning in Cognitive Rehabilitation: A Critical Review. *Neuropsychol Rehabil*. 2012 April; 22(2). pp 138–168.
- [14] Tobii, <http://www.tobii.com>. Último acceso, agosto 2015.
- [15] Sauro, J. Measuring Usability with the System Usability Scale (SUS) <http://www.measuringu.com/sus.php>

Serious game for psychomotor skills training in minimally invasive surgery: Kheiron Training System

L.F. Sánchez Peralta¹, J.B. Pagador¹, N. Skarmneas², G. Tsolkas², E. Fenyöházi³, W. Korb³, J. Sándor⁴, G. Wéber⁴, I. Oropesa^{5,6}, E. J. Gómez^{5,6}, G. A. Negoita⁷, C. Tiu⁷, F. M. Sánchez Margallo⁸

¹ Bioengineering and Health Technologies Unit, Jesús Usón Minimally Invasive Surgery Centre, Cáceres, Spain, {lfsanchez, jbpagador}@ccmijesususon.com

² AVACA Technologies S.A., Athens, Greece, nskarmneas@avaca.gr, tsolkasge@gmail.com

³ Innovative Surgical Training Technologies, Hochschule für Technik, Wirtschaft und Kultur Leipzig, Leipzig, Germany, {Fenyoehazi, Korb}@istt.htwk-leipzig.de

⁴ Department of Surgical Research and Techniques, Semmelweis University, Budapest, Hungary, sanjozs@hotmail.com, gyorgyweber@yahoo.com

⁵ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, Spain, {ioropesa, egomez}@gbt.tfo.upm.es

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

⁷ MEDIS Foundation, Campina, Romania, {alexandru.negoita, tiucalin}@yahoo.com

⁸ Scientific Direction, Jesús Usón Minimally Invasive Surgery Centre, Cáceres, Spain, msanchez@ccmijesususon.com

Abstract

Minimally Invasive Surgery (MIS) requires particular training of different psychomotor skills. To safely train these skills outside of the operating room, physical simulators, also called box trainers, are usually employed. The application of ICT-based technologies, such as serious gaming and e-learning, to MIS training could provide final users (medical students and surgeons) with a novel tool to acquire basic psychomotor skills. This work presents the Kheiron Training System (KTS), a serious game specifically designed and developed for psychomotor skills training in MIS. The KTS serious game uses a box-trainer and actual surgical instruments as input devices. Movements are detected using an image-based tracking that calculates the 3D position of the instruments within the box-trainer. This information streamed to the game controller. This together with the game engine controls the gameplay logic. In addition to the main game play, integration with a game server is also provided to allow for social elements. The KTS serious game is carried out in the desk of a young alchemist in his/her quest in finding the Philosopher's Stone. The player is required to complete a set of mini-quests included in the Recipe Book, which serves as guideline along the game.

1. Introduction

Minimally Invasive Surgery (MIS) has become a gold standard in many procedures thanks to its multiple benefits for patients and health systems [1] although it requires the acquisition of specific psychomotor skills due to the differences between open surgery and MIS [2]. The fast and continuous development of MIS requires new systems for initial and lifelong learning training.

Psychomotor training covers the acquisition of the motor skills required to perform a MIS procedure and they need to be acquired in a safe environment, outside the operating room [3]. Therefore, it is initially performed on surgical simulators (physical training boxes or “box-trainers”, virtual reality simulators, etc.) and then on an

animal models and cadavers (where available) before performing a procedure on a patient. Psychomotor training is usually acquired in a combined approach with cognitive training by assisting to in-person courses in specialized training centres [4].

Serious gaming is an innovative ICT approach with great success in different fields of education [5] and with an enormous potential to improve medical training by providing non-formal and informal learning or being part of formal training programmes [6]. Initial studies prove the correlation between performance in commercially available games and laparoscopic performance in box trainers; but serious games specifically designed for MIS training and their utility as learning tools have not been fully exploited yet [7]-[9].

Therefore, the objective of this work is to present a new serious game for MIS psychomotor training: Kheiron Training System (KTS). The player plays the role of a young searching for the Philosopher's Stone and is requested to complete a set of mini-tasks which mimic the movements required in MIS procedures.

2. Material and methods

2.1. Setup

In order to play the KTS serious game, the following elements are necessary (Figure 1):

- Physical box-trainer.
- Box and camera. The box is placed within the physical box-trainer and allows for a standard, white, empty recipient with fixed dimensions, peripheral illumination and a camera to track the instruments. The tracking camera is in a fixed position and is independent of the game camera.

Its main purpose is to provide the position of the instruments within the training box.

- Surgical instruments. They will act as input devices for the KTS serious game. They will be tagged with a colour mark that will allow for the image-based tracking.
- Computer. It will run the serious game as well as the image-based tracking of the surgical instruments.
- Monitor



Figure 1. Setup to play the KTS serious game

This setup mimics a typical setting for surgical training in a physical simulator, used in the early stages of surgical training.

2.2. Technical Requirements

End users were involved in the design process through the organization of different co-creation workshops where they joined representatives of the serious game development team in order to jointly work on the detection of user needs. Table 1 shows the categories into which the identified user needs were classified.

Classification of user needs	Number of identified needs
User friendly interface	8
Designed as a video game	21
Improving professional skills	18
Accessibility and availability	6
Evaluation	5
TOTAL	58

Table 1. User needs

Based on these user needs, a set of technical requirements were defined and classified as indicated in Table 2.

The relationship between the user needs and technical requirements are established through a quality function deployment matrix. Importance of user needs is rated as well as the degree of relation of each user need with each technical requirement. This allows for a final rating of the importance of the technical requirement, based on which the implementation of each requirement can be prioritized.

Classification of technical requirements	Number of identified technical requirements
Hardware requirements	4
Software requirements	4
Scoring and leader boards	3
Awards and achievements	2
Feedback provision	4
Difficulty levels	4
Unlockables/items/power-ups	4
Online and multiplayer	3
Help	2
TOTAL	30

Table 2. Technical requirements

Top rated technical requirements are:

1. The game will allow unlocking new items in exchange of XP points.
2. Users will be able to share their best runs at different levels by uploading their performance data to the server.
3. The game will require using common laparoscopic instrument movements.
4. The gaming platform will allow the use of actual laparoscopic instruments to control movements in the serious game.

2.3. System architecture

The system architecture is shown in Figure 2. The box controller tracks the movements of the surgical instruments within the box and communicates a stream of data to the game controller. This together with the game engine controls the gameplay logic.

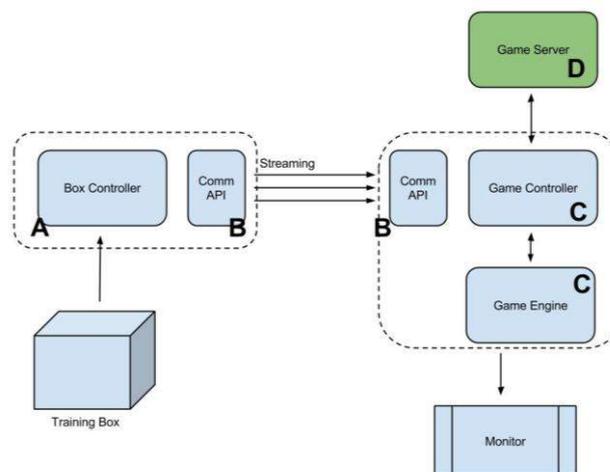


Figure 2. System architecture

Movements in the box (A) are detected via image recognition algorithms and they are translated to

coordinates which are streamed in real time mode to the game. The interface between the two systems is via USB port. Some open source libraries for allowing the interoperation of the two different platforms have been used, namely Apache Thrift and ZeroC. The messages streamed are passed to the game and they translated into movements of the game elements (i.e. the magic sticks of the alchemist). The game engine is written in Unity and all the rendering, collision detection, animations, etc. are implemented in this engine (C). The streaming is translated as moves of the game devices.

The game is designed to be controlled by real laparoscopic instruments, in order to enhance the realism of the environment. Instruments can be tracked by means of any sensing technology available, such as optical or magnetic sensors. The game implements a common API that receives the signal from the selected tracking system and updates the in-game position of the instruments accordingly. Currently, the EVA Tracking System is being used for tracking. The EVA incorporates and artificial vision-based algorithm that allows tracking the laparoscopic instruments' position. Since there is no need for external sensors, this reduces the overall cost of the game, making it more affordable for hospitals and residents.

In addition to the main game play, integration with a game server (D) is also provided to allow for social elements like profiles, leader boards etc.

2.4. Scoring

Different metrics are automatically calculated while the user plays each recipe of the serious game: time, path length (left and right instrument). Based on these metrics, an overall score is computed using the time the instruments are crossing each other, the time they are not and path length sum for both instruments. The overall score of the recipe will be larger for a better performance.

3. Results

3.1. Background story

The game follows the story of a young alchemist and his/her quest in finding the "Philosopher's Stone". To accomplish the main objective, the player has to complete a set of mini-quests. The Recipe Book, which serves as guideline along the game, includes the different recipes with the specific objectives.

The game takes place on a fully interactive alchemist's desk where various ingredients and objects exist at the disposal of the player. On each level the player has to accomplish a certain tasks accordingly to the instructions provided and, when specified, within a certain time limit. As the player evolves on the game, new recipes are unlocked.

3.2. Tasks

Some screen captures of the KTS serious game are shown in Figure 3. It is composed of 13 recipes that request movements similar to those included in a traditional training program in order to complete the recipe, for example triangulation tasks represented by lighting candles. After the fulfilment of each recipe, metrics and the score, in the form of knowledge points, are presented to the user in the corresponding page of the Recipe Book.

3.3. Gamification

In order to increase the user motivation, some gamification aspects from commercial videogames have been implemented in the KTS serious game:

- Knowledge points based on the player performance.
- Leaderboard accessible to all players to increase competitiveness.
- Achievements to be unlocked along the game progress and included in the Recipe Book, awarding the player with greater score.
- Time bonus. It appears during the execution of the recipe and challenges the player to catch it before it fades to improve the score as it reduces the time devoted to complete the task.
- Blocked tasks. When a recipe is successfully completed, new tasks might be unlocked (accordingly to the game logic).

4. Conclusions

Psychomotor skills are highly involved in any MIS procedure; therefore their acquisition is essential in any training program. Mostly in the early stages, box-trainers are widely use because they provide a safe environment where novices can make mistakes without consequences. On the other hand, serious games are arising with great success in different fields of education and they also have an unexploited potential to improve medical training [7]-[9]. To our knowledge, there is still no commercially available serious game which is specifically designed for MIS training and which only make use of actual training elements, such a box-trainer or actual surgical instruments.

Therefore, this work presents the development of the KTS serious game, which is specifically designed for psychomotor skills training in MIS. It is based on actual surgical simulators instead of commercially available video consoles and makes use of actual surgical instruments as input devices instead of mouse for PC or controllers for commercial video consoles. This way, the conventional training setup is mimic as much as possible, in terms of materials and requested movements, although the background story is radically unrelated.

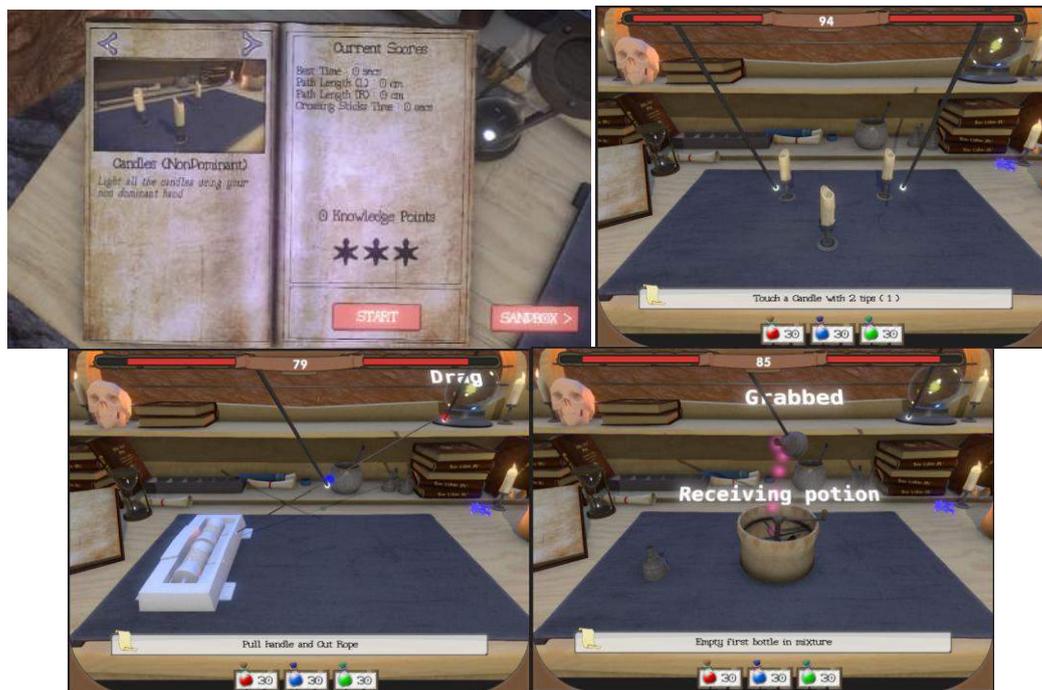


Figure 3. KTS serious game screen captures. a) Recipe book; b) Recipe 3: light candles with both hands at the same time; c) Recipe 5: pull the string and cut it in the marked area; d) Recipe 10: mixing potions.

With the development of a serious game with these characteristics combined with e-learning, medical students and surgeons will be provided with an ICT-enhanced training system that will cut across traditional in-site training systems including open and distance learning and open educational resources.

5. Future work

The next step is the validation of the KTS serious game. For this purpose, expert surgeons and end users (medical students and surgical residents) will be recruited. Expert surgeons will participate in the content and face validity of the serious game, while medical students and surgical residents will determine the usability and interest of the KTS serious game to train psychomotor skills in MIS. Final validation of the serious game will have to prove the acquisition of skills and its transfer to the operating room. Besides, the framework proposed by Graafland et al.[10] will also be taken into consideration.

Acknowledgments

This work has been done under the project “e-Learning serious game for surgical skills training: Kheiron Training System” with reference 543202-LLP-1-2013-1-ES-KA3-KA3MP. This project has been funded with support from the European Commission. This communication reflects the views only of the author, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.

References

- [1] Da Luz Moreira A et al. Laparoscopic versus open colectomy for patients with American Society of Anesthesiology (ASA) classifications 3 and 4: the minimally invasive approach is associated with significantly quicker recovery and reduced costs. *Surgical Endoscopy*, vol 24, 2010, pp 1280–6 (ISSN: 1432-2218).
- [2] Fowler DL. Enabling, implementing and validating training methods in laparoscopic surgery. *World Journal of Surgery*, vol 34, 2010, pp 621–4 (ISSN: 1432-2323).
- [3] Sinitsky DM et al. Establishing a curriculum for the acquisition of laparoscopic psychomotor skills in the virtual reality environment. *The American Journal of Surgery*, vol 204, 2012, pp 367-76 (ISSN: 0002-9610).
- [4] Usón J et al. Formación en cirugía laparoscópica paso a paso, 2013 (ISBN: 978-84-616-5363-8)
- [5] Connolly TM et al. A systematic literature review of empirical evidence on computer games and serious games. *Computers & Education*, vol 59, 2012, pp 661–86 (ISSN: 0360-1315).
- [6] Boeker M et al. Game-based e-learning is more effective than a conventional instructional method: a randomized controlled trial with third-year medical students. *PLoS ONE*, vol 8, 2013 e82328 (ISSN: 1932-6203).
- [7] Graafland M et al. A serious game can be a valid method to train clinical decision-making in surgery. *World Journal of Surgery*. 2014 Agosto 27. [Epub ahead of print] (ISSN: 1432-2323).
- [8] Graafland M et al. Systematic review of serious games for medical education and surgical skills training. *British Journal of Surgery*, vol 99, 2012, pp 1322-30 (ISSN: 1365-2168).
- [9] Verdaasdonk EG et al. Serious gaming and voluntary laparoscopic skills training: a multicenter study. *Minimally Invasive Therapies and Allied Technologies*, vol 18, 2009, pp 232-8 (ISSN: 1365-2931).
- [10] Graafland, M et al. Systematic review of validity of serious games for medical education and surgical skills training. *The British Journal of Surgery* vol 99, 2012, pp 1322-30 (ISSN:1365-2168)

Efectos de la estimulación cerebral profunda en *closed-loop*

I. Cordon^{1,3}, M.J. Nicolas^{1,3}, S. Arrieta^{1,3}, E. Lopetegui^{1,3}, M. Alegre^{2,3}, J. Artieda^{2,3}, M. Valencia^{1,3}

¹ Neurofisiología de Sistemas, CIMA, Universidad de Navarra, Pamplona España

² Clínica Universidad de Navarra, Universidad de Navarra, Pamplona, España

³ IdiSNA, Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra, Pamplona, España

icordon.1@alumni.unav.es

Resumen

La estimulación cerebral profunda (ECP) se ha erigido como uno de los tratamientos más utilizados para el control de los síntomas motores de la Enfermedad de Parkinson (EP).

La ECP consiste en la estimulación continua del cerebro a través de trenes de pulsos eléctricos generalmente a alta frecuencia. Esta terapia presenta una serie de inconvenientes como la imposibilidad de adaptarse al estado dinámico de la enfermedad o el gran consumo de batería. Una de las nuevas formas de estimulación que se han propuesto para solventar y mejorar la estimulación clásica es la estimulación *closed-loop*. Este paradigma soluciona algunos de los problemas mencionados anteriormente, permitiendo realizar una terapia de estimulación adaptativa y selectiva. Esta comunicación muestra el diseño, implementación y testeo del primer sistema de ECP en *closed-loop* probado sobre un modelo de Enfermedad de Parkinson en rata.

Los resultados de este trabajo revelan que la estimulación en *closed-loop* utilizando la fase de la actividad oscilatoria theta como trigger, lejos de mejorar a los animales, parece empeorarlos.

1. Introducción

Los dispositivos implantables para la estimulación eléctrica del cerebro se llevan utilizando en la rutina clínica desde 1997, cuando el primer sistema de estimulación cerebral profunda (ECP) fue aprobado para el tratamiento del temblor [1]. Estos dispositivos estimulan el cerebro de manera continua a través de trenes de pulsos fijados a una frecuencia de estimulación precisa (~130 Hz).

Desde que se comenzó a utilizar, la ECP ha presentado una serie de limitaciones que han supuesto un reto en el avance de las terapias de estimulación cerebral. Por un lado la ECP no es adaptativa (mientras que los síntomas de la Enfermedad de Parkinson (EP) varían a lo largo del día y la EP evoluciona en el tiempo) y por otro, la duración de la batería obliga a pasar por quirófano al paciente una vez agotada. Estos problemas, han alentado el desarrollo de nuevos paradigmas de estimulación en los que se busca producir una estimulación más inteligente que mejore o tenga efectos terapéuticos similares a la terapia actual y permita estimular al cerebro solo cuando lo necesite. El diseño de sistemas *close-loop* (bucle cerrado) para la ECP capaces de detectar y responder en tiempo real a señales fisiológicas representa posiblemente

la siguiente frontera a conquistar en el campo neuromodulación [2].

Hasta la fecha, existen solo dos trabajos que hay estudiado la aplicación de la estimulación en *closed-loop*. Rosin et al publicaron [3] el primer estudio de aplicación de un sistema *close-loop* de ECP para al EP (realizado en primates no humanos). Los resultados del estudio revelaron que una estimulación de pequeños trenes de pulsos (7 pulsos) aplicada en el GPi utilizando como trigger los PA de corteza, resultaba en una mejora superior a la producida por la estimulación clásica (ECP a alta frecuencia de manera continuada). Concretamente existió una mejora en la akinesia de los animales y en la reducción de la tasa de disparo neuronal del GPi característica de la EP. Recientemente, Little et al [4] reportaron los primeros resultados de un sistema de estimulación *close-loop* en pacientes con EP. Utilizando como marcador la amplitud de la banda beta, se discriminó si era necesario estimular el cerebro en cada momento. Los resultados indicaron una mejoría respecto al paradigma clásico en la escala UPDRS del paciente estudiado. Aunque preliminares estos resultados sugieren que esta terapia de estimulación adaptativa podría aplicarse alargando considerablemente vida útil de la batería y realizando una ECP más eficiente.

En este trabajo presentamos el diseño e implementación del primer sistema de estimulación *closed-loop* probado sobre un grupo experimental de roedores (ratas wistar).

2. Material y Métodos

Se diseñó un sistema de estimulación *closed-loop* para estimular en una fase concreta de la actividad oscilatoria (centrado en una banda de interés seleccionable durante el registro) (figura 1). Para poder estimular de manera adaptativa (utilizando un algoritmo basado en la actividad de potenciales de campo local, PCL), la señal registrada en la corteza del animal se pasa a través de un filtrado *online* que selecciona la banda de la actividad oscilatoria que se quiere utilizar como *trigger* (i.e., theta). Después de digitalizar la señal filtrada, se extrae la fase y se envía un pulso de activación al estimulador que libera un tren de pulsos de estimulación. Los criterios para activar el estimulador se establecieron en base a dos factores. Primero, para estimular el cerebro, la actividad media de la banda seleccionada como *trigger* debía superar un

umbral determinado. De esta forma solo se estimula cuando existe actividad genuina en la banda evitando activaciones espurias debidas a pequeñas fluctuaciones de la señal.

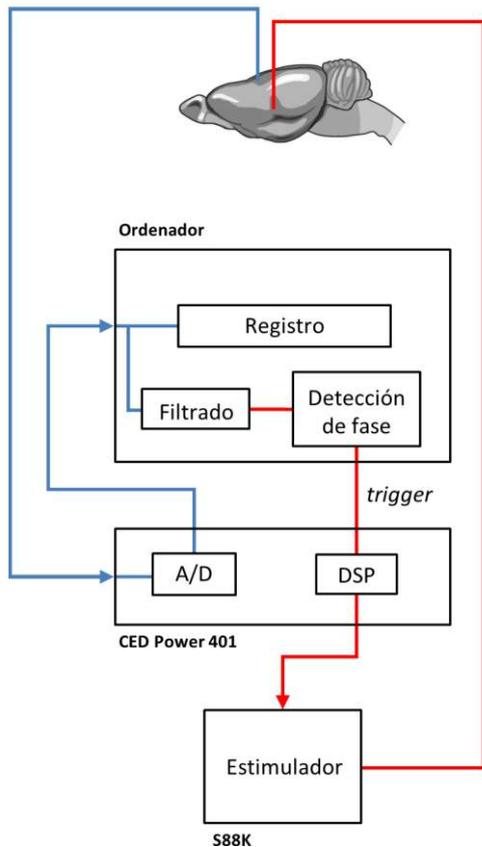


Figura 1 - Diseño experimental del sistema de estimulación closed-loop. A. Esquema del funcionamiento del sistema. La señal registrada en la corteza motora primaria izquierda pasa por el conversor A/D desde donde, una vez digitalizada, se envía al ordenador (línea azul). Por un lado esta actividad queda registrada y por otro se le aplica un filtrado online y se detecta la fase de la señal filtrada. Si se cumplen las condiciones de disparo, el trigger se ejecuta y activa el estimulador (a través del DSP) que libera un tren de pulsos al núcleo subtalámico (línea roja). Todo esto ocurre en tiempo real.

El valor seleccionado fue una desviación estándar sobre la actividad media del PCL. Segundo, además de superar el umbral, la actividad de la banda seleccionada debía encontrarse en un momento determinado de la fase (seleccionable durante el registro). De esta forma, se dividió la fase del PCL en 4 momentos: pico, descenso, valle y ascenso. La banda de actividad elegida para usar como *trigger* durante los experimentos fue la banda theta (4 – 8 Hz) dada su importancia neurofisiológica [6,7]. El funcionamiento del sistema se puede observar en la figura 2.

Para testear el sistema de estimulación *closed-loop* y su efecto sobre el comportamiento y la actividad oscilatoria de los animales se realizaron sesiones de estimulación en ratas wistar macho en las que se registró tanto el comportamiento a través del registro de video como la actividad oscilatoria de la corteza cerebral en diferentes bandas oscilatorias de estudio: delta (1-4Hz), theta (4-10 Hz), beta (12-30 Hz), low-gamma (LG, 40-60 Hz) y high-gamma (HG, 70-90 Hz). Para poder evaluar las diferencias con el paradigma de ECP clásico, también se

realizaron sesiones de estimulación con trenes de pulsos a 130 Hz. Se implantaron 14 ratas wistar con electrodos de estimulación en el núcleo subtalámico y de registro en la corteza motora.

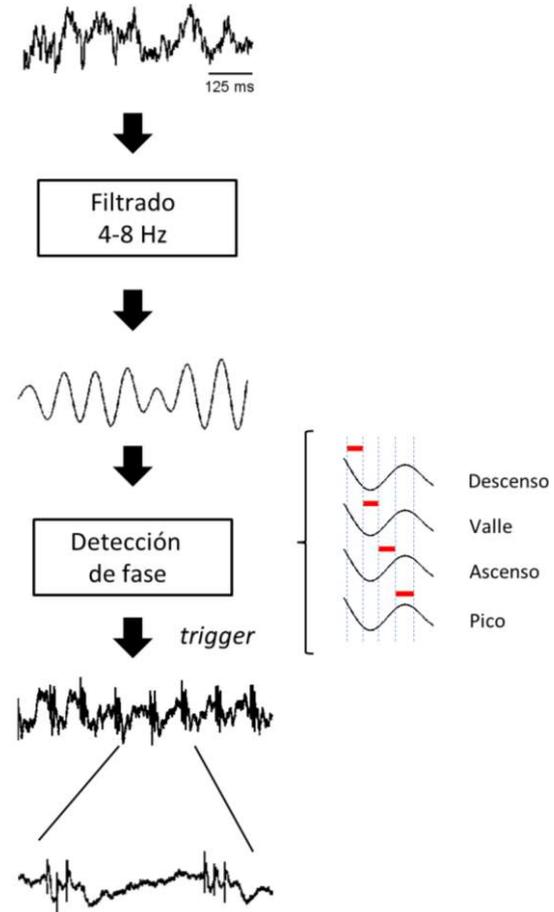


Figura 2 - Esquema en el que se observa cómo la señal varía a través de los diferentes pasos del sistema closed-loop. A señal sin procesar de la corteza registrada (parte superior) se le aplica el filtrado y queda centrada en la banda deseada (i.e. theta) para la detección de fase. La fase queda dividida en 4 momentos (descenso, valle, ascenso y pico). Si se cumplen las condiciones de disparo, el estimulador se activa. En la parte inferior se observa cómo queda la señal cuando se produce la estimulación.

El estudio estadístico de los cambios producidos en la actividad oscilatoria al practicar la ECP a los animales se llevó a cabo por medio de un ANOVA de medidas repetidas de 1 vía (factor tiempo). Se evaluaron las diferencias en el efecto de la estimulación entre tipos de estimulación a través de un ANOVA de medidas repetidas de 2 vías (tiempo x tipo de estimulación). En todos los casos, el test post-hoc utilizado fue el test t-Student aplicándole la corrección de Tukey.

3. Resultados

En la figura 3 se puede observar cómo la estimulación clásica (trenes de pulsos a 130 Hz, línea azul) no genera cambios en la energía de las bandas delta y theta. Sin embargo sí que se observan cambios claros en las energías de las bandas beta, LG y HG aunque estos se producen de manera diferente. La energía en beta disminuye al estimular a alta frecuencia mientras que en la banda gamma se produce un claro aumento.

Por otro lado, al estimular en *closed-loop* utilizando la fase de la actividad en corteza como *trigger*, los resultados que se producen son diferentes. Las bandas delta y theta siguen un patrón similar al obtenido al estimular de forma clásica no detectándose cambios al estimular en fase. Las bandas LG y HG ven su energía aumentada al estimular de igual forma que con la estimulación clásica. De forma contraria, la banda beta revela un incremento evidente de su energía con la estimulación *closed-loop*. La comparación de los valores de la energía de la banda beta para cada tipo de estimulación reveló diferencias muy significativas ($p < 0.001$).

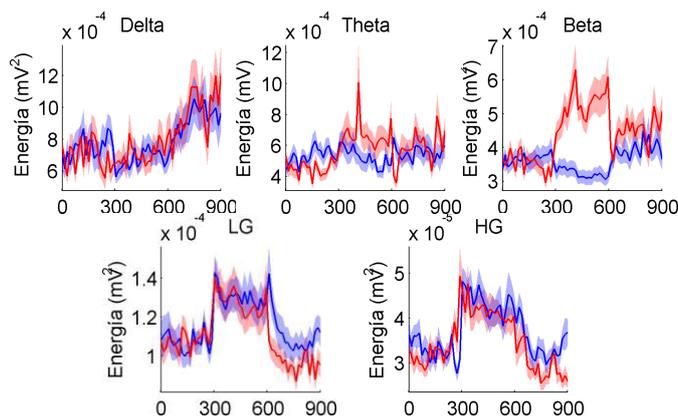


Figura 3 - Efecto de la ECP clásica (azul) y *closed-loop* (rojo) sobre la energía de las diferentes bandas de frecuencia de estudio: delta (1-4Hz), theta (4-10 Hz), beta (12-30 Hz), low-gamma (LG, 40-60 Hz) y high-gamma (HG, 70-90 Hz). La actividad corresponde a tres periodos diferentes de tiempo: pre-estimulación (0-300 s), estimulación (300-600 s) y post-estimulación (600-900 s).

Los resultados referentes al movimiento (figura 4), medidos a través de la cantidad total de movimiento revelan a su vez que la estimulación a alta frecuencia produce un incremento significativo del movimiento de los animales mostrando una clara predominancia hacia los giros contralaterales al hemisferio donde está colocado el electrodo de estimulación [8] ($p < 0.001$). A su vez, la estimulación en fase reduce de manera significativa el movimiento ($p < 0.05$) respecto a la condición de no estimulación.

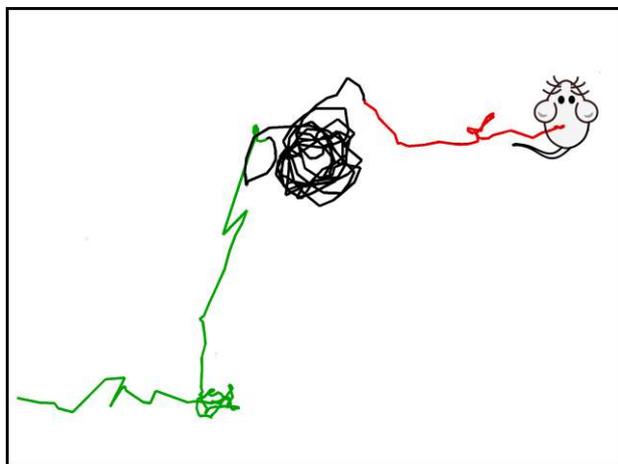


Figura 4 – Ilustración del movimiento de un animal representativo sin aplicar estimulación (verde), aplicando estimulación a alta frecuencia (negro) y aplicando estimulación *closed-loop* utilizando la fase de la corteza (rojo). La estimulación a alta frecuencia incrementa el

movimiento mientras que la estimulación en fase lo decreta respecto a la condición de no estimulación.

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio indican que la ECP *closed-loop* produjo un decremento del grado de movimiento de los animales junto con un incremento de la actividad en la banda beta. Estos resultados son contrapuestos a los obtenidos al realizar una estimulación clásica a alta frecuencia. Nuestros resultados sugieren que lejos de mejorar, la estimulación en *closed-loop* utilizando la fase de la actividad theta como *trigger*, empeora a los animales

El hecho de que no existan trabajos similares hace muy difícil en gran medida poder comparar los resultados con aquellos obtenidos en otros trabajos. Este trabajo inicia una nueva vía de investigación demostrando que la estimulación en *closed-loop* se puede realizar en roedores pese a la complejidad de su puesta en marcha. Por otro lado, los hallazgos referentes a las diferencias obtenidas al estimular en *closed-loop* y de forma clásica, refuerzan la teoría del papel fisiopatológico de la actividad beta en el EP tal y como ha sido descrito en registros de actividad oscilatoria en pacientes con EP [8] y ponen en relevancia la posible implicación de la corteza motora en la fisiopatología de la EP apoyan estudios recientes que sugieren que el efecto terapéutico de la ECP pueda ser debido en gran parte a la estimulación de la vía hiperdirecta que conecta el núcleo subtalámico con la corteza [10].

Una de las mayores limitaciones de este trabajo viene dada por el tipo de registro utilizado en forma de PCL. En el futuro, se contempla realizar registros de PCL combinados con registros de actividad de potenciales de acción (PA), que nos permitirán entender de una forma más profunda por un lado, como el aumento de la energía en beta es producido y por otro, de que forma la corteza motora podría estar implicada en el efecto de la ECP.

Referencias

- [1] Hebb, A.O., Zhang, J.J., Mahoor, M.H., Tsiokos, C., Matlack, C., Chizeck, H.J., Pouratian, N., 2014. Creating the Feedback Loop: Closed-Loop Neurostimulation. *Neurosurgery Clinics of North America, Advances in Neuromodulation*, 187–204. doi:10.1016/j.nec.2013.006.
- [2] Lozano, A.M., Lipsman, N., 2013. Probing and Regulating Dysfunctional Circuits Using Deep Brain Stimulation. *Neuron* 77, 406–424. doi:10.1016/j.neuron.2013.01.020
- [3] Colgin, L.L., Denninger, T., Fyhn, M., Hafting, T., Bonnevie, T., Jensen, O., Moser, M.-B., Moser, E.I., 2009. Frequency of gamma oscillations routes flow of information in the hippocampus. *Nature* 462, 353–357. doi:10.1038/nature08573
- [4] Little, S., Pogosyan, A., Neal, S., Zavala, B., Zrinzo, L., Hariz, M., Foltynie, T., Limousin, P., Ashkan, K., FitzGerald, J., Green, A.L., Aziz, T.Z., Brown, P., 2013. Adaptive deep brain stimulation in advanced Parkinson disease. *Ann Neurol*. 74, 449–457. doi:10.1002/ana.23951
- [5] Buzsáki, G., Draguhn, A., 2004. Neuronal Oscillations in Cortical Networks. *Science* 304, 1926–1929. doi:10.1126/science.1099745

- [6] Colgin, L.L., 2013. Mechanisms and Functions of Theta Rhythms. *Annual Review of Neuroscience* 36, 295–312. doi:10.1146/annurev-neuro-062012-170330
- [7] Gradinaru, V., Mogri, M., Thompson, K.R., Henderson, J.M., Deisseroth, K., 2009. Optical Deconstruction of Parkinsonian Neural Circuitry. *Science* 324, 354–359. doi:10.1126/science.1167093.
- [9] López-Azcárate, J., Tainta, M., Rodríguez-Oroz, M.C., Valencia, M., González, R., Guridi, J., Iriarte, J., Obeso, J.A., Artieda, J., Alegre, M., 2010. Coupling between Beta and High-Frequency Activity in the Human Subthalamic Nucleus May Be a Pathophysiological Mechanism in Parkinson's Disease. *The Journal of Neuroscience* JNEUROSCI.5459-09.2010
- [10] Li, Q., Ke, Y., Chan, D.C.W., Qian, Z.-M., Yung, K.K.L., Ko, H., Arbutnott, G.W., Yung, W.-H., 2012. Therapeutic Deep Brain Stimulation in Parkinsonian Rats Directly Influences Motor Cortex. *Neuron* 76, 1030–1041. doi:10.1016/j.neuron.2012.09.032

Herramienta de Aprendizaje sobre Pruebas de Respiración Espontánea en Pacientes Intoxicados con Compuestos Organofosforados

M. B. Salazar Sánchez¹, A. M. Hernández Valdivieso¹, M. A. Mañanas Villanueva², C. Cortés Daza³, Y. Agudelo Berruecos³

¹ Grupo de Investigación GIBIC, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia, Calle 67 N.º 53-108, Medellín, Colombia, bernarda.salazar@udea.edu.co, alher.hernandez@udea.edu.co.

² Centro de Investigación en Ingeniería Biomédica CREB, Universitat Politècnica de Catalunya, Barcelona, España, miguel.angel.mananas@upc.edu.

³ Hospital Universitario San Vicente Fundación, Medellín, Colombia, cesarcortesdaza@gmail.com, yabx@sanvicentefundacion.com

Resumen

Los compuestos Organofosforados (OP) son ampliamente utilizados como pesticidas y producen compromiso neuromuscular después de exposición aguda generando parálisis en los músculos de la caja torácica. Dada la falla respiratoria aguda en este tipo de pacientes, se requiere manejo mediante ventilación mecánica en una Unidad de Cuidados Intensivos. Según la Organización Mundial de la Salud, cerca del 20% de las intoxicaciones en el mundo son por pesticidas organofosforados [1]. El manejo clínico de esta población es difícil, debido al desconocimiento de la evolución en la intoxicación y a los largos períodos de ventilación mecánica que son requeridos. La falla en la determinación del momento ideal para la desconexión del paciente del ventilador, aumenta no solo el tiempo de asistencia sino también la probabilidad de muerte [2]. Por lo tanto, el desarrollo de herramientas que faciliten la difusión del conocimiento del efecto de la intoxicación sobre la mecánica ventilatoria, contribuirá de manera importante a la seguridad de los pacientes.

En este artículo se presenta una herramienta de aprendizaje del efecto de la intoxicación sobre la mecánica ventilatoria mediante la interacción con el manejo de diferentes casos clínicos de pacientes intoxicados que requirieron ventilación mecánica.

1. Introducción

Los compuestos organofosforados son pesticidas constituidos por ésteres químicos derivados del ácido fosfórico, que inhiben de forma irreversible las colinesterasas (acetilcolinesterasa y butirilcolinesterasa), impiden así la degradación de la acetilcolina en la brecha sináptica y producen una sobre estimulación colinérgica en la sinapsis. El manejo de la toxicidad grave es difícil, requiriendo el ingreso a cuidados intensivos y la utilización de atropina y de los reactivadores de la acetilcolinesterasa tipo Oximas [3]. Dichos pesticidas son utilizados en el mundo como insecticidas agrícolas y domésticos [4]. En países en vía de desarrollo, se consideran como uno de los tipos de agentes más involucrados en intoxicaciones voluntarias, ocupacionales y accidentales por su alta toxicidad, amplia disponibilidad y por las malas prácticas en su uso y almacenamiento [5].

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) las exposiciones tóxicas en el mundo (por año) se dividen en un millón de casos accidentales y dos millones debidos a contactos voluntarios, principalmente por intentos de suicidio, de los cuales doscientos mil individuos fallecen, la mayoría, en países en desarrollo [6]. La mortalidad secundaria a intoxicación por pesticidas organofosforados en el mundo es de alrededor del 20 %, pero puede ser tan alta como el 46 %, debido a la falta de investigaciones que respalden protocolos de tratamiento [1].

Después de una exposición aguda a estos compuestos, puede producirse síndrome intermedio (20 % de los pacientes intoxicados aproximadamente), lo cual es una alteración con alta morbimortalidad debida al compromiso de los músculos de la caja torácica, lo que conlleva detrimento de la actividad respiratoria que exige manejo mediante ventilación mecánica [7]. En los casos en los que el proceso de desconexión del ventilador (extubación) no es exitoso, además de incrementarse los tiempos de asistencia ventilatoria por la necesidad de reiniciar el proceso de ventilación mecánica, la morbilidad y mortalidad aumentan [2]. Por lo tanto, el proceso de ventilación en estos pacientes se reviste de una elevada complejidad debido al desconocimiento de la evolución de la intoxicación y a los largos y costosos períodos de ventilación mecánica.

En este artículo se presenta una herramienta de aprendizaje orientada a la difusión de conocimiento acerca del efecto de la intoxicación sobre la mecánica ventilatoria con un módulo interactivo de toma de decisiones que facilita el entrenamiento en el manejo del paciente intoxicado en una unidad de cuidados intensivos (UCI).

2. Metodología

La estructura de la aplicación tiene dos módulos, tal como se presenta en la Figura 1. El primero permite el *entrenamiento* del usuario a través de la exposición a distintos casos clínicos y el segundo módulo brinda la posibilidad de interacción a través de la toma de

decisiones durante una prueba de destete. La maniobra de destete es el proceso gradual de disminución del soporte ventilatorio (según las condiciones establecidas por del médico intensivista), hasta que el paciente pueda soportar su respiración espontánea normal y ser extubado.

La información alojada en esta herramienta se ha obtenido de un estudio retrospectivo de pacientes con diagnóstico de intoxicación por organofosforados admitidos en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Universitario San Vicente Fundación en Medellín, Colombia. Se obtuvo el consentimiento informado previa realización del estudio avalado por el Comité de Ética de la institución.

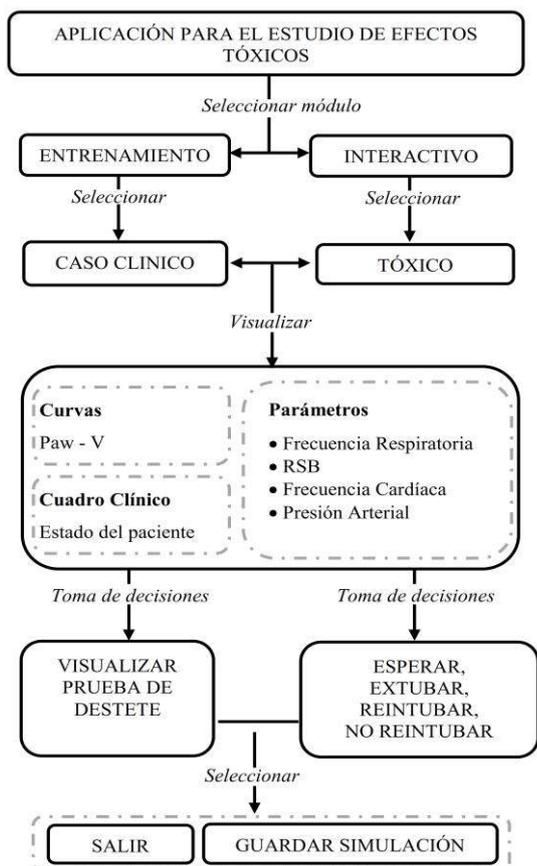


Figura 1. Diagrama de bloques de la Herramienta de Aprendizaje sobre Pruebas de Respiración Espontánea en Pacientes Intoxicados con OP. Paw: presión en la vía aérea, V: volumen circulante.

Una vez las pruebas clínicas indicaron la conveniencia de iniciar maniobra de destete ventilatorio, el personal médico realizó la prueba de respiración espontánea (WT, por sus siglas en inglés *weaning test*) para confirmar que las condiciones fueran óptimas para el retiro del soporte ventilatorio.

Las variables disponibles como fuente de información diaria en UCI en los dos módulos son: frecuencia cardíaca (FC), frecuencia respiratoria (FR), presión sistólica/diastólica (PAS/PAD), índice de respiración superficial rápida (RSB, por sus siglas en inglés *Rapid shallow breathing*), presión parcial de oxígeno (PaO₂) y de dióxido de carbono (PaCO₂), saturación de oxígeno (SaO₂), intervalo QT (QT), intervalo QT corregido (QTc)

o índice RASS (RASS, por sus siglas en inglés *Richmond Agitation-Sedation Scale*).

2.1. Módulo de Entrenamiento

En el módulo de entrenamiento se puede visualizar un grupo de casos clínicos reales de pacientes intoxicados durante las pruebas de respiración espontánea que les fueron realizadas. Alrededor del caso clínico se expone la condición clínica del paciente durante el día en que fue realizada la prueba, tal que el usuario pueda analizar la situación desde la sintomatología, pasando por la evolución, hasta la toma de decisiones del personal médico durante la prueba de destete. Tal como se presenta en la Figura 1 (Módulo de entrenamiento), una vez el usuario ha seleccionado el caso clínico que desea analizar, (ver Figura 2) podrá tener acceso a: (a) **Curvas de presión – volumen**, se distingue el tramo inspiratorio y espiratorio en la curva, a partir del cual se puede inferir información sobre la variabilidad de la compliancia y la resistencia del sistema respiratorio [8]. Además se muestra qué presión soporte (P_{supp}), presión positiva al final de la espiración (PEEP) y fracción inspirada de oxígeno (FiO₂) fueron configuradas en el ventilador durante la prueba de respiración espontánea seleccionada. (b) **Valor del Índice RSB**, el cual cuantifica la medida en que las respiraciones son superficiales y rápidas [9]. (c) **Variables de medición diaria en UCI**: FR, FC, SaO₂, FiO₂, PaO₂, PaCO₂, PAS, PAD. La tendencia en estas mediciones está disponible en el *panel de tendencias*, ello con el fin de tener un panorama sobre la evolución del paciente con el transcurso de los días en la UCI. (d) **Cuadro clínico**, en el cual se relaciona el estado clínico del paciente durante la prueba de respiración espontánea y las posibles causas de fallo de la prueba. Entiéndase fallo de la prueba de destete, cuando el médico determina que el paciente no está listo para ser extubado.

Todas las pruebas de destete a las que fue sometido el paciente están disponibles al cargar el caso clínico, así mismo se dispone de un *panel de notas*, para consignar toda la información que el usuario considere relevante durante el análisis del caso clínico. Las notas pueden ser guardadas cuando el usuario lo considere.

2.2. Módulo Interactivo

En el módulo interactivo se dispone de la selección entre dos niveles de intoxicación. Alrededor de la selección de la severidad de la intoxicación, se expone la condición clínica del paciente correspondiente al día en que fue realizada la primera prueba de respiración espontánea. El acceso a las demás pruebas de destete, a la extubación o reintubación del paciente depende de las decisiones del usuario (cada decisión debe ser justificada en la casilla dispuesta para tal fin):

- *Esperar*, sí la condición clínica que observa del paciente le permite inferir que no está listo para ser extubado, por lo cual debe decidir cuántas horas esperará hasta la realización de la siguiente prueba de destete.
- *Extubar*, sí considera que es pertinente extubar al paciente.

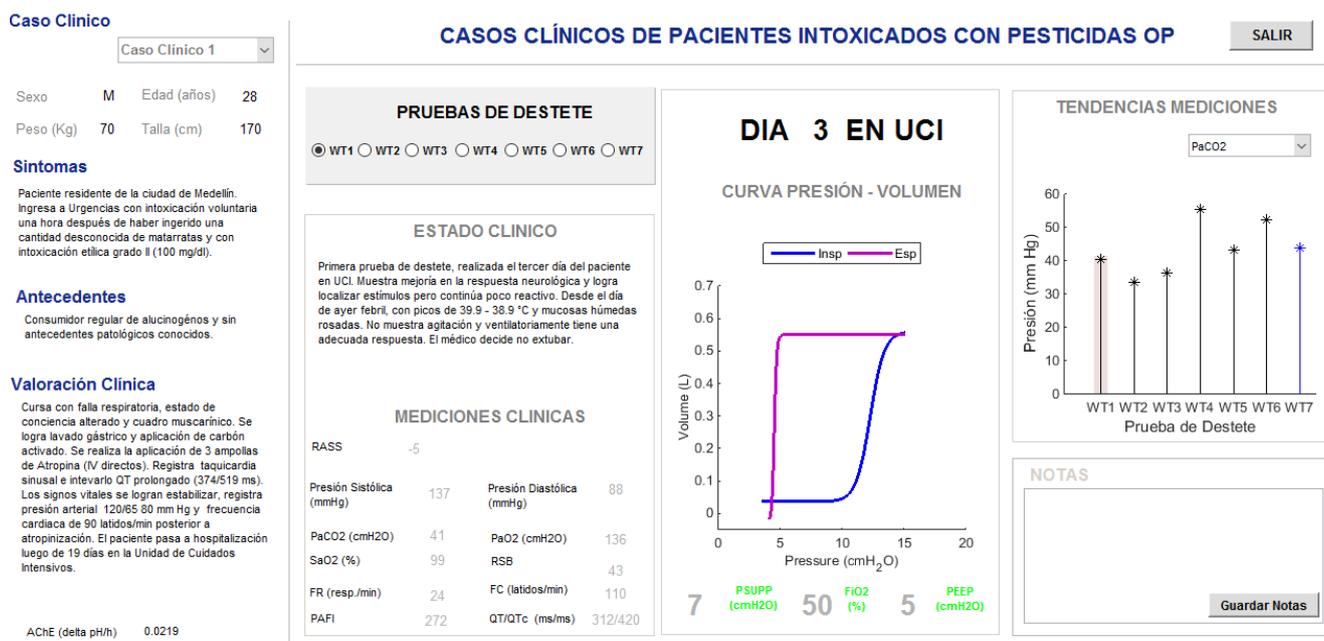


Figura 2. Módulo de Entrenamiento, cuenta con casos clínicos reales de pacientes intoxicados con compuestos organofosforados. En los paneles de la parte, izquierda: se relaciona el caso clínico seleccionado; centrales: se presenta la información clínica relacionada con la prueba de destete seleccionada; derecha: el estado de la mecánica ventilatoria y la tendencia de las variables. WT: prueba de destete.

- *Ver evolución clínica después de ser extubado*, panel que se habilita al extubar al paciente, el usuario decide si desea ver las siguientes horas de evolución del paciente antes de decidir si requiere o no reintubación.
- *Reintubar*, se reintuba al paciente y se decide cuántas horas se esperarán hasta la siguiente prueba de destete.
- *No Reintubar*, el paciente es dado de alta de la UCI.

A diferencia del módulo de entrenamiento en el módulo interactivo, la tendencia en las distintas mediciones se va construyendo de acuerdo a las decisiones tomadas por el usuario.

3. Resultados

3.1. Módulo de Entrenamiento

En la Figura 2 se presenta el módulo de entrenamiento de la herramienta cuando se ha seleccionado el **caso clínico 1**: paciente de sexo masculino que ingresó a urgencias con intoxicación voluntaria una hora después de haber ingerido una cantidad desconocida de un pesticida organofosforado y cursa con falla respiratoria. El paciente pasa a hospitalización luego de 19 días en la UCI y le fueron realizadas 7 pruebas de destete (WT1 a WT7).

3.2. Módulo Interactivo

Para presentar el panel interactivo, se ha seleccionado un nivel de severidad de intoxicación AGUDO y el paciente se encuentra en la tercera prueba de destete (WT3), como puede verse en la Figura 3, la condición clínica del paciente el sexto día de estancia en la UCI, muestra que moviliza volúmenes cercanos a 450 ml (curva presión -

volumen) y presenta un aumento de la presión arterial durante la prueba de destete. El resto de mediciones clínicas permanecen estables. El paciente fue extubado tras la segunda prueba de destete, sin embargo, requirió reintubación por inestable intercambio de gases, reflejado en la tendencia de la PaCO₂. En la gráfica de tendencias se puede ver la evolución de las diferentes variables desde WT1 hasta WT3.

Una vez se ha decidido finalizar la interacción, al presionar el botón <GENERAR REPORTE>, se guarda un informe con la experiencia del usuario en el módulo. Este reporte puede utilizarse para procesos de evaluación o simplemente para consulta futura. En dicho reporte además se cuenta con la información del caso clínico real equivalente para que pueda realizarse una comparación de las dos situaciones.

Conclusiones

Se ha presentado una herramienta que permite visualizar casos reales de pacientes intoxicados con compuestos organofosforados en una unidad de cuidados intensivos, con las variables que estarían disponibles en la práctica clínica habitual. Esta aplicación facilita la práctica de forma interactiva, toda vez que su interfaz gráfica permite conocer el resultado de cada decisión terapéutica y posteriormente analizar las diferencias y similitudes con la evolución clínica registrada en el caso clínico real. Además, se facilita el estudio de la mecánica ventilatoria del paciente intoxicado mediante el análisis de las curvas presión en la vía aérea - volumen circulante.

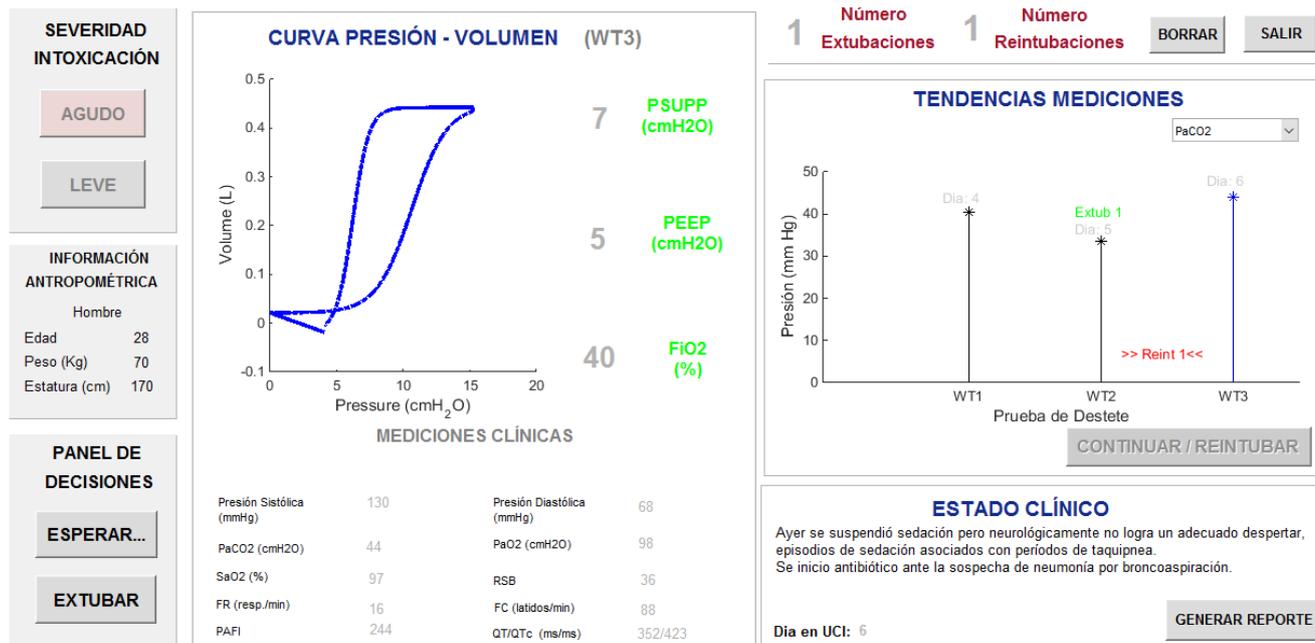


Figura 3. Módulo Interactivo, la extubación, reintubación o continuación de la intubación del paciente es dependiente de la toma de decisiones del usuario.

Esta herramienta, pone a disposición del usuario una experiencia en el tratamiento de pacientes intoxicados por compuestos organofosforados, situación que en otro caso, sería solo posible a partir de la práctica clínica en entornos caracterizados por elevada tensión y en los que se estudian múltiples y diversos casos clínicos simultáneamente.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Fondo Nacional de Regalías de la República de Colombia mediante el proyecto titulado "Fortalecimiento de plataforma tecnológica para la formación especializada en el área de la salud y el desarrollo de tecnología biomédica", código interno Ruta N 139C.

Referencias

- [1] M. J. Abedin, A. A. Sayeed, A. Basher, R. J. Maude, G. Hoque, and M. a Faiz, "Open-label randomized clinical trial of atropine bolus injection versus incremental boluses plus infusion for organophosphorus poisoning in Bangladesh," *J. Med. Toxicol.*, vol. 8, no. 2, pp. 108–17, Jun. 2012.
- [2] J.-M. J. Boles, J. Bion, A. Connors, M. Herridge, B. Marsh, C. Melot, R. Pearl, H. Silverman, M. Stanchina, A. Vieillard-Baron, and others, "Weaning from mechanical ventilation," *Eur. Respir. J.*, vol. 29, no. 5, pp. 1033–1056, 2007.
- [3] M. Eddleston, P. Eyer, F. Worek, F. Mohamed, L. Senarathna, L. von Meyer, E. Juszczak, A. Hittarage, S. Azhar, W. Dissanayake, M. H. R. Sheriff, L. Szinicz, A. H. Dawson, and N. A. Buckley, "Differences between organophosphorus insecticides in human self-poisoning: a prospective cohort study," *Lancet*, vol. 366, no. 9495, pp. 1452–9, 2005.
- [4] M. Sungur and M. Güven, "Intensive care management of organophosphate insecticide poisoning," *Crit. Care*, vol. 5, no. 4, pp. 211–215, 2001.
- [5] D. Pose, S. De Ben, N. Delfino, and M. Burger, "Intoxicación aguda por organofosforados. Factores de riesgo," *Rev. Med. Uruguay*, vol. 16, pp. 5–13, 2000.
- [6] J. Jeyaratnam, "Acute pesticide poisoning: a major global health problem," *World Heal. Stat Q*, vol. 43, no. 3, pp. 139–144, 1990.
- [7] I. C. Barguil-Díaz, N. L. Mosquera, J. Pinto, J. Aristizábal, I. C. Barguil Díaz, N. Lozano Mosquera, J. K. Pinto Maquilón, and J. J. Aristizábal Hernández, "Síndrome intermedio en intoxicación aguda por organofosforados: reporte de caso," *Med. UPB*, vol. 31, no. 1, pp. 53–58, 2012.
- [8] B. Cabello and J. Mancebo, "Work of breathing," *Intensive Care Med.*, vol. 32, no. 9, pp. 1311–1314, Sep. 2006.
- [9] E.-J. Kang, S.-J. Seok, K.-H. Lee, H.-W. Gil, J.-O. Yang, E.-Y. Lee, and S.-Y. Hong, "Factors for determining survival in acute organophosphate poisoning," *Korean J. Intern. Med.*, vol. 24, no. 4, pp. 362–7, Dec. 2009.

Diseño preliminar de una plataforma experimental basada en neuroestimulación para el análisis de la interacción cortico-muscular para rehabilitación de miembro inferior

E. Hortal¹, M. Rodríguez¹, J. Ibáñez², J.L. Pons², J.M. Azorín¹

¹ Brain-Machine Systems Lab, Universidad Miguel Hernández, Elche, España, {ehortal, jm.azorin}@umh.es

² Instituto Cajal, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, España, {jaime.ibanez, jose.pons}@csic.es

Resumen

El uso de novedosas tecnologías en el mundo de la rehabilitación como la realimentación aferente mediante estimulación eléctrica o asistencia mecánica así como los beneficios de la modificación de la actividad cerebral proporcionada por la estimulación transcraneal de corriente directa puede suponer un importante avance en los sistemas de rehabilitación en personas que han sufrido algún tipo de daño cerebral. En este trabajo se proponen dos experimentos en los que se parte de esta hipótesis para diseñar una plataforma experimental con neuroestimulación para rehabilitación de miembro inferior basado en la detección de la intención de inicio de marcha o pedaleo mediante un sistema BMI. Este sistema se basa en trabajos anteriores en los que un sistema de detección de inicio y fin de marcha ha sido comprobado en tiempo real, obteniendo una precisión cercana al 60% en la detección de inicio y fin de marcha, con un error medio de 1.84 FP/min (falsos positivo por minuto). Con esta plataforma experimental se pretende incrementar el proceso de plasticidad cerebral lo que supondrá una mejora de los mecanismos rehabilitadores, especialmente a nivel cerebral.

1. Motivación

Aunque el proceso de caminar es automático, basado en los reflejos que se rigen a nivel espinal, existen evidencias que sugieren que la corteza motora está especialmente activa durante fases específicas del ciclo de la marcha [1]. Estos hallazgos apoyan la idea de buscar una relación entre las señales electroencefalográficas (EEG) y diferentes parámetros del ciclo de la marcha. Particularmente, Petersen et al. encontraron una sincronía en el dominio de la frecuencia (coherencia) entre la corteza motora primaria (M1) y el músculo tibial anterior (TA) que indica una participación cortical en la marcha humana [2]. Además, se ha hallado una importante desincronización relacionada a eventos (ERD) mientras se realiza la marcha normal [3].

Dado que las condiciones neurológicas, como accidentes cerebrovasculares o lesiones de la médula espinal (LME), causan una interrupción de las vías sensoriales y motoras, éstas provocan una marcha patológica permanente. La restauración de la marcha normal después de una parálisis severa se presenta como de alta prioridad para médicos y pacientes [4], independientemente de la gravedad de la lesión o la edad en el momento de la misma.

La restauración de las funciones motoras ha sido una fascinante pero frustrante área de investigación en las últimas décadas. El objetivo final es conseguir interconectar el sistema nervioso humano con dispositivos

mecatrónicos y, a continuación, utilizar estos dispositivos para restaurar la función neurológica [5]. Los primeros dispositivos robóticos de rehabilitación fueron robots industriales adaptados al entorno de rehabilitación [6]. En este contexto, el concepto de robots vestibles fue propuesto por Pons [7]. Estos robots vestibles están diseñados expresamente para humanos y por tanto más adaptados a la interacción con ellos. Estos pueden ser usados para complementar la función de un miembro como, por ejemplo, los exoesqueletos. En el aspecto estructural, estos dispositivos son similares a los robots (enlaces rígidos, actuadores, sensores, electrónica de control, etc.).

Estudios preliminares en el campo de la asistencia robótica en pacientes con LME completa han demostrado un impacto positivo sobre el dolor, la espasticidad y la función intestinal y de la vejiga [8] [9].

Investigaciones recientes han comprobado que la precisa retroalimentación aferente (sensorial) proporcionada por la estimulación eléctrica de los nervios periféricos y los potenciales evocados por los mecanismos de planificación motora en M1 inducen la plasticidad cortical [10]. Estas investigaciones sugieren la posibilidad de proporcionar retroalimentación aferente para la mejora de la plasticidad cerebral. Un segundo estudio [11] sugiere que esta asociación también conduce a la plasticidad cortical cuando la realimentación aferente se proporciona por medios mecánicos (exoesqueletos) en lugar de mediante la estimulación eléctrica. Sin embargo, no se ha demostrado que estos cambios en la corteza cerebral se correlacionen necesariamente con mejoras en los resultados funcionales y clínicos.

Por otro lado, el funcionamiento del cerebro puede ser modificado mediante la aplicación de una corriente eléctrica débil usando electrodos de contacto colocados sobre el cuero cabelludo (transcraneal). La estimulación transcraneal de corriente directa (o tDCS de sus siglas en inglés) es la técnica de estimulación transcraneal más popular. En términos generales, la estimulación anódica (la corriente se inyecta en el cerebro) sobre una región cortical tiene efectos excitatorios, y la estimulación catódica (la corriente se recoge desde el cerebro) tiene efectos inhibitorios. tDCS produce efectos a corto plazo (aumento/disminución) en la excitabilidad neuronal, y efectos duraderos que implican la modificación sináptica [12]. Estos fenómenos sirven de base para la utilización clínica de esta tecnología.

En resumen, la asociación precisa de la actividad motora en MI y la retroalimentación aferente (tanto mecánicamente a través de un exoesqueleto como a través de la estimulación sensorial) tiene el potencial de mejorar significativamente la plasticidad cerebral, la cual se considera responsable de las mejoras funcionales. Esto, añadido al uso de paradigmas de sensibilización con tDCS anódica (aumentando la excitabilidad en una determinada región cortical) puede suponer una importante mejora en los mecanismos de rehabilitación actuales.

Para este estudio se va a diseñar una plataforma experimental basada en neuroestimulación para el análisis de la interacción cortico-muscular para rehabilitación de miembro inferior para pacientes con daño cerebral. Este sistema hace uso de un paradigma asíncrono en el que una interfaz cerebro-máquina (BMI) será la encargada de disparar la estimulación aferente en función de la actividad cerebral del paciente. Se realizará un primer estudio utilizando una bicicleta estática (los movimientos requeridos serán de inicio del pedaleo) y un segundo estudio en el que se utilizará el exoesqueleto para asistir en procesos de inicio de marcha.

2. Arquitectura del sistema

Para el diseño del sistema experimental, se hará uso de una BMI que sirva para el registro de la actividad cerebral a través de las señales EEG. Además, se aplicará la estimulación transcranial de corriente directa (tDCS) y una realimentación aferente con el fin de potenciar los beneficios en el proceso rehabilitador. Este sistema se aplicará en pruebas tanto en bicicleta estática como con el uso de un exoesqueleto de miembro inferior. Se puede ver un esquema del mismo en la Figura 1.

2.1. Brain-Machine Interface

El sistema BMI que se utilizará es el ENOBIO32 (Neuroelectronics, Massachusetts, EEUU). Este equipo inalámbrico dispone de 32 canales de entrada que se distribuirán en las siguientes posiciones según el Sistema Internacional 10/10: Fz, FC5, FC3, FC1, FCz, FC2, FC4, FC6, C5, C3, C1, Cz, C2, C4, C6, CP5, CP3, CP1, CPz, CP2, CP4, CP6, P3, P1, Pz, P2, P4, PO7, PO3, POz, PO4 y PO8. Estas posiciones se centran mayoritariamente en la zona motora y sus áreas contiguas.

Este dispositivo tiene un ancho de banda de muestreo de entre 0 y 250 Hz, incluyendo las bandas Delta, Theta, Alpha, Beta, Gamma y Gamma alta de las señales EEG. De este modo, se pueden registrar las bandas de frecuencia que contienen la información cerebral relativa a la actividad motora de los usuarios.

2.2. Estimulación transcranial de corriente directa

Este mismo sistema BMI (ENOBIO32) es compatible con el sistema Starstim (Neuroelectronics, Massachusetts, EEUU). Este dispositivo incluye ocho canales de neuroestimulación totalmente configurables en potencia, ancho de pulso y duración.

2.3. Estimulación eléctrica funcional

Además, con el fin de generar la realimentación aferente en las pruebas de inicio de pedaleo, se hará uso de un sistema de estimulación eléctrica funcional. El sistema de estimulación utilizado será el sistema INTFES (Tecnalia Systems, España). Este dispositivo permite una configuración tanto de la frecuencia de la señal utilizada como su amplitud y ancho de pulso.

2.4. Bicicleta estática

Para realizar de forma sencilla el entrenamiento inicial del sistema, se utilizará una bicicleta estática. En ella se realizarán ejercicios de inicio de pedaleo mientras se registra la actividad cerebral del usuario. El rozamiento mecánico o magnético de la bicicleta permitirá regular el esfuerzo realizado por el paciente en función de sus capacidades motoras.

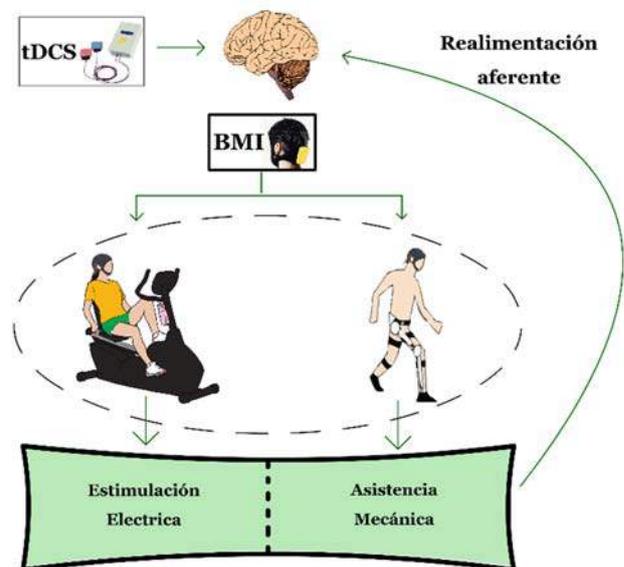


Figura 1. Arquitectura de la plataforma experimental basada en neuroestimulación para rehabilitación de miembro inferior

2.5. Exoesqueleto de miembro inferior

Tras las pruebas de inicio de pedaleo, un exoesqueleto permitirá realizar ejercicios de rehabilitación motora de miembro inferior. Este exoesqueleto apoyará a los usuarios durante ciclos de marcha completos y servirá como realimentación aferente mecánica.

El exoesqueleto escogido es el H2, diseñado por el grupo de bioingeniería del CSIC y distribuido por Technaid S.L. (Madrid, España). Se trata de un exoesqueleto de seis articulaciones que incluyen tobillo, rodilla y cadera de ambas piernas y que permite emular completamente la marcha humana. Este sistema está específicamente diseñado para tareas de rehabilitación [13] [14], permitiendo modificar el grado de asistencia de cada articulación por separado para adaptarse al nivel y áreas de la lesión de cada paciente y posibilitando el diseño de diferentes estrategias de movimiento permitiendo modificar longitud y velocidad de ciclo de marcha. Además proporciona medidas de torque y movimiento angular de cada articulación tanto por movimientos

predefinidos sobre el exoesqueleto como por movimientos forzados sobre las articulaciones por el usuario.

3. Procedimiento experimental

Durante este proyecto se van a diseñar dos pruebas distintas. En primer lugar, se diseñará un sistema para la detección de la intención de iniciar el movimiento de pedaleo, proporcionando una realimentación aferente haciendo uso de estimulación eléctrica funcional. Por otro lado, un segundo experimento se encargará de detectar la intención de inicio de la marcha humana y dichas detecciones serán utilizadas en el manejo de un exoesqueleto de miembro inferior.

El objetivo de ambos experimentos es analizar el efecto en la interacción cortico-muscular de una intervención con BMI y estimulación aferente mediante estimulación eléctrica o mecánica (a través del exoesqueleto). Se analizará también el efecto de sesiones de neuroestimulación a través de tDCS anodal previas a la intervención (a-tDCS), aumentando la excitabilidad en M1.

El procedimiento experimental se divide en siete fases distintas en las que tomarán parte dos grupos de ocho sujetos (grupo con estimulación tDCS previa a la intervención BMI y sin ella). Las fases son las siguientes:

1. Medidas previas a la intervención para evaluar MEPs (Motor Evoked Potentials), coherencia cortico-muscular, función motora y EEG.
2. Medidas de EEG, EMG y cinemática en el sujeto de estudio durante la realización de un conjunto de movimientos de entrenamiento (inicio de pedaleo e inicio de marcha) autoiniciados (sin marcas externas).
3. A los sujetos del grupo de intervención se les aplica una sesión de a-tDCS sobre M1 en el área contralateral al movimiento y con una duración de 10 minutos tras la cual comienza la intervención con BMI. A los sujetos del grupo control no se les realiza la sesión de condicionamiento con a-tDCS.
4. Medidas intermedias a la intervención con tDCS (POST1) para evaluar MEPs, coherencia cortico-muscular, función motora y EEG.
5. Comienza la intervención con el sistema BMI. El sujeto realiza movimientos autoiniciados y las detecciones de intención de movimiento por parte del sistema BMI desencadenan el estímulo (estimulación eléctrica o activación del exoesqueleto).
6. Medidas post-intervención con BMI (POST2) para evaluar MEPs, coherencia cortico-muscular, función motora y EEG.
7. Medidas 30 minutos después de la intervención con BMI (POST2) para evaluar MEPs, coherencia cortico-muscular, función motora y EEG.

4. Trabajos previos

Para la detección de las intenciones de movimiento se parte de trabajos anteriores en los que, a través de las señales EEG de tres usuarios, se detectaba la intención de iniciar y

finalizar la marcha de estos sujetos. Para ello se realizó un análisis de validación cruzada y una estimación pseudo-online del sistema. Posteriormente, el sistema se validó con pruebas en tiempo real, en las que participaron otros cuatro usuarios.

En estos trabajos se obtuvieron resultados prometedores, en los que, de media, se presentaba una precisión alrededor del 55% en pseudo-online, que se validó con un acierto cercano al 59% en las pruebas en tiempo real. Por otra parte, la cantidad de falsas detecciones también se comprobaron, obteniendo una media de 2.66 FP/min en el test pseudo-online y 1.84 FP/min en el caso de las pruebas en tiempo real. Estos trabajos serán el punto de partida para estos experimentos, generando los comandos de control para el estimulador eléctrico y el exoesqueleto de miembro inferior.

5. Discusión

Los trabajos realizados hasta la fecha muestran resultados prometedores, incluso en las pruebas realizadas en tiempo real. Otros trabajos muestran comportamientos similares, aunque en muchos casos algo superiores, como se puede ver en la Tabla 1. Todos estos trabajos (excepto [19] y [20]) se basan en la detección de intención de movimiento de miembro superior. El trabajo desarrollado en [19] muestra resultados en la detección de movimientos simples de tobillo. Finalmente, [20] muestra la detección del inicio de la marcha. Estos tipos de movimientos amplios (como es el proceso de la marcha humana) son más difíciles de clasificar y menos estudiados hasta el momento. Por otro lado, la mayoría de los trabajos publicados hasta la fecha muestran resultados calculados a posteriori y no desarrollan una clasificación en tiempo real. Además, estos trabajos sólo tienen en cuenta tanto la clasificación de la intención de iniciar un movimiento. Los resultados de nuestros trabajos previos mostrados en la Tabla 1 representan el resultado de clasificación tanto de inicio como de fin de la marcha.

Finalmente cabe destacar que este sistema presenta un importante inconveniente que se pretende eliminar, o al menos reducir, con este nuevo método, debido a la estimulación eléctrica transcraneal. Con los resultados obtenidos hasta el momento, se podría realizar un control de un exoesqueleto pero el elevado número de falsas detecciones podría suponer un impedimento a la hora de realizar una rehabilitación precisa.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por el Ministerio de Economía y Competitividad (Plan Estatal de I+D+I) y por la Unión Europea a través del Fondo Europeo de Desarrollo Regional - FEDER "Una manera de hacer Europa" (con referencia DPI201-58431-C4-2-R) como parte del proyecto Associate - Decodificación y estimulación de actividad cerebral sensorial y motora para permitir potenciación a largo plazo mediante estimulación Hebbiana y estimulación asociativa pareada durante la rehabilitación de la marcha.

Autores	Movimiento analizado	Acierto (%)	FP/min
E. Hortal et al (pseudo online)	Inicio-fin marcha	55.0	2.66
E. Hortal et al (online)	Inicio-fin marcha	59.0	1.84
O. Bai et al. [15]	Extensión muñeca	30.3	-
E. Lew et al. [16]	Miembro superior	76.0	-
J. Ibáñez et al. [17]	Miembro superior	74.5	1.32
J. Ibáñez et al. [18]	Miembro superior	66.9	0.42
R. Xu et al. [19]	Tobillo	79.0	2.1
N Jiang et al. [20]	Inicio marcha	76.9	2.93

Tabla 1. Comparativa de resultados con otros trabajos

Referencias

- [1] Castermans T, Duvinage M. Corticomuscular coherence revealed during treadmill walking: further evidence of supraspinal control in human locomotion. *Journal of Physiology*, vol 591, 2013, pp 1407-1408.
- [2] Petersen TH, Willerslev-Olsen M, Conway BA, Nielsen JB. The motor cortex drives the muscles during walking in human subjects. *Journal of Physiology*, vol 590, 2012, pp 2443-2452.
- [3] Severens M, Nienhuis B, Desain P, Duysens J. Feasibility of measuring event related desynchronization with electroencephalography during walking. *International Conference of the IEEE EMBS*, San Diego, USA, 2012, pp 2764-2767.
- [4] Ditunno PL, Patrick M, Stineman M, Ditunno JF. Who wants to walk? Preferences for recovery after SCI: a longitudinal and cross-sectional study, *Spinal Cord* 46, 2008, pp 500-506.
- [5] Chapin JK, Moxon KA, Neural prostheses for restoration of sensory and motor function, CRC Press, 2000.
- [6] Dallaway JL, Jackson RD, Timmers PHA. Rehabilitation robotics in Europe, *IEEE Transactions on Rehabilitation Engineering*, vol 3, 1995, pp 35-45.
- [7] Pons JL. Wearable Robots. Biomechatronic exoskeletons, John Wiley & Sons Ltd., 2008.
- [8] Zeilig G, Weingarden H, Zwecker M, Dudkiewicz I, Bloch A, Esquenazi A. Safety and tolerance of the ReWalk™ exoskeleton suit for ambulation by people with complete spinal cord injury: a pilot study, *Journal of Spinal Cord Medicine*, vol 35, sup 2, 2012, pp 96-101.
- [9] Esquenazi A, Talaty M, Packel A, Saulino M. The ReWalk Powered Exoskeleton to Restore Ambulatory Function to Individuals with Thoracic-Level Motor-Complete Spinal Cord Injury, *American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*, vol 91, sup 11, 2012, pp 911-21.
- [10] Belda-Lois JM, Mena-del Horno S, Bermejo-Bosch I, Moreno JC, Pons JL, Farina D, Iosa M, Molinari M, Tamburella F, Ramos A, Caria A, Solis-Escalante T, Brunner C. Rehabilitation of gait after stroke: a review towards a top-down approach, *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation*, 2011, vol 8, sup 66.
- [11] Xu R, Jiang N, Mrachacz-Kersting N, Lin C, Asín G, Moreno JC, Pons JL, Dremstrup K, Farina D, A Brain-computer Interface driven motorized ankle-foot orthosis induces cortical neural plasticity with minimal intervention, *Journal of Neural Engineering*, vol 61, sup 7, 2014 pp. 2092-2101.
- [12] Krause B, Márquez-Ruiz J, Kadosh RC. The effect of transcranial direct current stimulation: a role for cortical excitation/inhibition balance?. *Frontiers in Human Neuroscience*, vol 7, 2013.
- [13] Asín Prieto G, Urendes E, Gallego JA, Moreno JC, Pons JL. Monitoring stability of gait on exoskeletons based on proprioceptive information. *International Workshop on Wearable Robotics (WeRob 2014)*. Baiona, 2014, pp 14-18.
- [14] Moreno JC, Asin G, Pons JL, Cuypers H, Lefeber D, Ceseracciu E, Reggiani M, Thorsteinsson F, del-Ama A, Shimoda S, Iañez E, Azorin JM, Roa, J. Symbiotic Wearable Robotic Exoskeletons: The Concept of the BioMot Project?. *Symbiotic 2014*, Helsinki, pp 72-83.
- [15] Bai O, Rathi V, Lin P, Huang D, Battapady H, Fei DY, Schneider L, Houdayer E, Chen X, Hallett M. Prediction of human voluntary movement before it occurs. *Clinical neurophysiology*, vol 122(2), 2011, pp 364-372.
- [16] Lew E, Chavarriaga R, Zhang H, Seeck M, Millán JR. Self-paced Movement Intention Detection from Human Brain Signals: Invasive and Non-invasive EEG, *Annual International conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 2012, pp 3280-3283.
- [17] Ibáñez J, Serrano, JI, del Castillo MD, Monge E, Molina F, Rivas F, Alguacil I, Miangolarra-Page J, Pons JL. Detection of the Onset of Voluntary Movements Based on the Combination of ERD and BP Cortical Patterns. *Replace, Repair, Restore, Relieve – Bridging Clinical and Engineering Solutions in Neurorehabilitation*, vol 7, 2014, pp 437-446.
- [18] Ibáñez J, Serrano JI, del Castillo MD, Monge E, Molina F, Rivas FM, Alguacil I, Miangolarra JC, Pons JL. Upper-limb muscular electrical stimulation driven by EEG-based detections of the intentions to move: A proposed intervention for patients with stroke. *Annual International conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 2014, pp 1646-1649.
- [19] Xu R, Jiang N, Lin C, Mrachacz-Kersting N, Dremstrup K, Farina D. Enhanced Low-Latency Detection of Motor Intention From EEG for Closed-Loop Brain-Computer Interface Applications. *Transactions on Biomedical Engineering*, vol 61(2), 2014, pp 288-296.
- [20] Jiang N, Gizzi L, Mrachacz-Kersting N, Dremstrup K, Farina D. A brain-computer interface for single-trial detection of gait initiation from movement related cortical potentials (ICA). *Clinical neurophysiology*, vol 126(1), 2015, 154-159.

CareCloud: Servicio de formación y gestión de cuidadores informales de personas en situación de dependencia por una discapacidad de origen neurológico

P.A. Moreno^{1,2}, P. Chausa^{1,2}, A. García-Rudolph³, R. López-Blázquez³, J. Ceballos⁴, J.M. Saperas⁴, A. Collet⁵, P. Sánchez-González^{1,2}, J.M. Tormos³, E.J. Gómez^{1,2}

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

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

³ Departamento de Investigación, Institut Guttmann, Badalona, España, {agarciar, rlopez, jmtormos@guttmann.com}

⁴ Grupo ICA, Barcelona, España {jordi.ceballos, josepmanel.saperas@grupoica.com}

⁵ Meditecnología, Barcelona, España {Albert.collet@comb.cat}

Resumen

El aumento de las personas con discapacidad está demandando la aparición de nuevos modelos de cuidado en los que el cuidador informal desarrolle un papel fundamental como fuente de provisión de cuidados. La falta de preparación del cuidador junto con los frecuentes episodios de estrés y depresión que sufren ante la elevada carga psicológica y laboral, tienen un impacto muy negativo tanto en la condición del cuidador como en las tareas de cuidado. Con el objetivo de mejorar los cuidados provistos y la calidad de vida de los cuidadores informales surge la plataforma CareCloud. En este trabajo se presentan los servicios de formación y gestión de cuidadores de la plataforma. El servicio de formación ofrece la posibilidad de crear videos formativos con elementos adicionales que mejoran la capacidad didáctica y el acceso a un entorno de formación que facilita la comunicación entre distintos cuidadores. Por otra parte, el servicio de gestión posibilita la coordinación de las tareas que realizan los distintos cuidadores y la gestión de la información del paciente.

1. Introducción

Actualmente, el aumento de las personas con discapacidad está provocando la necesidad de un cuidado personalizado para mantener su calidad de vida demandándose nuevos modelos de cuidado. En estos modelos, el cuidador informal juega un papel fundamental como una de las principales fuentes de provisión de cuidado de la persona con discapacidad [1]. Según el estudio presentado por la Secretaría de Estado de Servicios Sociales, Familias y Discapacidad elaborado por el IMSERSO sobre la situación de los mayores en España, en la actualidad, un 15% de los hogares españoles cuida a personas dependientes [2].

El rol del cuidador informal está frecuentemente soportado por un familiar, quien a menudo sufre episodios de estrés y depresión a la vez que su vida social, laboral y económica se ve negativamente afectada [3]. El cuidador supervisa las actividades de la vida diaria del paciente y le asiste en el proceso de cuidado. Además, en muchas ocasiones el cuidador informal no suele estar

adecuadamente preparado para estas situaciones creándole una gran sensación de inseguridad. Dada la alta carga psicológica y laboral de estos cuidadores, es necesario proporcionarles el soporte adecuado para ayudarles en las tareas de cuidado y reducir su sobrecarga [4]. Así, los cuidadores informales tienen un amplio rango de necesidades sociales y de cuidado: soporte psicológico; formación y educación; información y recomendaciones de cuidado, promoción de la interacción social; actividades de ocio; y reconciliación entre las tareas de cuidado y del trabajo [5].

El empleo de las tecnologías de la información y las comunicaciones (TIC) pueden proporcionar nuevos medios y soluciones para que los cuidadores cubran sus demandas de atención y soporte [6]. Entre las soluciones para los cuidadores informales basadas en las TIC destacan: a) tecnologías que permite a la persona dependiente permanecer en su domicilio sin un soporte continuo de cuidado liberando así al cuidador; b) acceso remoto a información y formación sobre temas de cuidado; c) integración social así como redes sociales para ofrecer soporte social y emocional; y d) herramientas para coordinar las tareas de cuidado [7]. Estas soluciones TIC permiten a los cuidadores aumentar su bienestar y autoestima, establecer relaciones con otros cuidadores, desarrollar habilidades para la resolución de problemas de cuidado, y mejorar la calidad de vida de las personas dependientes que atienden.

La plataforma CareCloud surge para dar soporte a cuidadores informales de personas con una discapacidad de origen neurológico que requieren ayuda de terceros para el desarrollo de las actividades de vida diaria y autocuidado [8]. En el presente trabajo se muestran el desarrollo relativo a los servicios de e-learning de la plataforma con los que proveer al cuidador informal con los contenidos didácticos más adecuados para la mejor prestación, gestión y planificación de los cuidados. Además, se muestran los servicios de coordinación entre

distintos cuidadores mediante calendarios de eventos de actividades de cuidado personalizado.

2. Especificación de la plataforma CareCloud

Los servicios de la plataforma Carecloud permitirán el desarrollo y distribución de contenidos para la compartición de conocimiento orientado a mejorar la calidad de los cuidados que reciben las personas en situación de dependencia. Además, la plataforma ofrece herramientas para la gestión y planificación de los cuidados, así como la compartición de experiencias en un entorno colaborativo de cuidadores. La Tabla 1 enumera los servicios provistos según estén orientados a la creación y provisión de contenidos formativos o a la gestión inteligente de cuidado.

Creación y provisión de contenidos formativos	Generación de contenidos multimedia-eLearning Acceso a contenidos de formación específicos Provisión de un programa de formación estructurado y personalizado al cuidador Red social de formación y aprendizaje
Gestión y Planificación de cuidado	Recomendación de pautas de cuidado por los profesionales Agenda compartida de cuidado Gestión del perfil de usuario para la provisión personalizada de los servicios y contenidos

Tabla 1 - Servicios de la plataforma CareCloud

La solución propuesta por el proyecto CareCloud consiste en una plataforma online que centraliza la gestión de los casos facilitando la colaboración de las personas que intervienen en los procesos de cuidado. Como núcleo principal de la plataforma CareCloud se ha optado por adoptar una plataforma open-source elearning, conocida como eFront [9], que permite añadir diversos módulos que implementen las funcionalidades especificadas anteriormente. En la Figura 1 se muestran los bloques funcionales añadidos a la herramienta eFront para construir la plataforma CareCloud. En la parte izquierda aparecen aquellos componentes destinados a aportar las funcionalidades de la gestión de cuidados, mientras que en la parte de la derecha se muestra las partes relativas a la parte de e-learning y formación.

La parte de gestión de cuidados implementa un conjunto de agendas, basadas en Google Calendar, que están dirigidas a coordinar la asistencia ofrecida por los cuidadores informales. Por otra parte, en cuanto a la funcionalidad de e-learning se hace uso de la herramienta de autoría AMELIE [10] que permite la obtención de vídeos enriquecidos con información adicional a la mostrada en la imagen. Esta herramienta de autoría así como el reproductor especializado de vídeos enriquecidos se integran en la herramienta e-Front. Es necesario que todos los vídeos generados sean almacenados en un repositorio de tal manera que se pueda acceder a ellos a través del entorno de eFront.

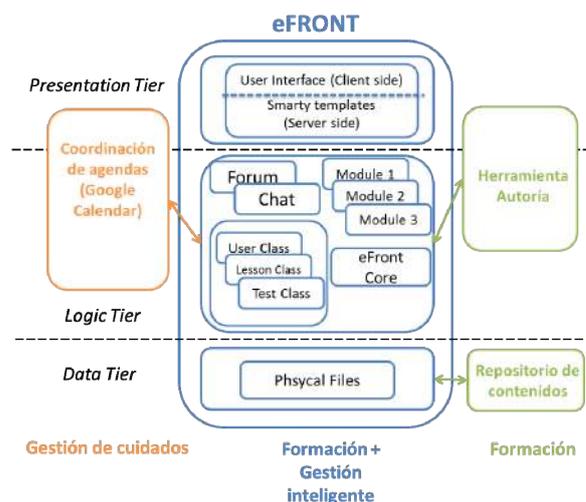


Figura 1- Arquitectura funcional de CareCloud

3. Servicio de formación para cuidadores informales

El servicio de formación personalizada ofrece al cuidador varias funcionalidades tal y como muestra la Tabla 1. Estas funcionalidades están soportadas por componentes que se describen a continuación.

3.1. Herramienta de autoría

La herramienta de autoría (Figura 2a) [10] permite a los profesionales sanitarios crear contenidos multimedia didácticos sobre cuidado de personas dependientes a partir de la edición y procesamiento de vídeos. Estos vídeos se denominan vídeos enriquecidos, y permite añadir valor didáctico a los vídeos incluyendo nuevos elementos descriptivos del contenido didáctico (imágenes, documentación textual, etc.) que complementen la información presente en los vídeos. Concretamente, la herramienta permite añadir a un vídeo original elementos de texto y audio que se pueden configurar para que aparezcan en un determinado intervalo. Por otro lado permite la creación de clips de vídeo para resaltar ciertas partes del vídeo que tengan significación didáctica en el proceso asistencial que muestran. Otra de las características que ofrece la herramienta, es el seguimiento automático de estructuras que permite resaltar de manera dinámica ciertos elementos del vídeo. Una vez se ha creado el vídeo enriquecido, la herramienta permite almacenarlo en un repositorio online para su posterior reproducción.

3.2. Reproductor online de vídeos enriquecidos

Una vez que el vídeo enriquecido ha sido creado o editado mediante el uso de la herramienta de autoría, debe ser reproducido en un sistema específico que permita interpretar la información añadida al vídeo base y mostrarla tal y como el autor la ha concebido. Este reproductor (Figura 2b) permite a los usuarios de la plataforma CareCloud ver aquellos vídeos desplegados en la plataforma a través de un navegador web. El reproductor permite manejar la información añadida al vídeo: texto, audio, segmentación de estructuras, etc.

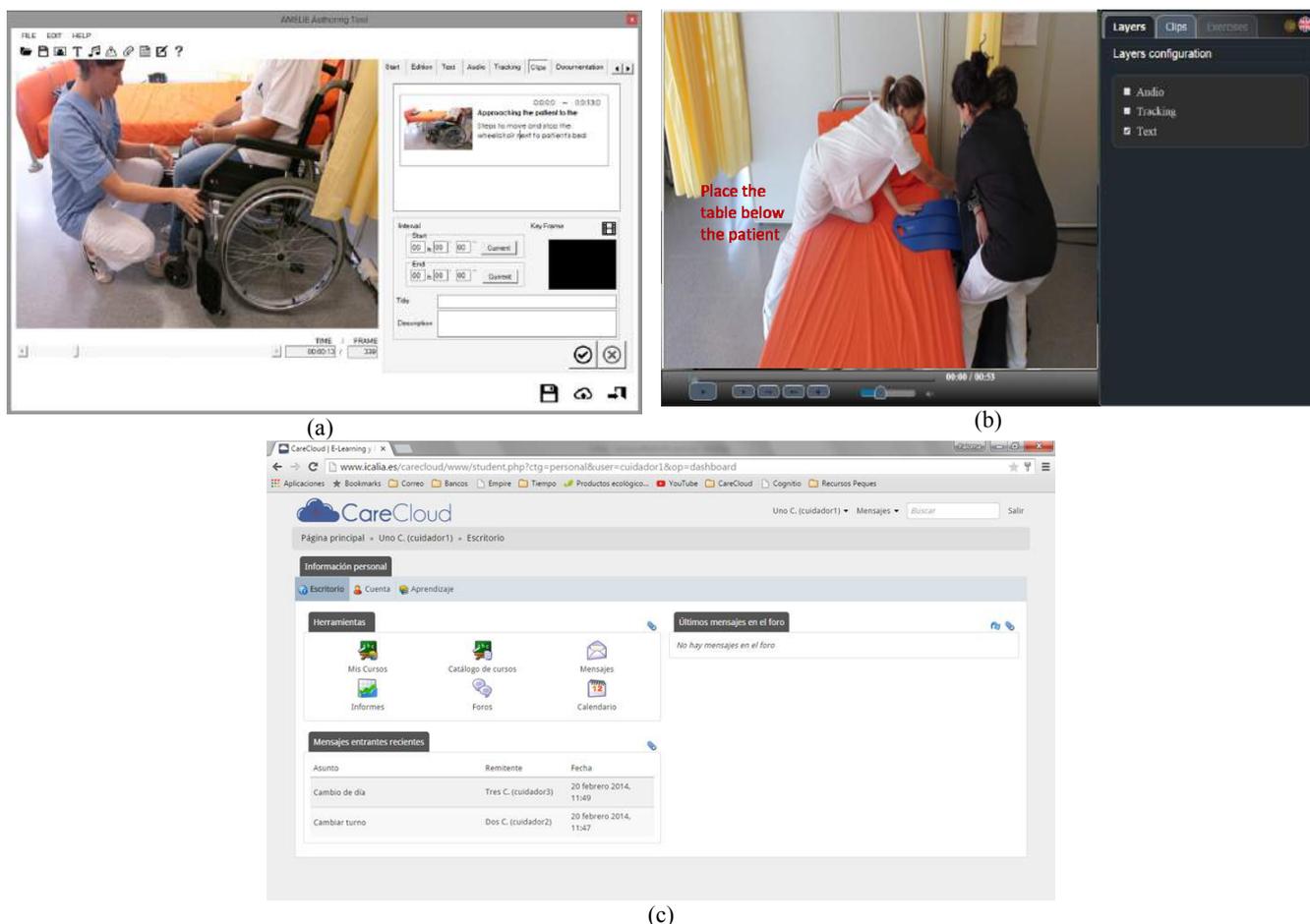


Figura 2: Interfaces de los módulos del servicio de formación de CareCloud

Además, permite navegar por los clips que se hayan creado. El reproductor online será incluido en el entorno de formación para que los cuidadores puedan acceder a los vídeos enriquecidos.

3.3. Entorno de formación

El entorno de formación (Figura 2c) basado en la herramienta eFront ayuda a los profesionales sanitarios que gestionan la plataforma a crear cursos online con contenidos sobre la realización de tareas asistenciales así como técnicas para reducir el estrés de los cuidadores. También ofrece un amplio catálogo de características como por ejemplo la creación de contenidos y test; la gestión de proyectos y cuestionarios; manejo de estadísticas; soporte interno de mensajería instantánea; foro, chats y redes sociales. Por tanto los cuidadores, podrán acceder a los cursos creados; visualizar los vídeos enriquecidos asociados a cada curso; e interactuar con otros cuidadores a través del foro, chats y las redes sociales.

4. Servicio de gestión de cuidadores informales

Este servicio se encargará de la gestión de los cuidadores informales que cuidan de una misma persona con discapacidad, facilitando el cuidado compartido y evaluando de forma continua la calidad y eficiencia del cuidado provisto. El servicio de coordinación nos

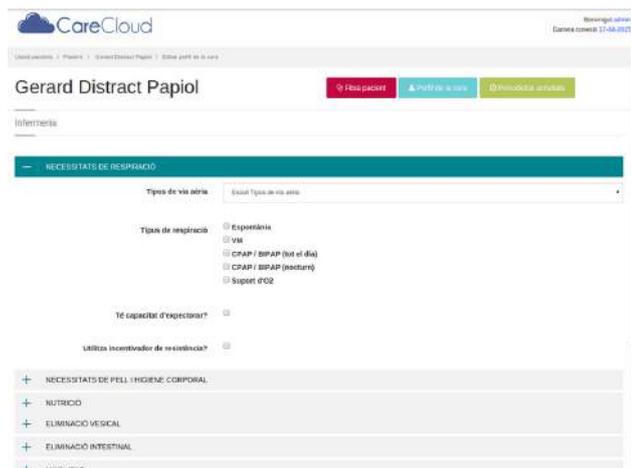
permitirá realizar dos tipos de acciones: gestionar la información de los usuarios (paciente y cuidador), y gestionar la información de las agendas así como la de las atenciones que se deban proveer al paciente y la periodicidad de las mismas

4.1. Gestión de información del usuario

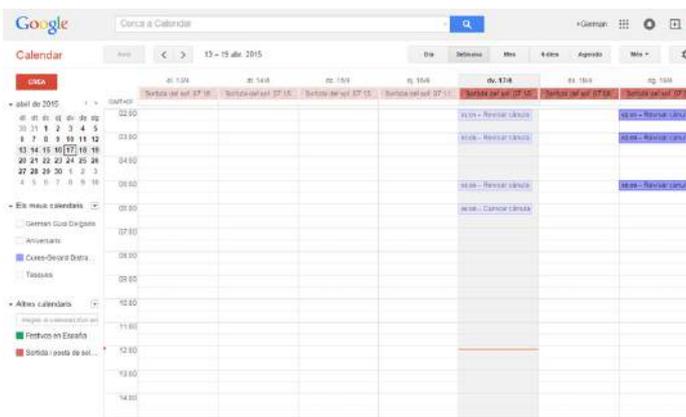
El servicio de coordinación permite dar de alta a pacientes y a sus cuidadores asociados. En los datos registrados del paciente se incluye, la información demográfica denominada “Ficha del paciente”; las asistencias que debe recibir, conocida como “Perfil de la cura”, así como la periodicidad de las tareas de asistencia. Dentro del perfil de cura (Figura 3a) se contemplan acciones de cuidados en ámbitos tales como: necesidades respiratorias, nutrición, eliminación vesical y rectal, movilidad, comunicación, conducta, cuidado de la piel, dolor y espasticidad, reposo/sueño, cognición, emoción, integración social, psicopatología, manejo del estrés. En el caso del cuidador la información que se almacena engloba los datos demográficos

4.2. Gestión de información de agendas y atenciones

Esta funcionalidad permite ver un calendario de Google Calendar (Figura 3b) con la distribución temporal de las atenciones que debe recibir un paciente así como los cuidadores responsables de proveer dichas tareas de cuidado.



(a)



(b)

Figura 3: Interfaces de los módulos del servicio de coordinación de cuidadores

5. Conclusiones

Los cuidadores informales juegan un papel principal en la atención de personas con discapacidad de origen neurológico. Debido a su falta de soporte y preparación para gestionar tales procesos de cuidado, los cuidadores se ven afectados por episodios de estrés y depresión. Así, existe una necesidad de herramientas de soporte para mejorar la asistencia que prestan y reducir su sobrecarga.

La plataforma CareCloud nace con el objetivo de ofrecer herramientas de soporte a los cuidadores informales. En este trabajo se han presentado dos servicios que componen la plataforma centrados en la provisión a los cuidadores de contenidos formativos personalizados y adaptados a la asistencia que ofrecen a sus familiares, y en la gestión y coordinación de los cuidadores.

En cuanto al servicio de formación se ofrece: la posibilidad de crear videos formativos enriquecidos con elementos adicionales que mejoran la capacidad didáctica; un reproductor específico de videos formativos enriquecidos que permite gestionar dinámicamente la información mostrada; y un entorno de formación que facilita la creación de cursos y la comunicación entre los distintos cuidadores.

Por otro lado, para lograr una gestión eficiente de los cuidados, se ofrecen mecanismos de gestión de la información del paciente así como de la coordinación de las tareas de cuidado que debe recibir.

Agradecimientos

El proyecto CareCloud (IPT-2012-0599-300000) ha sido cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) y el Ministerio de Economía y Competitividad dentro del Programa Nacional de Cooperación Público-Privada, subprograma INNPACTO.

Referencias

[1] E. Pérez-Castrejón y J. J. Andrés-Gutiérrez, "AAL and the Mainstream of Digital Home," in *Bio-Inspired Systems: Computational and Ambient Intelligence*, Springer, 2009, pp. 1070–1082.

[2] Díaz Martín, R., "Informe 2010: Las personas mayores en España", IMSERSO. Observatorio de Personas Mayores, 2010

[3] L. Eppers, D. Goodall, and B. E. Harrison, "Caregiver burden among dementia patient caregivers: A review of the literature," *Journal of the American Academy of Nurse Practitioners*, vol. 20, no. 8, pp. 423–428, Aug. 2008.

[4] K. I. Stajduhar, L. Funk, and L. Outcalt, "Family caregiver learning—how family caregivers learn to provide care at the end of life: A qualitative secondary analysis of four datasets," *Palliat Med*, vol. 27, no. 7, pp. 657–664, Jul. 2013.

[5] V. Fuchsberger, "Ambient assisted living: elderly people's needs and how to face them," in *Proceedings of the 1st ACM international workshop on Semantic ambient media experiences*, 2008, pp. 21–24.

[6] European Health Telematics Association Report, "Sustainable Telemedicine: paradigms for future-proof healthcare", Sustainable Telemedicine Task Force, 2008.

[7] S. Carretero, J. Stewart, C. Centeno, F. Barbabella, A. Schmidt, F. Lamontagne-Godwin, and G. Lamura, "Can technology-based services support long-term care challenges in home care? Analysis of evidence from social innovation good practices across the EU CARICT Project Summary Report," Institute for Prospective and Technological Studies, Joint Research Centre, 2012..

[8] P.A. Moreno, P. Chausa, A. García-Rudolph, R. López-Blázquez, J. Ceballos, J.M. Saperas, P. Sánchez-González, J.M. Tormos, E.J. Gómez, "CareCloud: Plataforma de soporte y asistencia a cuidadores informales de personas en situación de dependencia por una discapacidad de origen neurológico", *XXXII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*, CASEIB 2014.

[9] Página web eFront: <http://www.efrontlearning.net/> (Consultada Septiembre 2015)

[10] P. Sánchez-González, I. Oropesa, P. Moreno-Sánchez, J. M. Martínez-Moreno, J. García-Novoa, and E. J. Gómez, "AMELIE: Authoring Multimedia-Enhanced Learning Interactive Environment for e-Health Contents," in *XIII Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing 2013*, 2014, pp. 1443–1446.

Estudio de nuevos indicadores basados en el Vectocardiograma como marcadores diagnósticos en Cardiomiopatía Arritmogénica

S. Jiménez-Serrano¹, J. Sanz Sánchez², C. J. Calvo¹, D. Domingo Valero², R. Cervigón Abad⁴, B. Igual Muñoz³, M.A. Arnau Vives², L. Martínez Dolz², J. Millet Roig¹, E. Zorio Grima², F. Castells Ramón¹

¹ Instituto ITACA, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, (sanjiser@upv.es)

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

³ Centro Médico-Quirúrgico ERESA, Valencia, España

⁴ Innovation in Bioengineering Research Group (GIBI), Universidad de Castilla-La Mancha, Cuenca, España

Resumen

La Miocardiopatía Arritmogénica (MCA) es una cardiopatía caracterizada por la infiltración fibroadiposa del miocardio ventricular, siendo una de las causas más frecuentes de muerte súbita en jóvenes. Su diagnóstico clínico se basa en los criterios *Task Force* revisados en 2010 que incluyen criterios mayores y menores basados en alteraciones del electrocardiograma de superficie (ECG). Asimismo, el método estándar para analizar la trayectoria descrita por la actividad eléctrica cardiaca es el Vectocardiograma (VCG), el cual puede ser obtenido a partir de las 12 derivaciones ECG estándar.

El objetivo de este trabajo es evaluar la trayectoria del VCG correspondiente al complejo QRS y buscar diferencias en su comportamiento entre sujetos afectados y no afectados por MCA. La hipótesis inicial es que existen diferencias en la forma del VCG durante el QRS entre estos dos grupos.

Se utilizaron registros ECG de 12 derivaciones de 34 pacientes diagnosticados con MCA, y 37 sujetos que no la sufrían, creando un patrón del VCG durante el complejo QRS para cada uno de ellos. Se propuso un conjunto de indicadores basados en dicho patrón para evaluar el grado de torsión de su trayectoria en el espacio 3D. El indicador propuesto más significativo fue la Simplicidad de la trayectoria (*S*), con valores de 0.25 ± 0.05 y 0.33 ± 0.06 ($p < 10^{-7}$) en ambos grupos. Los resultados de este estudio muestran diferencias significativas en los indicadores propuestos entre el grupo afectado por MCA y el grupo control, indicando que el grado de torsión del VCG durante el QRS es mayor en el primero.

1. Introducción

La Miocardiopatía Arritmogénica (MCA) es una cardiopatía caracterizada por la infiltración fibroadiposa del miocardio ventricular [1], produciendo alteraciones en la conducción eléctrica que pueden desencadenar arritmias ventriculares. Es una de las principales causas de muerte súbita cardiaca en jóvenes, especialmente las asociadas al deporte, y al tener una transmisión frecuentemente autosómica dominante, las probabilidades de sufrir la enfermedad aumentan drásticamente entre los familiares directos de los afectados [2, 3].

El diagnóstico clínico de la MCA es complicado y se basa en los criterios *Task Force* revisados en 2010 [4], fundamentados principalmente en estudios previos con afectación predominante del ventrículo derecho, pero todavía poco sensibles para diagnosticar las formas

predominantes en ventrículo izquierdo. Dichos criterios incluyen observaciones sobre el electrocardiograma de superficie (ECG), Imagen por Resonancia Magnética (IRM), ecocardiografía, datos de afectación familiar y resultados genéticos, así como del estudio histológico.

Respecto a estos criterios diagnósticos, el ECG estándar es la técnica más sencilla y comúnmente empleada para la detección de arritmias cardiacas. En el caso de MCA se han identificado alteraciones de la repolarización y la despolarización que se asocian con la enfermedad. Entre otros, se han descrito inversiones en la onda T de las derivaciones precordiales derechas (V1-V3), así como parámetros relacionados con la duración, amplitud, y fragmentación del complejo QRS en distintas derivaciones, además de la observación de la onda *epsilon* [4, 5]. Sin embargo, otros indicadores del ECG que han demostrado su eficacia diagnóstica en otras patologías de origen ventricular no han sido probados en MCA.

El método estándar para analizar la trayectoria descrita por la actividad eléctrica cardiaca es el Vectocardiograma (VCG), el cual puede ser obtenido a partir de las 12 derivaciones ECG estándar mediante la *Transformada Inversa de Dower* [6]. El objetivo de este trabajo es evaluar la trayectoria del VCG correspondiente al complejo QRS y buscar diferencias en su comportamiento entre sujetos afectados por MCA y aquellos que no la padecen. La hipótesis inicial es que existen diferencias en la forma del VCG durante el QRS entre estos dos grupos. En este trabajo se propone un conjunto de indicadores definidos a partir del VCG con el objetivo de extraer esta información.

2. Materiales

Como base de datos de este estudio se utilizaron registros de 34 pacientes diagnosticados previamente con MCA (25 con afectación preferente del ventrículo izquierdo, 9 con afectación biventricular). Además se incluyeron registros en el grupo control de 37 sujetos que habían sido sometidos a pruebas diagnósticas de MCA debido a tener familiares directos afectados por ella, pero cuyos resultados fueron negativos en el diagnóstico de la enfermedad. Cada uno de estos registros se compone de

señales en las 12 derivaciones ECG estándar, de una duración entre 10 y 15 segundos, con frecuencia de muestreo de 500 Hz, adquiridas mediante un equipo *Philips PageWriter Touch*.

3. Métodos

Esta sección describe los métodos propuestos para extraer y caracterizar los VCG a partir de los registros ECG de las 12 derivaciones estándar. Esto incluye el preprocesado de las señales, la definición de parámetros y el análisis estadístico. Todas estas etapas fueron llevadas a cabo mediante el software MATLAB (2014a, The MathWorks).

3.1. Preprocesado

El material disponible para llevar a cabo este estudio son los datos en bruto de los registros ECG. Sin embargo, se pretende analizar la trayectoria descrita por el QRS en el VCG, por lo que cada señal ECG ha de ser pretratada para que cumpla nuestros requisitos. Por lo tanto, era necesario que al final de la etapa de preprocesado se obtuviese un patrón del lazo que describe el VCG durante el complejo QRS.

En primer lugar se restó la media a cada señal y se filtraron los artefactos que presentaban valores atípicos (*outliers*). Seguidamente se aplicó un filtro paso bajo de 45Hz para eliminar el ruido de alta frecuencia y otro paso alto de 1Hz para eliminar las oscilaciones producidas por la respiración. Finalmente, se tomó como línea base en cada derivación el valor más frecuente de la señal, obtenido mediante el histograma.

A continuación se identificaron los picos R en la derivación V5 mediante un detector basado en la derivada primera. Para evitar falsos positivos, se filtraron las detecciones de la onda R que no superasen un valor medio de 0.75 en el coeficiente de correlación con todas las demás detecciones, utilizando una ventana de 200 ms. De este modo se eliminaron las detecciones en latidos ectópicos y artefactos.

Seguidamente se creó un patrón del complejo QRS en las 12 derivaciones estándar del ECG mediante promediado, utilizando una ventana de 160 ms centrada en las detecciones de la onda R de la etapa anterior.

La última etapa del preprocesado es la obtención del VCG para cada sujeto de la base de datos. Para ello se aplicó la *Transformada Inversa de Dower* sobre el patrón QRS de la etapa anterior obteniendo así la representación en el espacio tridimensional (derivaciones X, Y, Z). La Figura 1 muestra el lazo que forma el VCG de la señal correspondiente al patrón QRS, además del eje de coordenadas 3D, de un sujeto del grupo control.

3.2. Definición de parámetros

Para todos los sujetos de la base de datos, se obtuvieron los parámetros de la regresión lineal múltiple que definen el plano que mejor se ajusta al VCG del patrón QRS. La Figura 2 muestra el VCG del sujeto anterior, junto con el plano que mejor se ajusta a sus puntos.

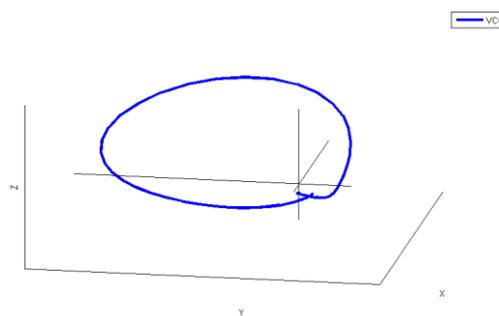


Figura 1. Vectocardiograma del patrón QRS de un sujeto del grupo control

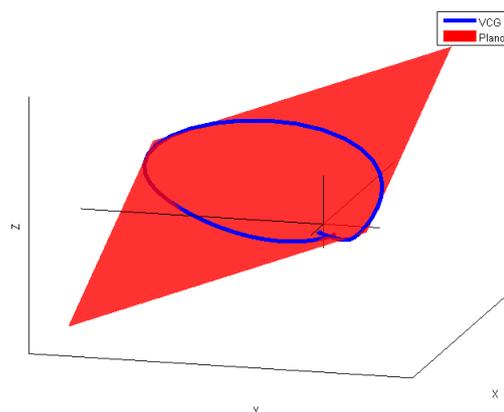


Figura 2. Plano que mejor ajusta a los puntos del Vectocardiograma de un sujeto del grupo control

Para medir el grado de torsión del VCG en el espacio 3D se utilizaron 4 métricas. La primera, consistió en el estadístico R^2 obtenido durante el proceso de ajuste del plano, donde un valor de 1 indica un ajuste perfecto, actuando como límite superior. Para las dos siguientes métricas se utilizó la distancia euclídea D entre el vector VCG y el vector \hat{Y} resultante de proyectar dicho VCG sobre el plano ajustado anteriormente.

$$D = \sqrt{\sum (VCG - \hat{Y})^2} \quad (1)$$

Para obtener medidas comparables entre sujetos independientemente del número de puntos N que contiene cada VCG, se utilizaron los valores $D1$ y $D2$, definidos como:

$$D1 = D/N \quad (2)$$

$$D2 = \sqrt[N]{D} \quad (3)$$

Finalmente, la última métrica utilizada en este estudio intenta capturar las variaciones locales con el fin de evaluar la complejidad de la trayectoria. Cuantos más cambios de dirección, más complejo es el camino que forma el lazo VCG. Por lo tanto, la complejidad puede considerarse como la acumulación de variaciones instantáneas del ángulo θ_i , donde cada i -ésimo punto es calculado como:

$$\theta_i = \cos^{-1} \left(\frac{(x_i - x_{i-1})^T (x_{i+1} - x_i)}{\|x_i - x_{i-1}\| \|x_{i+1} - x_i\|} \right) \quad (4)$$

La acumulación de todas estas variaciones angulares durante toda la trayectoria tiene como cota inferior $2\pi rad$, valor obtenido en el caso más sencillo, es decir, si el vector describe un lazo cerrado, similar a una elipse dibujada en un plano 2D (ver Figura 2). Sin embargo, al no existir cota superior para este parámetro, se puede definir su Simplicidad como:

$$S = \frac{2\pi}{\sum_i \theta_i} \quad (5)$$

donde $S \in [0, 1]$, indicando la cota inferior una trayectoria muy compleja, y la cota superior una trayectoria sin variaciones locales [7].

3.3. Análisis estadístico

Una vez obtenidos los parámetros, se compararon los resultados en ambos grupos de sujetos con el fin de encontrar diferencias estadísticamente significativas mediante una prueba t de Student. Se utilizó previamente el test de Kolmogorov-Smirnov para corroborar normalidad en los datos.

4. Resultados

En primer lugar, se observó visualmente que la mayoría de sujetos del grupo control de la base de datos poseen un VCG del patrón QRS que no sufre demasiadas torsiones en el espacio 3D, estando muy próximos sus puntos al plano 2D obtenido, (ver Figura 2).

Por otro lado, se observó que en gran parte de sujetos que padecen MCA de nuestra base de datos, el lazo que forma el VCG correspondiente al patrón QRS sufre más torsiones en el espacio 3D que en aquellos del grupo control. La Figura 3 muestra uno de estos casos, donde el plano que mejor ajusta a los puntos del VCG queda alejado de éstos debido a la deformación sufrida.

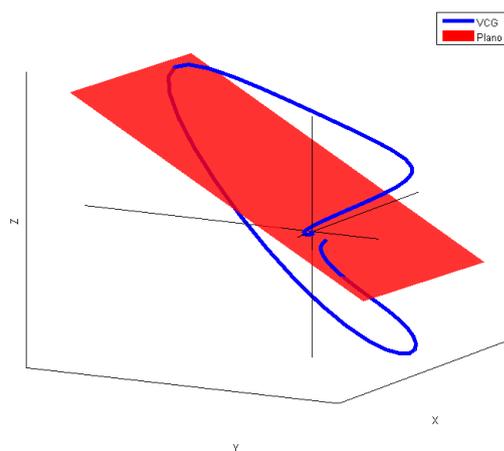


Figura 3. Vectocardiograma de un paciente con MCA, junto con el plano que mejor se ajusta a sus puntos

A continuación, para cada sujeto se calcularon los valores del estadístico R^2 , Distancias $D1$, $D2$ y Simplicidad S . Seguidamente se promediaron dichos valores conforme a cada uno de los grupos a los que pertenecían.

El valor del estadístico R^2 de nivel de ajuste de cada VCG sobre un plano 2D fue de 0.71 ± 0.27 y 0.86 ± 0.26 ($p < 0.05$) en el grupo de pacientes de MCA y grupo control respectivamente, mostrando diferencias significativas entre sus valores, siendo el grupo control el que mejores valores de ajuste obtiene. La distancia normalizada $D1$ entre el VCG y su proyección sobre el plano 2D fue de 13.71 ± 9.25 y 8.75 ± 6.75 ($p < 0.05$) entre el grupo de pacientes y el de controles respectivamente, así como los valores de la segunda distancia normalizada $D2$ fueron de 1.09 ± 0.01 y 1.08 ± 0.01 ($p < 0.01$) en estos mismos grupos. Esto indica que la distancia del VCG respecto al plano es mayor en el grupo de pacientes con MCA. Finalmente, los valores S de Simplicidad en la trayectoria del VCG fueron de 0.25 ± 0.05 y 0.33 ± 0.06 ($p < 10^{-7}$) entre ambos grupos, mostrando que la trayectoria es más compleja en el grupo de pacientes con MCA. La Tabla 1 resume estos resultados, los cuales además corroboran las diferencias visuales mencionadas anteriormente. Asimismo, la Figura 4 muestra los diagramas de caja de los valores obtenidos con los parámetros del estudio (R^2 , $D1$, $D2$, S) en el grupo de pacientes con MCA y grupo control.

	Pacientes MCA n=34	Controles n=37	Valor p
R^2	0.71 ± 0.27	0.86 ± 0.26	2.13e-2
$D1$	13.71 ± 9.25	8.75 ± 6.75	1.16e-2
$D2$	1.09 ± 0.01	1.08 ± 0.01	6.15e-3
S	0.25 ± 0.05	0.33 ± 0.06	5.93e-8

Tabla 1. Resultados del análisis estadístico. Valores de los parámetros obtenidos (Media ± desviación típica) y valor p.

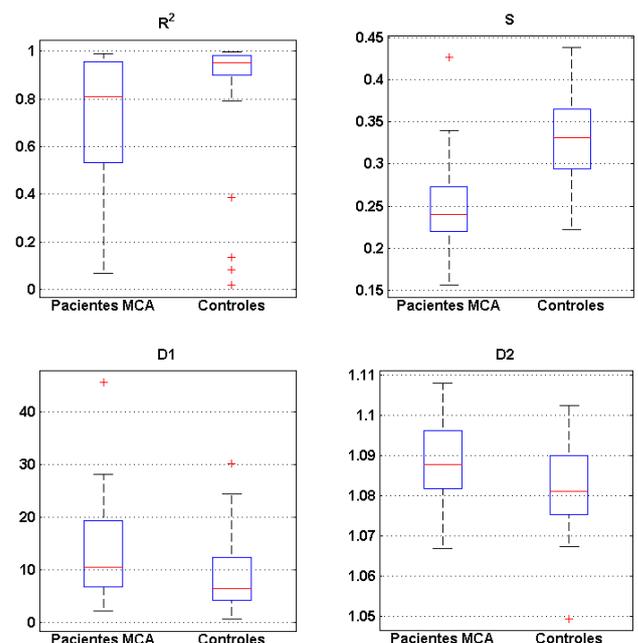


Figura 4. Diagramas de caja de los valores obtenidos con los parámetros del estudio (R^2 , $D1$, $D2$, S) en el grupo de pacientes con MCA ($n=34$) y grupo control ($n=37$)

5. Discusión

El primer aspecto a destacar tras la realización de este trabajo es la capacidad de los indicadores propuestos para caracterizar y evaluar la trayectoria del VCG durante el complejo QRS. Cada uno de estos indicadores evalúa el grado de torsión que presenta esta trayectoria, tres de ellos (R^2 , $D1$ y $D2$) basados en el plano que mejor se ajusta a los puntos del VCG, y el último (S), siendo un parámetro que sólo depende del propio VCG.

Como se esperaba, este estudio muestra diferencias significativas en los indicadores propuestos entre el grupo de pacientes afectados por MCA y el de sujetos sanos, siendo el grado de torsión del VCG durante el QRS mayor en el primer grupo. Esto se ha demostrado empíricamente mediante las diferencias en los grupos con el conjunto de parámetros propuestos. No obstante, sería recomendable utilizar una combinación de parámetros que contemple la Simplicidad (S) puesto que es el indicador que mayores diferencias entre grupos presenta. De este modo se podría obtener una caracterización mejor del VCG, incrementando la sensibilidad en la detección de la MCA mediante ECG, así como su grado de afectación.

A pesar de los resultados obtenidos, este estudio presenta algunas limitaciones que deberían tenerse en cuenta de cara a futuros trabajos. En primer lugar, convendría validar en otras series nuestros resultados. Finalmente, a pesar que ha sido posible caracterizar el comportamiento del VCG durante el QRS en ambos grupos, los parámetros propuestos individualmente no son capaces de distinguir con una precisión totalmente exacta los sujetos que pertenecen a uno u otro grupo. Esto es debido en parte a que entre el grupo control existen sujetos con otras afecciones cardiacas que pueden alterar el ECG. Por lo tanto se necesita todavía una investigación más profunda para mejorar estos resultados.

6. Conclusiones

En este trabajo se han propuesto un conjunto de indicadores definidos como marcadores diagnósticos de MCA. El método propuesto se basa en el VCG durante el complejo QRS, en concreto en indicadores que evalúan el grado de torsión de su trayectoria. Este estudio muestra por primera vez diferencias significativas en los indicadores propuestos entre el grupo de pacientes afectados por MCA y el grupo control, siendo el grado de torsión del VCG durante el QRS mayor en el primer grupo. Los resultados de este estudio podrían ayudar a caracterizar esta enfermedad de una forma no invasiva, especialmente dentro del contexto del *screening* de familiares, incrementando la sensibilidad en la detección mediante ECG.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado con ayudas del Instituto de Salud Carlos III (PI14/01477 y RD12/0042/0029), beca ERESA 2013 y beca IIS La Fe-UPV 2014.

Referencias

- [1] Marcus FI, Fontaine GH, Guiraudon G, Frank R, Laurenceau JL, Malerque C, Grosgeat Y. Right ventricular dysplasia: a report of 24 adult cases. *Circulation*, vol 65, sup 2, 1982, pp 384-98 (ISSN: 0009-7322).
- [2] Nava A, Thiene G, Canciani B, Scognamiglio R, Daliento L, Buja G, Martini B, Stritoni P, Fasoli G. Familial occurrence of right ventricular dysplasia: a study involving nine families. *Journal of the American College of Cardiology*, vol 12, sup 5, 1988, pp 1222-8 (ISSN: 0735-1097).
- [3] Daliento L, Turrini P, Nava A, Rizzoli G, Angelini A, Buja G, Scognamiglio R, Thiene G. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in young versus adult patients: similarities and differences. *Journal of the American College of Cardiology*, vol 25, sup 3, 1995, pp 655-64 (ISSN: 0735-1097).
- [4] Marcus FI, McKenna WJ, Sherrill D, Basso C, Bauce B, Bluemke DA, Calkins H, Corrado D, Cox MG, Daubert JP, Fontaine G, Gear K, Hauer R, Nava A, Picard MH, Protonotarios N, Saffitz JE, Sanborn DM, Steinberg JS, Tandri H, Thiene G, Towbin JA, Tsatsopoulou A, Wichter T, Zareba W. Diagnosis of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy/Dysplasia: proposed modification of the task force criteria. *Circulation*, vol 121, sup 3, 2010, pp 1533-41 (ISSN: 0009-7322).
- [5] Quarta G, Elliot PM. Criteria for Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy. *Revista Española de Cardiología (English Version)*, vol 65, sup 07, 2012, pp 599-605 (ISSN: 1885-5857).
- [6] Edenbrandt L, Pahlm O. Vectorcardiogram synthesized from a 12-lead ECG: Superiority of the inverse Dower matrix. *Journal of Electrocardiology*, vol 21, sup 4, 1988, pp 361-7 (ISSN: 0022-0736).
- [7] Castells F, Meste O, Quesada A, Guillem MS, Climent AM, Millet J. Characterization of typical and atypical Atrial Flutter Loops from the Vectorcardiogram. *33rd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (IEEE EMBS 2011)*, Boston (USA), 2011, pp 4976-9 (ISBN: 978-1-4244-4122-8).

Effects of Cell Culture Flexible Substrate on Cardiomyocytes

L. Gómez-Cid¹, L. Fuentes¹, I. Hernández-Romero¹, M.S. Guillem², M.E. Fernández-Santos¹, F. Atienza¹, F. Fernández-Avilés¹, A.M. Climent¹

¹ Servicio de Cardiología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

² Instituto ITACA, Universitat Politècnica de Valencia, Valencia, España

Abstract

Major considerations in the design of engineered cardiac patches are the regenerative and electrophysiological properties of cardiac cells. The objective of this study is to compare key cardiomyocyte functional properties for cardiac repair such as proliferation, migration and displacement, and conduction velocity of atrial murine cells (HL-1-myocytes) in two different substrates: (1) rigid Petri dishes and (2) flexible PDMS (polydimethylsiloxane) wells. Results from this study confirm that the use of flexible substrates induces a more similar cardiac phenotype to that shown in vivo, especially characterized by higher conduction velocities. This result was supported by a higher expression of genes involved in action potential generation and propagation. Flexible membranes will allow further studying the effect of simultaneous mechanical and electrical stimulation on cardiac properties in vitro.

1. Introduction

Cardiovascular diseases are the first leading cause of death worldwide, being ischemic heart disease and myocardial infarction the most common [1]. If cardiomyocyte depletion occurs, it can cause further heart failure, as remodelling occurs with heterogeneous tissue. This tissue presents lower conduction velocities that provoke asynchronous electric conduction, thus increasing the risk of future re-entries that can lead to cardiac arrhythmias [2].

Engineered cardiac patches seem a promising tool to solve this problem. Furthermore, they allow adequate simulation of cardiac tissue dynamics *in vitro* to obtain models and realistic responses of pharmacological agents and therapies. To serve those purposes, cardiac patches must have optimal structural, mechanical and electrophysiological properties, and to populate them, cell proliferation, migration and displacement are also important. Myocardial tissue has complex architecture and cell interconnections, and to mimic the Extra Cellular Matrix (ECM) environment is one of the main challenges of tissue engineering, as it is crucial to obtain *in vivo* like phenotypes, such as higher conduction velocities and more efficient and synchronous contractions [3].

The purpose of this work is to study and quantify the effect of using flexible membranes as substrate on different properties that play a key role in cardiac patches development and functioning. The flexible membranes employed are PDMS (polydimethylsiloxane) wells. Its

flexibility is closer to that of the ECM in contrast to conventional Petri dishes, providing a more *in vivo*-like environment. The use of these membranes will also offer the possibility of studying the impact of mechanical and electrical stimulation during cell culture, which may result in further enhancement of these desired properties.

2. Methods

2.1. Cell culture

HL-1 cells were maintained, grown and proliferated according to the standard protocol established by Claycomb et al. [4].

2.2. Proliferation assay

To study proliferation of HL-1 cells, alamarBlue® (oxidation-reduction colorimetric indicator) was used. Cells were seeded in three p35s (Petri dishes) and three PDMS wells at an initial concentration of 35000 cells/cm² on day 1 and cultured with 208µL of medium/cm². From day 2 to day 5, equal amount of media was changed at 5 pm and incubated overnight. In the following morning, alamarBlue® was added at 9 am in a concentration of 1 µL/10 µL of medium and left in the incubator for 4 hours. After this time, 300 µL of each sample (medium + alamarBlue®) were loaded into 96-well plates (100 µL/well, 3 replicates). Absorbance for each well was measured using EMax® Plus Microplate Reader from bioNova científica. In order to obtain the percentage of reduction (marker of proliferation) from absorbance at two different wavelengths, the formula in the product specifications was applied.

2.3. Migration and displacement

Migration and displacement properties of HL-1 cells were measured by quantifying the time needed by the cells to close an injury. Specifically, a linear wound was generated after reaching full confluence by scratching with the tip of a pipette in three p35s and three PDMS wells. After wound induction, cell migration and displacement were recorded using time-lapse equipment (Lumascope 400 iVue, etaluma) by taking an image every 5 minutes during 60 hours. To process those images, custom software in MATLAB (The MathWorks) was developed to obtain graphs of confluence over time in the wound area and displacement velocity values.

2.4. Conduction velocity

Four confluent samples of HL-1 on each substrate were employed to measure electrophysiological conduction velocity. Specifically, calcium transients were recorded using optical mapping technique, and results were further analysed by custom software developed in MATLAB to obtain impulse propagation velocity measurements.

For calcium transient imaging, each HL-1 sample was incubated for 30 minutes in 1.5 mL of Tyrode solution, 8 μ L of Probenecid and 5 μ L of rhod-2 dye. After several washes, in order to excite rhod-2, cell cultures were illuminated with two filtered green LED light sources (CBT-90-G, peak output 58W, peak wavelength 524nm; Luminus Devices, Billerica, USA), with a plano-convex lens (LA1951; focal length=25.4mm, Thorlabs, New Jersey, USA). The green excitation filter used was D540/25X (Chroma Technology, Bellows Falls, USA). Fluorescence emitted was recorded using an EMCCD camera (Evolve-128: 128x128, 24x24 μ m-square pixels, 16 bit; Photometrics, Tucson, AZ, USA), with a custom emission filter (ET585/50-800/200M; Chroma Technology) in front of a high-speed camera lens (DO-2595; Navitar Inc., Rochester, USA).

Once electrical activity was confirmed, lines were made in the cell culture by scratching in order to allow electric conduction to happen only in a certain direction. This simplifies the electric activity and eases future measurements. Moreover, cells were stimulated by bipolar point stimulation with two electrodes in order to produce a linear propagation over the cell culture.

The movies were further processed in custom software developed in MATLAB. In order to obtain conduction velocity values, two pixels are selected and their two fluorescence signals along time are correlated. With a calibration distance (spatial information) previously indicated and the electric impulse correlation distance (temporal information), conduction velocity is calculated. This process can be observed in Figure 1.

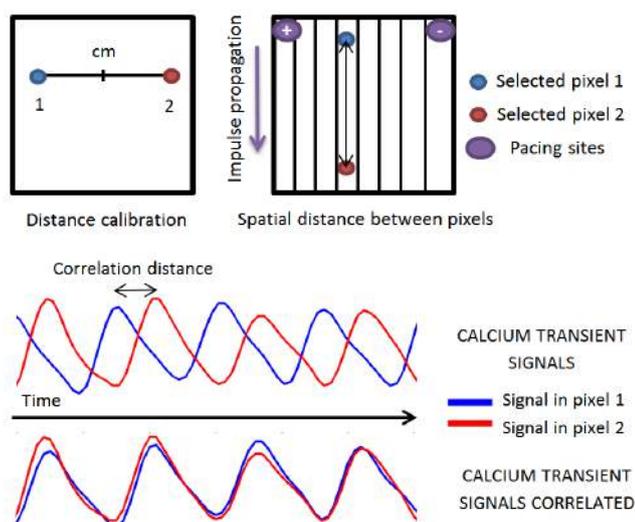


Figure 1. Process for calculating conduction velocity. (1) Calibration. (2) Pixel selection. (3) Correlation of fluorescence signal in time of pixel 1 and pixel 2 (4) Conduction velocity obtaining as Spatial distance (cm)/Correlation distance (s).

2.5. Gene expression analysis

In order to evaluate the effects of the cell culture substrate on main ion channels gene expression, RNA from three samples in each substrate was isolated using Tri-reagent (Sigma). Transcripts were quantified in a two-step RT-PCR. First strand cDNA was synthesized using High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems). The samples were later run using SYBR Green oligonucleotides and the CFX Real Time PCR detection Systems (Bio Rad). Analysis was performed with two technical replicates for each sample. Gene expression values were normalized to two standard housekeeping genes (36b4 and Cyclophylin) as internal controls, and expressed as relative mRNA levels (relative expression). Primer sequences are shown in Table 1.

Gene	Protein	Forward Primer (5'->3')	Reverse Primer (5'->3')
SCN5A	Nav 1.5	CACCTTCACCGCCAT CTACA	AAGGTGCGTAAGGC TGAGAC
CACNA1C	Cav 1.2	CCTCGAAGCTGGGA GAACAG	TGTGTGGGAGTCAA TGGAGC
KCNJ2	Kir 2.1	GACGCCTTCATCATT GGTGC	CCGGACATGAGCTTC CACAA
GJA5	Con 40	ATACCATTGAGCCTG GTTGC	GGTGGGCCTCTTTA GCTTTC
GJA1	Con 43	GGACTGCTTCTCTC ACGTC	CAGCTTGACCCAGG AGGAG
GJA7	Con 45	TTTGTGTGCAACACA GAGCA	GGTCCTCTCCGTTT CTTCC
36B4		GCGACTGGAAGTC CAACTA	ATCTGCTGCATCTGC TTGG
CYCLOPHYLIN		ACAGGTCCTGGCATC TTGTC	CATGGCTCCACAAT GTTCA

Table 1. Primers used for reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR).

3. Results

3.1. Proliferation

HL-1 cells were able to grow, attach and keep spontaneous contraction over both substrates. In fact, proliferation was high because of the cell tumorous origin [4], as 100% of reduction was achieved within 6 days. Although not significant differences were observed, in Petri highest proliferation rates occurred at early stages of the cell culture, whereas in PDMS at late stages. Moreover, in Petri dishes a more reproducible response was observed, as in PDMS wells standard deviation between the three samples was considerably greater.

3.2. Migration and displacement

The ability of HL-1 cells to close induced wounds was demonstrated to be limited over both substrates, as it is characteristic of adult cardiomyocytes. After 60 hours, none of the injuries were completely closed in any of the materials (Figure 2). The analysis of maximum displacement velocities (i.e. 0.40 μ m/min in PDMS and 0.25 μ m/min in Petri) demonstrated the reduced ability of these adult cardiomyocytes to migrate, suggesting that these cells colonize only by proliferation.

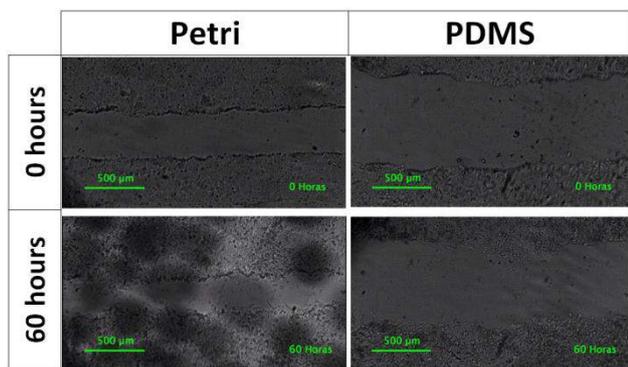


Figure 2. Wound test images in both substrates at two different times.

3.3. Conduction velocity

A representative example of isochrones maps for Petri and PDMS generated from the optical mapping movies data is shown in Figure 3. Uniform impulse propagation can be observed in both bands, confirming that the cells were confluent and that conduction followed a straight path. Notice that the time impulse takes to reach the end of the band in the PDMS well is shorter than in the Petri dish, suggesting faster conduction velocities.

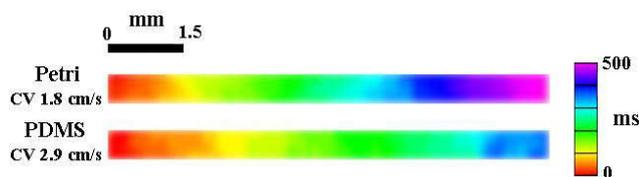


Figure 3. Isochrones maps of a significant band in each substrate.

Average conduction velocity values of HL-1 cells grown in Petri and PDMS can be observed in Figure 4. Impulse propagated significantly faster when cells were grown in flexible membranes as the conduction velocity was 156% greater in PDMS wells (2.4 cm/s) than in Petri dishes (1.5 cm/s).

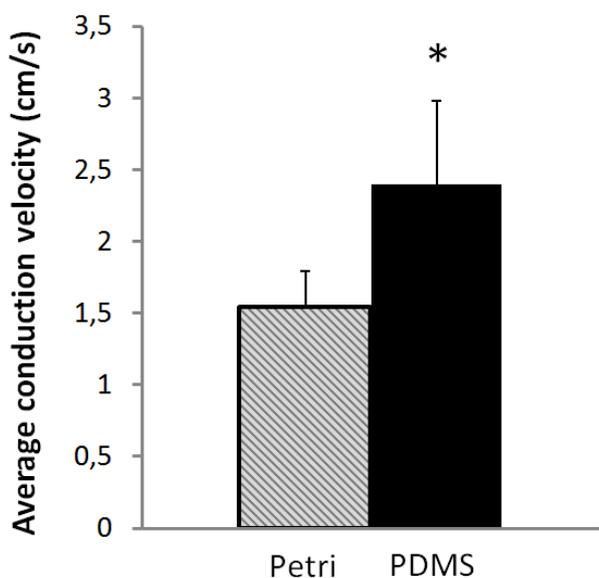


Figure 4. Average conduction velocity for each substrate. Differences are statistically significant when $p < 0.05$ (*) (TTest).

3.4. Gene expression analysis

The gene expression analysis supported what was observed at a functional level, as genes analysed codifying for proteins involved in action potential generation and propagation were higher expressed in cells grown over PDMS wells (Figure 5).

A higher expression of genes codifying for molecular components of sodium, calcium and potassium channels (SCN5A, CACNA1C and KCNJ2) and of genes codifying for connexins forming part of gap junctions (GJA5, GJA1, GJA7), may indicate a greater presence of these proteins in HL-1 cells. These results confirm the influence of the flexible substrate on the gene expression corresponding to proteins related to electrophysiological cardiomyocytic properties.

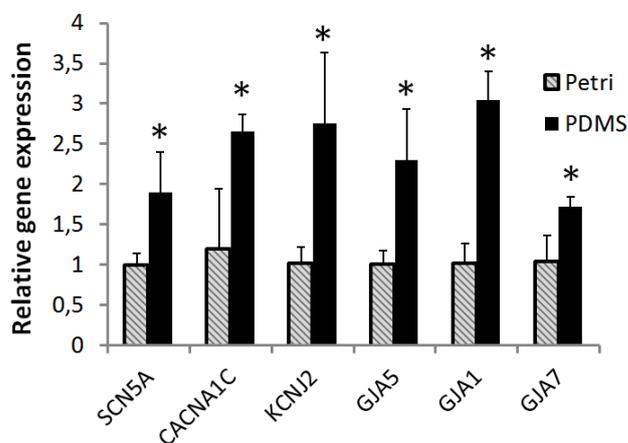


Figure 5. Expression levels of ion channels in HL-1 cells grown in PDMS versus Petri substrates. SCN5A, CACNA1C and KCNJ2 genes codify for proteins which are subunits of ion channels associated to I_{Na} , I_{CaL} and I_{K1} respectively. GJA5, GJA1, GJA7 genes codify for components of the gap junctions: connexin 40, connexin 43 and connexin 45 respectively. Differences are statistically significant when $p < 0.05$ (*) (TTest).

4. Discussion

4.1. Main contributions

The results of this study demonstrate that the culture of cardiac cells on flexible membranes has an impact on their phenotype. This impact has shown to be especially significant in electrophysiological properties, as conduction velocity has increased considerably. The similar flexibility of PDMS with that of the ECM may be the reason behind the gene expression profile more characteristic of adult cardiomyocytes. These changes in gene expression may have led to a higher presence of gap junctions and ion channels that ease impulse generation and propagation.

Proliferation, migration and displacement have not shown relevant differences between both substrates. Proliferation was in general elevated because of the nature of HL-1 cells, while migratory capacity and displacement were nearly absent in both substrates as it is characteristic of adult cardiomyocytes. From the data obtained, it could be concluded that HL-1 cells colonize merely by

proliferation. This low ability to repair wounds may pose further problems for the population of cardiac patches.

The use of flexible membranes opens new insights into cardiac patches for cardiac regeneration, as obtaining higher conduction velocities while maintaining other general cell properties is possible. As impulses propagate faster, the possibility of future re-entries will diminish and the patch will integrate better within healthy tissue. Flexible membranes also allow future studies of electrophysiological properties during cell culture under simultaneous mechanical and electrical stimulation, which is otherwise impossible with rigid Petri dishes. These conditions may improve characteristic cardiomyocyte properties even further, leading to better quality patches.

4.2. Comparison with previous studies

Conduction velocities in rat ventricular myocyte monolayers are close to 25 cm/s, but *in vitro* growing of cardiac cell lines and iPSCs (induced Pluripotent Stem Cells) has shown very inferior speeds (1-2.5 cm/s). The use of flexible membranes had already been suggested to have an impact on impulse propagation, as maximum conduction velocity obtained *in vitro* has been 21 cm/s using genetically purified human cardiac myocytes and flexible membranes together [5]. However, the impact of flexible membranes alone on electrophysiological properties was carried out through this systematic study.

4.3. Applications

The generation of cardiac patches that mimic *in vivo* properties have two main applications: (1) as therapy for cardiac regeneration of scar tissue after an infarct and (2) as models of cardiac tissue for *in vitro* drug and therapy testing.

In order to serve as therapy, one of the main limitations of current cardiac patches is their low conduction velocity values. In addition to that, cells which present high proliferation and migration capacity are required in order to populate the patches effectively. To obtain considerable migration capacity, immature cardiomyocytes such as cardiopoietic cells or iPSCs not terminally differentiated into cardiomyocytes should be contemplated. To reach higher conduction velocity values these immature cells should be further differentiated.

The use of these patches as realistic models of *in vivo* behaviour offers many advantages. First, they may reduce the number of animals and the time required. Secondly, they ease procedures and present better simulation of cardiac tissue dynamics, as conduction velocities of HL-1 cells grown over flexible membranes are closer to *in vivo* values. Low migration capacity observed also mimicks accurately adult cardiomyocyte behaviour.

4.4. Limitations

The results obtained for conduction velocity measurements, although significantly higher for flexible membranes, are still far from *in vivo* impulse propagation

velocities. This may be due to the limited number of cells interconnected in monolayers. The use three dimensional *in vitro* structures such as decellularized matrices could contribute to the improvement of cardiomyocytic properties, as it provides an ideal environment for cells to grow [6].

With the objective of clarifying if a higher expression of the studied genes has led to a higher presence of proteins related to unique cardiomyocyte properties it will be convenient to use direct protein detection techniques. This is necessary to confirm that this higher protein presence is the responsible of the higher conduction velocity values.

5. Conclusions

The use of flexible membranes has shown to play a role in cardiac cell phenotype, especially inducing faster impulse propagation. At the molecular level, expression of genes codifying for proteins involved in ion channels and gap junctions were also more expressed in cells grown over flexible membranes, suggesting that this may be the cause behind the higher conduction velocity measurements.

These results open new insights into cardiac patches, as its use allows further research on the impact of simultaneous electrical and mechanical stimulation during cell culture, mimicking even better the *in vivo* environment of cardiac cells.

Acknowledgements

Supported in part by grants from the *Instituto de Salud Carlos III* and Ministry of Economy and Competitiveness of Spain: PI13-01882, PI13-00903 and TEC2013-50391-EXP, by the *Red de Investigación Cardiovascular* (RIC) and *Red de Terapia Celular*, and by *Becas Santander de Prácticas en PYMES*.

References

- [1] Gaziano T, Reddy KS, Paccaud F, et al. Cardiovascular Disease. Disease Control Priorities in Developing Countries. 2nd ed. Washington (DC): World Bank; 2006.
- [2] Rubio Guivernau JL, Ledesma Carbayo MJ, Arenal Maíz Á, et al. Do the spatial characteristics of myocardial scar tissue determine the risk of ventricular arrhythmias? *Cardiovasc Res.* 2012 Mar 1;94(10.1093/cvr/cvs113):324–32.
- [3] Wang B, Borazjani A, Tahai M, et al. Fabrication of cardiac patch with decellularized porcine myocardial scaffold and bone marrow mononuclear cells. *J Biomed Mater Res A.* 2010 Sep 15;94(4):1100–10.
- [4] Claycomb WC, Lanson NA, Stallworth BS, et al. HL-1 cells: a cardiac muscle cell line that contracts and retains phenotypic characteristics of the adult cardiomyocyte. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Mar 17;95(6):2979–84.
- [5] Lee P, Klos M, Bollensdorff C, et al. Simultaneous voltage and calcium mapping of genetically purified human induced pluripotent stem cell-derived cardiac myocyte monolayers. *Circ Res.* 2012 Jun 8;110(12):1556–63.
- [6] Sánchez PL, Fernández-Santos ME, Costanza S, et al. Acellular human heart matrix: A critical step toward whole heart grafts. *Biomaterials.* 2015 Aug;61:279–89.

Multichannel quadrature coherent demodulator for a portable time-domain OCT device

P. Guerra Gutierrez^{1,2}, J.J. Gómez Valverde¹, A. Martín Gómez³,
M.J. Ledesma Carbayo^{1,2}, J.L. Rubio Guivernau³, A. Santos Lleó^{1,2}

¹ Biomedical Image Technologies, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, Spain, pedro.guerra@upm.es

² CIBER-BBN, Madrid, Spain

³ MedLumics S.L. Tres Cantos, Spain, jlrbio@medlumics.com

Abstract

The high demands on energy consumption and data processing that face medical devices have boosted significant advances in real-time signal processing, filtering and massive parallel computing. In this context, we propose a novel design of a multichannel quadrature coherent demodulator included in the development of an innovative portable time-domain optical coherence tomography (OCT) device. Two aspects of the design are brought into consideration: the transformation of a conventional signal processing algorithm into an equivalent version that is suitable for hardware implementation and the use for high speed data transmission of on-chip modules originally developed for mass-electronics applications. The results show an adequate implementation for the demanding design constraints in terms of noise rejection, numerical accuracy and band selectivity.

1. Introduction

Medical devices have to become more powerful, energy efficient, faster and smarter, with the goal of providing newer functionalities that help saving money and improving patient care. Current advances in medical imaging for diagnosis and therapeutic applications are based on new instrumentation imaging technology and intensive image processing [1]. This applies to static and mobile medical devices such as compact ultrasound devices, complex tomographic imaging devices, medical tablets, personal computers (PC) or patient data monitoring systems. In many of these applications, it is required to acquire, process, move and display or store huge amounts of data in real time. At the same time, devices need to become more compact, energy efficient and cost effective in order to succeed in an increasingly mobile and wider field of application. Constraints are so demanding that usually dedicated electronic systems must be designed for the purpose.

In this work, we review the process of transforming a signal processing algorithm with application in optical coherence tomography into an architecture that is suitable for hardware implementation. We also discuss the architectural elements of modern programmable devices that allow high speed data streaming.

2. Optical Coherence Tomography

Optical Coherence Tomography (OCT) is a non-invasive imaging technique that falls in between ultrasound and

microscopy, with an axial resolutions ranging from 1 to 15 μ m, and penetration depth in tissue around 1.5 mm, limited by light scattering. OCT is a technique that can be integrated with a wide range of instruments such as endoscopes, catheters, laparoscopes, or needles, which enable internal body imaging [2].

OCT performs cross-sectional images (B-scans) of the tissue by measuring the magnitude and echo time of backscattered light along predefined lines (A-scan) using low-coherence interferometry, or white light interferometry. OCT provides information about the tissue microstructure, but it is also possible to extract information about movements, which is the case of blood flow. This functional extension of OCT has become known as optical Doppler tomography, colour Doppler OCT, or simply Doppler OCT (D-OCT) [3].

3. Architecture of a hand-held OCT probe

The system under consideration aims at developing a cost effective, reliable and compact optical biopsy tool for dermatology and point-of-care diagnosis. The system includes a pen-like OCT probe and an associate console on which the acquired images are to be displayed and analyzed. In this probe, the splitter and the reference arms have been implemented using integrated optics, while the external source and detectors are currently coupled with optical fibers. Thanks to the integration, the varying group delay in the reference arm of the Michelson interferometer is obtained by means of the thermo-optic effect of silicon [4]. This approach reduces the complexity, footprint and accurate mechanical adjustments needed in conventional time-domain OCT implementations, which resort to a tilting mirror and a grating to implement the delay line.

In our particular implementation of the delay line, several waveguides are integrated on the substrate to combine the reference light with the backscattered light and thus resolve contributions from a number of points at the sample [5]. The retrieval of the OCT information requires simultaneously demodulating the different contributions to reconstruct the image by sequentially scanning line after line. Currently, the integrated optics device enables the concurrent exploration of four different channels. The proposed architecture for OCT data retrieval, shown in Figure 1, includes one analog to digital converter (ADC),

four quadrature channels to demodulate the coherent signal and build the A-Scan line. Images are streamed to an external platform by a hardware implementation of the User Datagram Protocol (UDP), which is part of the internet protocol (IP) stack.

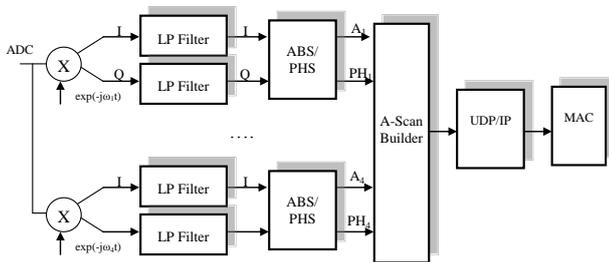


Figure 1: Proposed architecture for OCT data retrieval. Different channels are demodulated to build the A-Scan line. Images are streamed by a hardware implementation of the UDP/IP protocol.

Signal demodulation is achieved by direct down conversion of the OCT signal sections, taking into account the central frequency ω_i of the OCT signal, low-pass (LP) filtering of the inphase (I) and quadrature (Q) components to reject adjacent information and finally computing the amplitude (ABS) and phase (PHS) of the I/Q signals. Moreover, the high amount of data being acquired and the unidirectional direction of the flow justify the development of hardware accelerated implementation of the UDP/IP protocol stack. This HW-based processing module is able to sustain high data rates, above 800 Mbps, while keeping the overall system complexity moderate, avoiding the need of an additional microprocessor.

4. Implementation of the digital quadrature demodulation

The Digital signal processing (DSP) algorithms used to demodulate and build the OCT image are typically specified as infinite precision operations. Their actual implementation on a field programmable gate array (FPGA) relies on fixed-point approximations. One essential step of a top-down design flow is to determine the numerical accuracy at every signal node, namely the word-length, truncation mode and overflow mode, need to fulfil the constraints of the application. This is commonly referred to as floating-point to fixed-point conversion (FFC) problem. In the process of implementing a given algorithm into HW following a top-down design flow, we usually face two well defined stages: transforming the ideal algorithm into a functionally equivalent version that can be efficiently implemented (i.e. that only uses integer values to represent numbers), and determining the architecture, to maximize parallelism.

4.1. Floating to fixed point conversion rules

In the case of dedicated electronics, implemented with Application Specific Integrated Circuits (ASICs) or FPGAs, the implementation of a given algorithm with integer fixed-point arithmetic enables the implementation of highly parallel processing pipelines capable of massive

data processing. In order to represent a real number with fixed point, the number of fractional bits n and integer bits m has to be specified. This results in the well-known Q-notation where the integer value X with representation $Q(m_1, n_1)$ is used to represent the real number $Z = X * 2^{-n_1}$, being the total word length $w_i = n_1 + m_1 + 1$, where X is an integer represented in two's complement.

From a practical point of view, we have to point out that when implementing a signal processing algorithm in fixed point the $Q(m_1, n_1)$ representation is implicit, in the sense that the number of bits devoted to represent the fractional and integer part of a given variable are not automatically supported by the tool. That implies that, in order to perform arithmetic computations with numbers in fixed-point certain rules have to be taken into account manually to properly track the evolution of the fixed point representation after each operation.

To exemplify the fixed point conversion process, we will describe the development of an infinite impulse response (IIR) filter from specification to implementation.

4.2. Quadrature Receiver Implementation

The mixer is implemented as two tables, to store sine and cosine values, which are indexed using the phase value and a pair of multipliers. The phase value is incremented every clock cycle by a fixed amount to generate the oscillating signal with the desired frequency.

Multiple alternatives are possible to the implementation of a narrowband low pass or band pass filter. However, the filter order needed to achieve high frequency selectivity with a finite impulse response (FIR) approach is so high that other architectures, such as cascaded integrator-com (CIC) [6] filters or infinite impulse response (IIR) are chosen to provide a reasonable resource/performance trade-off. For a given frequency response it is well known that IIR filters can do with much less hardware resources than FIR filters but at the expense of a nonlinear phase response. Jackson et.al [7] showed that second-order sections (SOS) optimized in isolation and connected in cascade, called sectional optimal structures, perform very close to block optimal cascades.

4.3. Quadrature Receiver: Fixed point conversion

The ultimate goal is to implement a parameterized HDL block for IIR low pass filtering, which may be automatically generated with a high level tool, such as Matlab (The Mathworks, Natick, MA, USA) and synthesized into an FPGA. After considering alternative architectures, the decision was to implement the IIR structure as a cascade of biquadratic or second-order sections (SOS). The biquad implementation is particularly useful for fixed point implementations, as the effects of quantization and numerical stability are of no great concern. However, the overall success of any biquad implementation is dependent upon the available number precision, which must be sufficient enough in order to ensure that the quantized poles are always inside the unit circle.

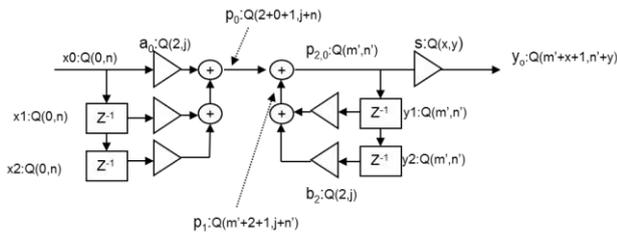


Figure 3: Fixed point analysis of the module. For the sake of clarity, we will assume that the scale factor and the representation after scaling is the same for all SOS modules. In our case, we have to specify the representation of the biquad output y_i , the internal representation $p_{2,i}$ as well as that of the scaling s and filter coefficients.

Next we perform the optimization analysis of an 8th-order Butterworth low-pass filter implementation with $W_n=0.1$. To evaluate the approximation goodness, the max relative error between the floating point implementation and fixed point implementation are compared at different points of the algorithm. Once the accuracy representation is determined, the analysis of the dynamic range at internal nodes helps us finding the number of integer bits that are required. After several simulations, we decided to constrain our internal representations to:

Node Name	Fixed Point Requirements
x_0	Q(0,12)
a_i	Q(2,11)
b_j	Q(2,11)
p_0	Q(3,23)
p_1	Q(12,15)
p_2	Q(9,4)
y_0	Q(0,8)

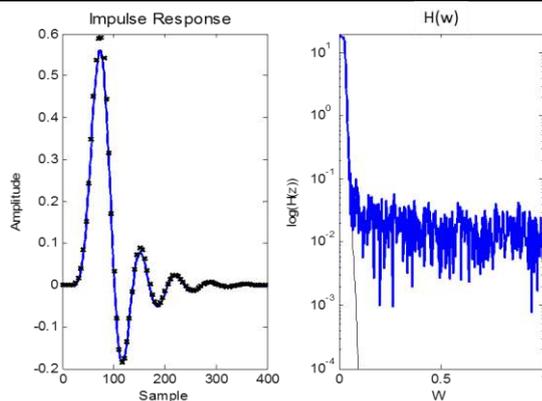


Figure 4: Floating point impulse response (black) vs fixed point counterpart (blue) in time (Left) and frequency (Right) domain in log-scale.

With these representations, the partial time response after each SOS shows no clear distortion due to quantization, and the global time and frequency responses, shown in Figure 4, shows that the final fixed-point implementation is very close to that of the ideal one.

4.4. Quadrature Receiver: Algorithm pipeline

The pipelining of the SOS module, shown in Figure 5, is straightforward: registers are inserted at regular points as shown in the following figure, which does not show fixed-point word length adjustment blocks. These intermediate registers reduce the combinational complexity between registers without affecting the numerical result and eases the automatic generation of high order filters as a cascade of this building block, at the cost of higher latency. According to synthesis results with an Artix-7 FPGA (Xilinx, Logic Drive, San Jose CA, USA), this architecture would support data processing with sampling rates up to 90 MHz, independently of the filter order thanks to pipelining.

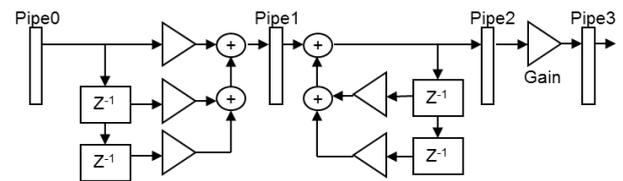


Figure 5: Block diagram of the pipelined biquad structure that is used as building block of the filter 8th order IIR low-pass filter used to select the OCT channel of interest.

4.5. Implementation of a UDP/IP HW module for high speed data streaming

In this context, a dedicated module has been implemented to send a continuous data flow over an Ethernet network using off-the-shelf components. Data is encapsulated as UDP datagrams, which are built by a hardware module in the FPGA and sent to user configurable destination ports.

This communication module connects to an on-chip medium access controller, that handles the interface with an external gigabit transceiver (88E1111, Marvell, Hamilton Bermuda). Additional connectivity to a microprocessor (uP) is provided to enable bidirectional communication with the acquisition system via software. Moreover, a light weight custom implementation of the ARP level is used by the module to determine the MAC address of the destination.

Input data, organized as lines, are buffered in a first-first out (FIFO) buffer. Whenever a full line is waiting for transmission, a finite state machine builds the datagram, including cyclic redundancy checks, transfers it to a second FIFO and request the MAC to start the transmission and sends data to the external gigabit transceiver. It has been measured that the module transfers the input data without any loss up to 800 Mbit/s.

5. Results

The implemented architecture is configured for four OCT demodulation channels, with central frequencies at 1.5, 1.7, 2.0, 2.3 MHz, spectral bandwidths of 90 kHz and a sampling rate of 12.5MHz. Low pass filters are designed to guarantee adjacent-channel rejection higher than 100 dB. Dimensioning the word sizes is carried out with this constraint in mind. As an example, Figure 6 shows the generation of the A-scan for the fourth reception channel,

including the evolution of the digital signals at different stages of the demodulation process.

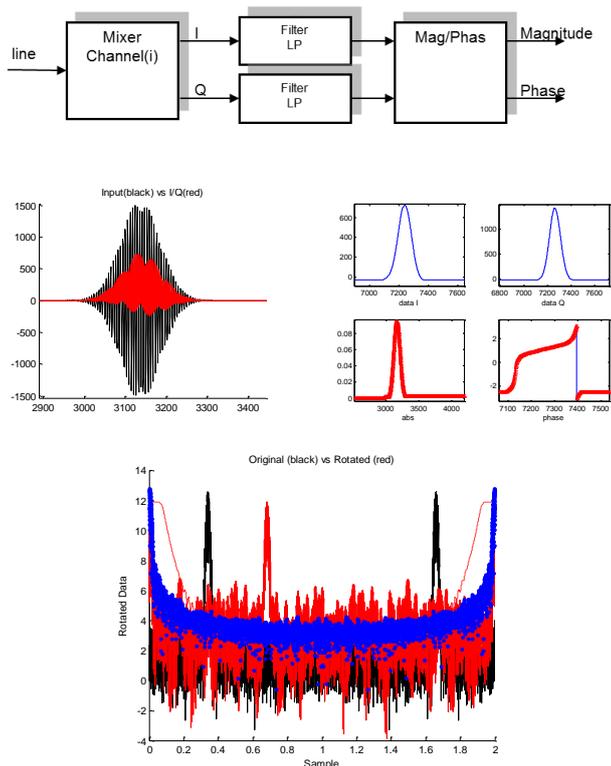


Figure 6: Diagram showing the generation of the A-scan for the 4th reception channel. These data are obtained simulating the behavior of synthesizable description of the hardware that is to be implemented in the FPGA.

In the previous diagram the demodulator steps needed to produce A-scan line are shown. The information from each channel, properly multiplexed and synchronized in time with the exploration control signals, enable the composition of a B-scan image, as shown in Figure 7. Currently, the system is configured for the generation of 850 lines per second, yielding 1 B-scan image per second, with size 850x512 pixels.

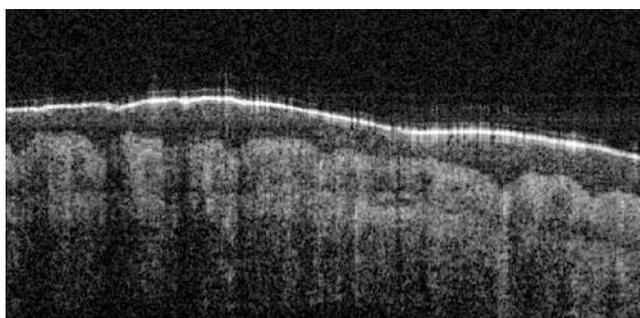


Figure 7: B-scan raw OCT image of the skin, resulting from the direct composition of A-scan lines without further post-processing.

6. Conclusions

The design of a portable time-domain optical coherence tomography (OCT) probe has been made possible by the development of an innovative technology of integrated optics. As part of this compact OCT system, a module for multi-channel coherent demodulation of the interferometric signals has been specified and implemented. Significant effort has been needed in the front-end processing to meet the demanding design constraints in terms of noise rejection, numerical accuracy and band selectivity. The processing hardware core has been highly parameterized, so that the complete module can be automatically generated with the aid of a scripting tool. Currently, the probe already produces high quality images of the skin. However future generations of the integrated optical device will demand for even sharper filters that may require new processing architectures. In this line, multirate techniques may provide a viable approach to further narrow the pass band without compromising filter stability.

Acknowledgments

This work was supported by the European Union through the FP7 project BiopsyPen and the European Fund for Regional Development (FEDER). We also acknowledge the Spanish Ministry of Science and Innovation, currently integrated in the Ministry of Economy, for their support under grants IPT-300000-2010-003 and the Comunidad de Madrid for their grant TOPUS P2013/MIT-3024

References

- [1] T. M. Deserno, H. Handels, K. H. Maier-Hein, S. Mersmann, C. Palm, T. Tolxdorff, G. Wagenknecht, and T. Wittenberg, "Viewpoints on Medical Image Processing: From Science to Application," *Current medical imaging reviews*, vol. 9, no. 2, pp. 79, 2013.
- [2] W. Drexler, and J. G. Fujimoto, *Optical coherence tomography: technology and applications*: Springer, 2008.
- [3] V. X. Yang, I. A. Vitkin, E. Regar, T. G. v. Leeuwen, and P. W. Serruys, "Principles of Doppler OCT," *Optical Coherence Tomography in Cardiovascular Research*, I. Healthcare, ed., 2007.
- [4] M. Geljon, E. Margallo-Balbas, G. Pandraud, D. H. B. Wicaksono, and P. J. French, "Time-domain Optical Coherence Tomography system with integrated delay line for surgical guidance applications." pp. 3017-3020.
- [5] J. Rubio-Guivernau, and E. Margallo-balbas, *Patent application 20130201485 "Flexible Waveguides for Optical Coherence Tomography"*, to Medlumics SL, 2013.
- [6] E. Hogenauer, "An economical class of digital filters for decimation and interpolation," *Acoustics, Speech and Signal Processing, IEEE Transactions on*, vol. 29, no. 2, pp. 155-162, 1981.
- [7] L. B. Jackson, "Roundoff noise bounds derived from coefficient sensitivities for digital filters," *Circuits and Systems, IEEE Transactions on*, vol. 23, no. 8, pp. 481-485, 1976.

Pósters 3

Viernes 6 de Noviembre

Incorporación de tablets y smartphones en la adquisición de destrezas psicomotoras en cirugía de mínima invasión. Validación preliminar

L.F. Sánchez-Peralta¹, J.C. Gómez-Blanco¹, J.B. Pagador¹, S. Enciso²,
F.J. Pérez Duarte², F.M. Sánchez-Margallo³

¹ Unidad de Bioingeniería y Tecnologías Sanitarias, Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España,
{lfsanchez, jcgomez, jbpagador}@ccmijesususon.com

² Unidad de Laparoscopia, Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España,
{senciso, fperez}@ccmijesususon.com

³ Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España,
msanchez@ccmijesususon.com

Resumen

Debido a las características de las intervenciones de cirugía de mínima invasión (CMI), es necesario que los cirujanos lleven a cabo un proceso formativo especializado. En las primeras etapas, es habitual emplear simuladores físicos que permitan adquirir las destrezas psicomotoras necesarias en un entorno seguro y reproducible. Por otro lado, el uso de las tablets y smartphones se encuentra ampliamente extendido y se emplean cada vez más en entornos quirúrgicos. El presente trabajo muestra la validación preliminar de dos configuraciones que permiten incorporar las tablets y/o smartphones para la formación de destrezas quirúrgicas. Para ello, 6 cirujanos realizaron tareas de corte y sutura en pletinas en el simulador físico SIMULAP® (configuración A), en un atril con mástil para tablet (configuración B) y en un atril para la tablet (configuración C). Se llevó a cabo un cuestionario de preguntas en escala Likert para evaluar características técnicas y dos cirujanos evaluaron de forma ciega las suturas mediante un checklist validado y específico. Las características técnicas de la configuración C fueron las mejor valoradas, mientras que no se encontraron diferencias significativas en la utilidad como herramienta formativa de las diferentes configuraciones. Tras analizar la calidad de las suturas realizadas mediante un checklist, no se encontraron diferencias significativas. Por tanto, se puede concluir que las configuraciones propuestas en las que se incorporan tablets y smartphones permiten el entrenamiento quirúrgico de forma similar a un simulador físico tradicional.

1. Motivación

La cirugía de mínima invasión (CMI) se ha establecido como práctica habitual en multitud de procedimientos quirúrgicos. No obstante, este tipo de intervenciones requiere la adquisición de una serie de destrezas, especialmente psicomotoras, que son radicalmente diferentes a las requeridas en una cirugía abierta y que en ningún caso son transferibles. Este hecho pone de manifiesto la necesidad de programas formativos especializados. Especialmente en las primeras etapas formativas, el entrenamiento se lleva a cabo en simuladores quirúrgicos (físicos, virtuales o híbridos) puesto que proporcionan un entorno seguro en el que el cirujano en formación puede cometer errores sin poner en compromiso la seguridad del paciente [1].

La alta carga asistencial junto con las directivas europeas que marcan las limitaciones en cuanto a tiempo de trabajo reducen de manera considerable el tiempo disponible para la formación de los residentes en el entorno laboral [2]. Por tanto, proporcionarles herramientas formativas que les permitan entrenar en una mayor cantidad de entornos, no solo en centros formativos y el hospital, sino por ejemplo en casa, les permitiría potenciar el aprendizaje deliberado [3] y acortar la curva de aprendizaje de estas destrezas psicomotoras [4].

Por otro lado, el uso de tecnologías TICs, tales como tablets y smartphones, se está extendiendo ampliamente en contextos pre-, intra- y postoperatorios [5], tendencia que es de esperar continúe en aumento debido a que los usuarios, pertenecientes a la generación Y (nacidos entre 1980 y 2000) y habituados a las TICs, tienen gran disposición a incluirlas en cualquier aspecto de sus vidas, especialmente para la formación profesional [6].

Por tanto, el objetivo de este trabajo es la validación preliminar de dos configuraciones de simulador físico que permiten la utilización de tablets y smartphones para la adquisición de destrezas psicomotoras en CMI.

2. Material y métodos

2.1. Participantes

Para el estudio se contó con la participación de 6 cirujanos (2 hombres, 4 mujeres) con experiencia en cirugía de mínima invasión. Todos los participantes en el estudio eran diestros, a excepción de un ambidiestro.

Todas las pruebas se llevaron a cabo en el Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón (Cáceres-España). Todos los participantes tenían amplia experiencia en el manejo de la cámara laparoscópica y como ayudantes (más de 100 intervenciones). Como cirujanos principales, la experiencia variaba entre 11 y 50 intervenciones (1 participante), entre 51 y 100 intervenciones (2 participantes) y más de 100 intervenciones (3 participantes).



Figura 1. De izquierda a derecha: 1) Configuración A; 2) Configuración B; 3) Configuración C.

2.2. Metodología

Se establecieron tres configuraciones diferentes (Figura 1) en las que todos los participantes tuvieron que realizar un corte y una sutura en pletina, tanto en el lado izquierdo como derecho.

- *Configuración A*: simulador SIMULAP®, empleado habitualmente en formación.
- *Configuración B*: soporte en forma de atril junto con mástil. Tablet Samsung Galaxy Note 10.1 versión 2014 actuando como monitor y móvil Samsung Galaxy S5 actuando como cámara. En esta configuración, ambos dispositivos están conectados mediante la aplicación “SideSync 3.0”, de tal modo que la imagen del móvil se transmite en tiempo real a la tablet.
- *Configuración C*: soporte en forma de atril y tablet Samsung Galaxy Note 10.1 versión 2014 actuando como monitor y cámara.

El coste de las configuraciones B y C se estima entre 8 y 10 veces inferior al coste de la configuración A.

2.3. Cuestionario

Tras la realización de las suturas en las tres configuraciones, los usuarios completaron un cuestionario compuesto de 3 bloques principales. En primer lugar, una serie de cuestiones demográficas para determinar su perfil quirúrgico. En el segundo bloque se les solicitó puntuar una serie de características para cada una de las tres configuraciones con una escala Likert de 5 puntos (muy buena = 5; muy mala = 1).

El último bloque comprendía preguntas sobre la preferencia de configuraciones:

- Teniendo en cuenta la relación calidad/precio
- Recomendada para usuarios individuales
- Recomendada para hospitales y/o centros de formación especializada.

La última pregunta valora la importancia de que los parámetros de la cámara sean configurables para poder ajustar la imagen a las preferencias del usuario.

2.4. Evaluación objetiva de la sutura

Dos evaluadores independientes y de manera ciega determinaron la calidad de las suturas realizadas en las pletinas de corte en cada una de las tres configuraciones del estudio a partir de las grabaciones de vídeo de las suturas realizadas. Para ello se empleó un checklist definido por Moorthy *et al.* [7] que incluye 29 ítems divididos en 6 categorías. Cada ítem se puntúa con 1 ó 0, por lo que la valoración máxima son 29 puntos.

2.5. Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa SPSS (versión 15.0 para Windows, SPSS Inc., Chicago, IL). Los datos se expresan en términos de media±desviación estándar. Los resultados de las cuestiones de escala Likert de las tres configuraciones y las puntuaciones medias de las suturas se compararon usando el test de Friedman. Para determinar entre qué grupos existían diferencias significativas se aplicó el test de los signos de Wilcoxon. Se consideraron diferencias significativas si $p \leq 0.05$.

3. Resultados

3.1. Cuestionario

Los resultados de valoración de las diferentes características de las tres configuraciones se muestran en la Tabla 1. De manera global, podemos observar que mientras que la configuración B es la que peor resultados obtiene, la mejor valorada es la configuración C. En los parámetros en los que existen diferencias significativas entre las tres configuraciones, se deben en todos los casos a la comparativa de la configuración C con alguna de las otras dos configuraciones. Por otro lado, las configuraciones A y B no son significativamente diferentes en ningún caso.

Todos los participantes indicaron que la configuración C es mejor teniendo en cuenta la relación calidad/precio, así como en recomendarla para usuarios individuales. Por otro lado, no existe unanimidad respecto a la configuración más recomendable para hospitales y/o centros formativos (Figura 2).

Característica	Conf. A	Conf. B	Conf. C	p-valor ¹	p-valor ² A-B	p-valor ² A-C	p-valor ² B-C
Valoración global	3.67±0.75	2.83±0.75	4.5±0.55	0.007*	0.059	0.059	0.026*
Calidad de imagen	3.33±1.03	2.67±1.03	4.50±0.55	0.013*	0.334	0.066	0.024*
Facilidad de transporte	2.50±0.89	4.00±0.89	4.83±0.41	0.013*	0.066	0.023*	0.129
Facilidad de uso	3.83±0.52	3.33±0.52	4.50±0.55	0.021*	0.180	0.157	0.020*
Uso fuera del quirófano	2.83±0.75	4.17±0.75	4.67±0.52	0.024*	0.063	0.034*	0.257
Rango de movimiento del instrumental	4.67±0.75	3.67±0.82	4.00±0.63	0.024*	0.063	0.046*	0.157
Utilidad para la adquisición de destrezas básicas	4.83±0.75	4.17±0.75	4.67±0.52	0.174	0.102	0.564	0.18
Colocación de los puertos de acceso	4.67±1.17	3.83±1.17	4.33±0.82	0.472	0.197	0.414	0.317
Parámetros de cámara configurables	3.17±0.84	4.00±0.63	5.00±0.00	0.009*	0.102	0.039*	0.034*

Tabla 1. Puntuaciones de las diferentes características evaluadas para las 3 configuraciones propuestas.

¹ test de Friedman – significancia para las diferencias entre las 3 configuraciones

² test de Wilcoxon – significancia para las diferencias entre los pares de configuraciones indicados

Por último, 5 usuarios estimaron que la posibilidad de configurar los parámetros de la cámara para ajustar la imagen a sus preferencias es una característica esencial de un simulador, y sólo uno indicó que es recomendable que cuenten con esa característica.

3.2. Evaluación objetiva de la sutura

De las 36 suturas realizadas se analizaron 35, ya que surgieron problemas técnicos en la grabación de una de ellas. La Tabla 2 recoge la media de las 35 puntuaciones dadas por cada uno de los dos evaluadores, así como el índice α de Cronbach que indica una correlación intraclass aceptable (cerca a 0.8). Las puntuaciones medias de las suturas en cada lado de las pletinas y en cada una de las configuraciones consideradas se incluyen en la Tabla 3. Tras analizar estadísticamente las puntuaciones, no se encontraron diferencias significativas entre las puntuaciones obtenidas en cada una de las configuraciones ($p=0.358$ en el test de Friedman).

4. Discusión

Los beneficios de la CMI están ampliamente demostrados en muchos procedimientos quirúrgicos, y puesto que requieren una serie de destrezas psicomotoras específicas, hacen necesario que los cirujanos lleven a cabo programas de formación específicos. En las primeras fases del proceso formativo es habitual emplear simuladores físicos que permitan el entrenamiento en entornos seguros y reproducibles. Además, el nivel de penetración de tablets y smartphones en nuestra sociedad hace posible que se estén empleando en multitud de facetas, entre las que se incluye el ámbito quirúrgico, tanto operatorio como formativo. Este trabajo presenta diferentes diseños que permiten emplear tablets y smartphones para la adquisición de destrezas psicomotoras básicas en CMI.

Las tres configuraciones obtuvieron puntuaciones globales positivas, siendo la configuración C la mejor

valorada de las tres, incluso superior al simulador habitualmente empleado en formación. Yoon et al presentaron un diseño en el que el iPad se localiza en una configuración similar a la configuración C del presente trabajo, pero colocándose los puertos de acceso a ambos lados de la pantalla. En dicho trabajo, el uso del iPad obtuvo valoraciones inferiores a un simulador físico tradicional [8]. La divergencia en los resultados pueden deberse a diferencias morfológicas en ambos diseños, tales como altura, posición de la pantalla respecto a los puntos de acceso o ángulo de inclinación de la pantalla. Del mismo modo, características técnicas, como la calidad de imagen, o de diseño, como la facilidad de transporte o la posibilidad de usarlo en entornos no quirúrgicos, fueron significativamente mejor valoradas para la configuración B. Pese a ser la configuración que menos se parece al entorno quirúrgico, puesto que no dispone de un monitor a la altura de los ojos, su utilidad como herramienta formativa, así como la similitud en la colocación de los puertos de accesos se valora de manera similar a las configuraciones A y B. Estas dos últimas configuraciones replican de manera más realista la situación de trabajo durante una intervención de CMI.

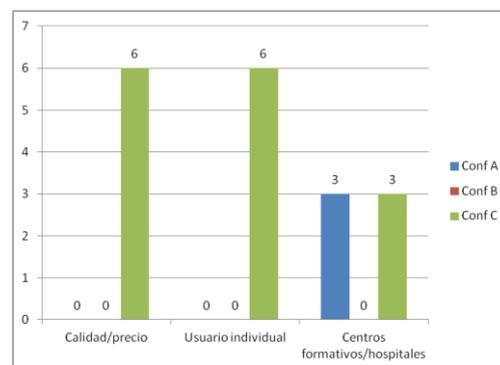


Figura 2. Configuración elegida en cada una de las situaciones indicadas (valores absolutos).

Evaluador	Media de puntuaciones	α Cronbach
1	26.85±1.50	0.791
2	26.37±1.99	

Tabla 2. Media de las 35 puntuaciones dadas por cada uno de los dos evaluadores e índice α de Cronbach.

Conf	Lado	Puntuación media por lado	Puntuación media por configuración
A	Derecho	26.42±2.46	26.75±1.91
	Izquierdo	27.08±1.32	
B	Derecho	26.17±2.21	26.29±1.72
	Izquierdo	26.42±1.28	
C	Derecho	27.30±0.84†	26.82±1.10
	Izquierdo	26.42±1.20	

Tabla 3. Puntuaciones medias en cada uno de los lados para cada una de las configuraciones analizadas
† media calculada con un valor menos.

Por último, el manejo de la cámara de la tablet como cámara y monitor facilita la variación de los parámetros de cámara para ajustar la imagen a las preferencias del usuario, característica evaluada positivamente y que debe estar presente en un simulador físico. Puesto que no se han encontrado diferencias en la percepción de la utilidad como herramienta formativa de cada una de las configuraciones planteadas, la elección de una u otra radica principalmente en el coste de cada una de ellas.

Puesto que la configuración C es la que mejor coste tiene, es la que los usuarios consideran que dispone de mejor relación calidad/precio y la que además, recomendarían a usuarios individuales para la adquisición de destrezas psicomotoras básicas. Además, la posibilidad de transportar fácilmente el sistema les permitiría ampliar el abanico de localizaciones en las que llevar a cabo el entrenamiento. En hospitales y/o centros formativos, además de la tradicional configuración A, este nuevo diseño también podría tener cabida de acuerdo con los cirujanos participantes en el estudio.

Los cirujanos presentan un nivel de destrezas similar en todas las configuraciones, por lo que se puede determinar que los nuevos diseños (configuración B y C) permiten trabajar de forma similar al sistema de entrenamiento habitual (configuración A). Como se ha mencionado anteriormente, son las configuraciones A y B las que replican en mayor manera el entorno de quirófano donde se trabaja con un monitor levemente por debajo de la línea de visión. Por el contrario en la configuración C, la vista se dirige en la misma dirección en la que se encuentra el campo de trabajo, lo que mentalmente facilita la

percepción y orientación espacial [9]. Puesto que estos diseños están orientados a las primeras etapas del proceso formativo, será en niveles más avanzados en los que el usuario pueda perfeccionar las destrezas en entornos más similares a los reales, tales como intervenciones sobre modelo animal.

De manera general se puede observar que la configuración B es la que peores resultados ha obtenido. Esto puede deberse a que por limitaciones en el diseño, el móvil debía ser colocado en posición vertical, por lo que no se aprovechaba completamente la imagen para mostrar el campo de trabajo. Por tanto, como trabajo futuro se trabajará en la mejora de los diseños, su estética y materiales, así como la realización de estudios ergonómicos que permitan analizar la idoneidad de cada uno de ellos.

5. Conclusiones

Por tanto, se puede concluir que las configuraciones propuestas permiten el entrenamiento de destrezas psicomotoras básicas en condiciones similares a las de un simulador físico tradicional, mejorando ciertas características técnicas, y empleando dispositivos como las tablets y smartphones, ampliamente extendidos en la comunidad quirúrgica.

Referencias

- [1] Usón J *et al.* Formación en cirugía laparoscópica paso a paso, 2013 (ISBN: 978-84-616-5363-8)
- [2] Kavic MS. Teaching and Training Surgery to the Next Generation of Surgeons. *Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons*. Vol 18, 2011, pp 279-81
- [3] Alderson D. Developing expertise in surgery. *Medical teacher*, vol 32, 2010, pp 830-6
- [4] Sánchez-Peralta LF *et al.* Learning curves of basic laparoscopic psychomotor skills in SINERGIA VR simulator. *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery*, 2012, vol 7, pp 881-9
- [5] Mobasheri MH *et al.* The uses of smartphones and tablet devices in surgery: A systematic review of the literature. *Surgery*. 2015 May 9 [Epub ahead of print]
- [6] Schlitzkus, LL *et al.* Is your residency program ready for Generation Y? *Journal of surgical education*, vol 67, 2010, pp 108-11 (ISSN: 0022-4804)
- [7] Moorthy K *et al.* Bimodal assessment of laparoscopic suturing skills: construct and concurrent validity. *Surgical Endoscopy*. Vol 18, 2004, pp 1608-12
- [8] Yoon R *et al.* Development of a novel iPad-based laparoscopic trainer and comparison with a standard laparoscopic trainer for basic laparoscopic skills testing. *Journal of Surgical Education*, 2015, vol 72, pp. 41-6
- [9] Matern U *et al.* Monitor position in laparoscopic surgery. *Surgical Endoscopy*, vol 19, 2005, pp 436-40.

Molecular Wires for the Improvement of DNA Electrochemical Sensors.

J. P. Valero¹, S. Bacena Dulay¹, W. A. Pardo¹, M. Mir^{1,2}, J. Samitier^{1,2,3}

¹ Nanobioengineering Laboratory, Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Barcelona, Spain.
jperez@ibecbarcelona.eu, sdulay@ibecbarcelona.eu, wapardo@ibecbarcelona.eu, mmir@ibecbarcelona.eu, jsamitier@ibecbarcelona.eu

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

³ Department of Electronics, Barcelona University (UB), Barcelona, Spain.

Abstract

Electrochemical DNA sensors bring many advantages of transduction such as low cost and miniaturisation; however, important drawback as the low current of some redox reporters limits their application.

The aim of this research was to demonstrate the powerful features of molecular wires, in particular the case of S-[4-[2-[4-(2-Phenylethynyl)phenyl]ethynyl]phenyl] thiol, as enhancer of ferrocene electron transfer detection in co-immobilized self-assembled monolayers (SAMs). In this work, electron transfer from the ferrocene-motifs of immobilized molecules towards the electrode surface was studied and found to show higher rate constants (k_{ET}), around 10 fold increase, in the presence of the molecular wires. To prove their potential in further applications, the system has been tested in electrochemical DNA detection biosensors, showing the higher current and electron transfer on the platforms containing the molecular wire and the better disposition between the ferrocene and the wire with C_{12} DNA linkers.

1. Introduction.

In recent years, there have been intensive research efforts in the field of DNA electrochemical biosensors seeking designs to provide better analytical characteristics in terms of sensitivity, selectivity, reliability, ease of fabrication and use, and lower limits of detection. The performance of DNA biosensors is dependent on the overall efficiency on the principles of hybridisation between surface immobilised nucleic acids and target complementary sequences and it is well established that the surface chemistry is a critical factor [1] including electrochemical detection of electroactive species into electrode's surfaces making of central interest, especially in the field of biosensing for forensic or clinical analysis from detecting, diagnosing and treatment of infectious and genetic diseases [2].

Conventionally, there are two main methods applied for DNA detection: a) Optical and/or b) electrical methods. One of the optical methods that are frequently used is the fluorescence, which has been widely used due to its well established sensitivity, but its optical transduction is costly [3].

Another technique that uses optical methods is the surface plasmon resonance spectroscopy (SPR) that can provide excellent signal-to-noise ratios and at the same time offer

a dynamic range of detection. Additionally, surface coverage area for any immobilised molecules can be calculated with this technique providing information about monolayer formation, adsorption/desorption kinetics and interaction events [4]. Albeit this technique is highly sensitive and provides much information, it is costly and needs skilled personnel to run the instrument.

Electrochemical DNA biosensors have more advantages over other transduction methods obtaining a direct electronic detection of the signal, with no further transduction required, reducing the cost and the size of the devices [5]. Although, the redox enzyme labels are the ones that provide higher signal amplification, the enzymes are unstable under certain temperature and cannot be directly used in PCR primers and their use requires the addition of the enzyme substrate and a mediator. Ferrocene based molecules have been widely used as redox molecule reporters in commercial sensors [6], [7] due to its well-established chemistry and being attractive as reagentless electrochemical detection. In addition, ferrocene is a neutral compounds stable in the presence of water and air making it very interesting for biological applications. It has high reversible redox systems that can be switched from ferrocene to ferrocinium cation at low potentials [8]. However, low current signal has been reported due to the lone electron obtained from ferrocene during redox reaction that has to be transferred to the electrode surface in the most efficient way to allow detection.

In this paper, the improvement of the platform with molecular wires has been considered in order to enhance the transduction of the ferrocene detection. In this case, the electrode surface for some electrodes was modified with 6-Mercaptohexanol as a blocking agent and S-[4-[2-[4-(2-Phenylethynyl)phenyl]ethynyl]phenyl] thiol acting as the molecular wire helps in the transport of ferrocene electron to the electrode by means of its π orbitals in the aromatics. Different molecules have been studied as bridges to favour the electron transfer being the most studied ones oligo(phenyleneethynylenes) (OPEs) and oligo(phenylenevinylenes) (OPVs) [7], [9]. However, their application in DNA biosensors is still in its early stages and fewer examples are reported [5], [6].

Therefore, the other aim of this work was to improve the electron transfer rate constant by means of the molecular wire from the ferrocene-labelled complementary DNA strands hybridized with the co-immobilized complementary DNA sequences on the working electrode.

2. Results and discussion.

2.1. Electron transfer of FcThiol through the Molecular Wire.

To test the feasibility of using this molecular wire to improve the electron transfer of ferrocene labels, a mixed monolayer of a thiolated ferrocene molecule with the molecular wire was prepared. Its performance was detected electrochemically and the monolayer, characterised with SPR. Cyclic voltammetry (CV) measurements were used to test the performance of both monolayers, the results obtained are plot in figure 1.

In these measurements the oxidation and reduction voltages of the redox solution is observed by an increase of the positive and negative current at these voltages. The potential is scanned starting from the lowest potential and past the $E^{0'}$ to a point at which the current returns to baseline, then the scan direction is reversed and taken to the starting potential values. Ideally in the case of ferrocene and other reversible redox solutions, the scans should result in reversible electrochemical responses when both reduced and oxidized forms of the redox motifs are strongly adsorbed on the electrode showing symmetric peaks and a linear relation between the peak current and the scan rate.

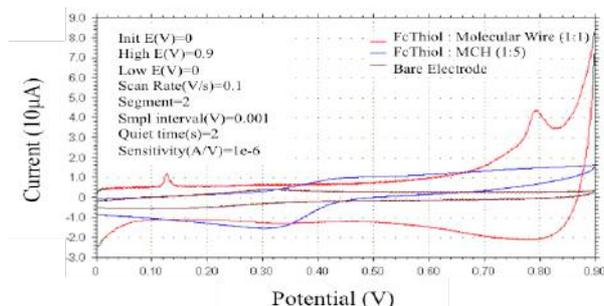


Figure 1. Cyclic voltammetry scans on gold BVT chips functionalized with: FcThiol : molecular wire mixed monolayer (red) and FcThiol : MCH mixed monolayer (blue), Bare electrode CV scan is shown in brown as negative control. CV parameters are shown on top left corner of the image.

The redox peaks described for ferrocene redox reaction are between 0.2 and 0.6 V [8], although depending on the likers to which it is attached on the surface this range may experience a shift. This is exactly what it can be observed in fig. 1. Remarkably, in the case of the mixed monolayer of FcThiol with the molecular wire the peak is interestingly shifted to values of potential between 0.7 and 0.85 V becoming both sharper and showing higher values of current. These results provided a confirmation of the influence of the molecular wire in the enhancement of the signal detection in redox active self-assembled monolayers.

In order to characterize the self-assembled monolayer formation, the immobilization of both FcThiol and molecular wire were followed by SPR. Kinetic and static measurements were performed on NTB fabricated chips. Successful immobilization of the molecular wire was observed as a remarkable change on the angle. From these experiments also the surface coverage in each event of immobilization or hybridization can be calculated using the experimentally determined relationship shown in Eq (1), obtained by experimental results done in Max Planck Institute [10].

$$\text{Eq. (1)} \quad \Gamma = \frac{\Delta\theta}{0.19}$$

The surface coverage for the FcThiol immobilization was 0.42 ng/mm² and final value for the mixed monolayer was 7.53 ng/mm². Considering the 3-D structure of the studied molecules, the theoretical coverage of each of them can be calculated. Considering a FcThiol molecular diameter of 0.66 nm, a rough estimation of the theoretical coverage for a monolayer of this molecule is 1.47 ng/mm². If the same is done for the molecular wire, with a diameter of 0.46 nm, a value of 3.52 ng/mm² is obtained. Although, the theoretical values of surface coverage are only a rough estimation, give us an image of what can expect in experimental results, obtaining similar relations.

From the SPR scans fitting a thickness value of 0.91 nm was obtained for the FcThiol layer that coincide with the theoretical value, so a well organised monolayer was obtained after its incubation. Meanwhile, a thickness of 3.18 nm for the immobilization of the molecular wire was obtained, which, considering the length of 1.18 nm expected from a monolayer of these molecules, lead consider the formation of a bilayer or a monolayer with adsorbed molecules onto the immobilized ones. Several kinds of defects have been described as possible in monolayers formations such as pinholes, islands and domains and their formation is especially favoured when metallic surfaces are not perfectly flat [11]. Monolayer packing can be also affected by the tilt angle of the molecules, in particular, alkane thiols exhibit a tilt angle of approximately 30° with respect to the surface normal [7]. The beginning of the self-assembled monolayer starts with some molecules laying flat in the surface that will align according to the molecular axis as the concentration increases in their surroundings. Nevertheless, some molecules will remain horizontally flat giving rise to monolayer defects that turn into different local environments. Steric repulsion between different types of molecules in mixed monolayers also play an important role and for these the ratio between immobilized molecules is not trivial. These differences in local environments affect the electron transfer phenomena and cause differences on the possible observed scan rates.

The surface plasmon resonance equipment included an electrochemical cell and a potentiostat that allowed performing electrochemical experiments at the same time as the SPR kinetic measurements were running. CV

technique was used to measure the rate of electron transfer (k_{ET}), which is the most important property to evaluate the molecular wire performance. For this purpose is considered next equation:

$$\text{Eq. (2)} \quad K_{ET} = \frac{\alpha n F v_c}{RT} = (1 - \alpha) \frac{n F v_a}{RT}$$

Published in 1979 [12] E. Laviron proposed a mathematical method to determine the k_{ET} from only the experimental data required in Eq. (3); being the scan rate (v) of a CV the difference between peak potential E_p and the formal potential of the complex (E^0). The redox potential (E^0) comes from the average of the anodic and cathodic peak potentials, E_{pa} and E_{pc} respectively, and the peak separation (ΔE_p) is calculated by $E_{pa} - E_{pc}$.

$$\text{Eq. (3)} \quad v = E_p - E^0$$

K_{app} value for overall redox reaction can be calculated from the average value of anodic and cathodic apparent rate constants. Potentials were applied from 0 up to 1 V at different scan rates: 5,50,100,200,500,1000 and 2000 mV/s. Following Laviron proposed method [12], peak-to-peak separation was plotted vs $\ln v$, where we can calculate α and K_{ET} . Figure 3 shows results corresponding to the FcThiol monolayer preparation (blue) and the mixed monolayer of it with the molecular wire selected (red). It can be clearly seen the differences in the slopes between both lines that is a reflection of the almost ten times increase (9.24 fold) on the electron transfer rate constant that the experiment with the molecular wire showed when compared to the FcThiol alone, which show us the efficient performance of the chosen molecular wire for the improvement of ferrocene electron transfer.

2.2. Application: DNA sensor electron transfer improvement.

Considering the effects that the local environment, steric repulsions and distance may have in the electron transfer from the ferrocene labels to the electrode, two different linkers for the DNA capture probe, that left ferrocene moiety at different distances to the electrode and the molecular wire, were considered in the design of the monolayers and were used as they came from Biomers.net.

As the single strand DNA tries to bind to the complementary sequence, the molecule turns itself into different directions to allow the generation of the hydrogen bonds. Therefore, the fact that one of the molecules is anchored to a substrate and that the linker might provide few additional movement grades can influence in these events.

Thiol-C₃-DNA linker

DropSens gold sensors were used to perform these electrochemical experiments with thiol-C₃-DNA modified electrode. Representative results are shown in figure 2 where it can be seen that, for the mixed monolayer containing the wire, it is easier to observe the

peaks, giving a sharper scan, and as happened in the direct measure of FcThiol and the molecular wire, peaks are also shifted and presented between 0,5 and 0,7 V.

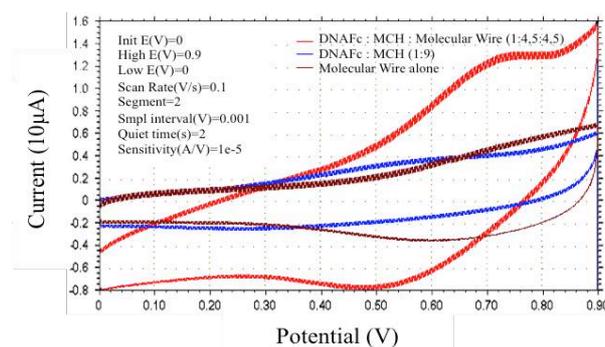


Figure 2. Cyclic voltammetry scans on gold DropSens sensors functionalized with: DNAFc : MCH : molecular wire mixed monolayer (red) and DNAFc : MCH mixed monolayer (blue).

Brown scan corresponds to the signal from a sensor functionalized with a monolayer of Molecular Wire (1 mM). CV parameters are shown on top left corner of the image.

The same molecular wire mixed monolayer with ferrocene hybridized DNA was carried with the SPR equipment. From the fitting of the SPR scans a thickness value of 1.7 nm for the immobilization of the thiolated DNA with the molecular wire is obtained; which, considering the expected length of the DNA of 7.4 nm, lead to consider the fact that the monolayer is no covering the entire surface of the chip or that the DNA molecules are tilted and laying rather than forming a packed layer.

These results can be used to obtain the surface coverage that turned to be 1.16 ng/mm² for the first step and 1.48 ng/mm² after the hybridization. These values are smaller than the ones obtained with the FcThiol experiment, which was expected as smaller molecules have fewer restrictions than DNA molecules forming double helix complexes.

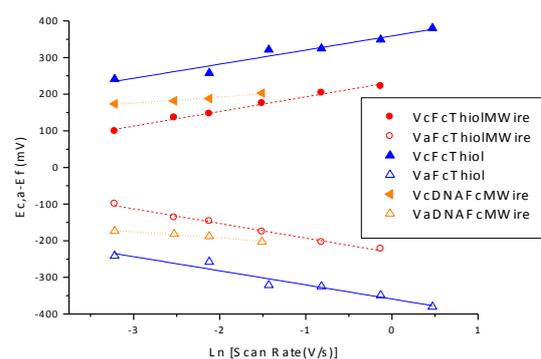


Figure 3. $E_{c,a} - E_f$ vs $\ln(\text{Scan rate})$ for experiments on monolayers of FcThiol alone (blue), mixed monolayers of FcThiol with molecular wire (red) and DNA hybridization detection experiments with Fc labels and molecular wires (orange).

CVs were carried at different scan rates. Values of electron transfer rate constant were obtained following Laviron method and for this design of surface

functionalization lay with similar slope as the obtained with the mixed monolayer of FcThiol with the molecular wire, showing similar electron transfer performance. Further studies should include testing the DNAFc complex alone to be able to compare them with the already obtained results.

Tioctic-C₁₂-DNA linker

Gold arrays fabricated with photolithography techniques were used to perform the experiments with thioctic-C₁₂-DNA. Results from the corresponding electrochemical characterization with CV are shown in figure 4. Peaks appear clearly and sharpened between 0.7 and 0.82 V for the electrode without wire and between 0.7 and 0.78 V only in the case of the monolayer that contains molecular wire.

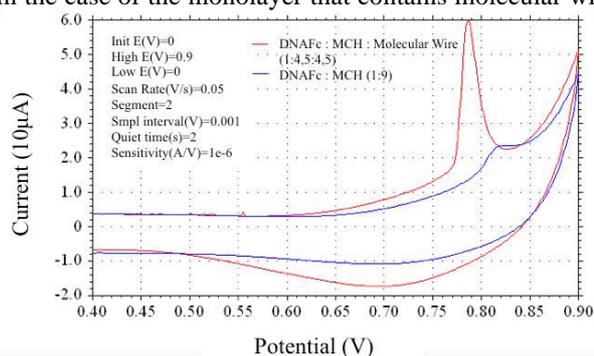


Figure 4. Cyclic voltammetry scans on gold photolithographed chips functionalized with: DNAFc:MCH:molecular wire mixed monolayer (red) and DNAFc:MCH mixed monolayer (blue). CV parameters are shown on top left corner of the image.

As in the previous experiments, the incorporation of the molecular wire to the mixed monolayer allowed higher currents, so better detection and shortened the peak-to-peak separation, making the peaks sharpened.

3. Conclusion

The molecular wire studied in this project offers a great potential for the improvement of ferrocene signal detection and have been proved as being also a useful tool for signal amplification of electrochemical DNA biosensors. The ease of preparation for including them in a mixed monolayer format allows their use in already implemented platforms as no additional treatment such as bindings or other interactions or reagents are required. From the tested FcThiol molecular wire mixed monolayer platforms an increase of 10 fold of electron transfer constant is observed due to the presence of the molecular wire used in the monolayer. In the case of electrochemical DNA biosensors we can appreciate also a clear benefit in the use of the molecular wire inside the sensor monolayer. Clear differences were obtained between both platforms, demonstrating the importance of the linker used in the capture probe immobilization.

Acknowledgement

This work was funded by the project OLIGOCODES from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness MAT2012-38573-C02 and CIBER-BBN. CIBER Actions and financed by the Instituto de Salud Carlos III with assistance from the

European Regional Development Fund.

References

- [1] I. Y. Gooding, J.J., Lai, L. M. H., and Goon, "Nanostructured electrodes with unique properties for biological and other applications," *Chem. Modif. electrodes*, vol. 11, pp. 1–56, 2009.
- [2] J. Wang, G. Liu, and A. Merkoi, "Electrochemical Coding Technology for Simultaneous Detection of Multiple DNA Targets Electrochemical Coding Technology for Simultaneous Detection of Multiple DNA Targets," *Society*, pp. 3214–3215, 2003.
- [3] T. M. Swager, "The Molecular Wire Approach to Sensory Signal Amplification," *Acc. Chem. Res.*, vol. 31, pp. 201–207, 1998.
- [4] C. Boozer, G. Kim, S. Cong, H. Guan, and T. Londergan, "Looking towards label-free biomolecular interaction analysis in a high-throughput format: a review of new surface plasmon resonance technologies.," *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 17, no. 4, pp. 400–5, Aug. 2006.
- [5] T. G. Drummond, M. G. Hill, and J. K. Barton, "Electrochemical DNA sensors.," *Nat. Biotechnol.*, vol. 21, no. 10, pp. 1192–9, Oct. 2003.
- [6] R. M. Umek, S. W. Lin, J. Vielmetter, R. H. Terbrueggen, B. Irvine, C. J. Yu, J. F. Kayyem, H. Yowanto, G. F. Blackburn, D. H. Farkas, and Y. P. Chen, "Electronic detection of nucleic acids: a versatile platform for molecular diagnostics.," *J. Mol. Diagn.*, 2001.
- [7] A. L. Eckermann, D. J. Feld, J. A. Shaw, and T. J. Meade, "Electrochemistry of redox-active self-assembled monolayers," *Coordination Chemistry Reviews*. 2010.
- [8] B. Seiwert and U. Karst, "Ferrocene-based derivatization in analytical chemistry," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2008.
- [9] B. Ulgut and H. D. Abruña, "Electron transfer through molecules and assemblies at electrode surfaces," *Chemical Reviews*. 2008.
- [10] O. Azzaroni, A. Marta, M. Mir, B. Yameen, W. Knoll, "Redox Mediation and Electron Transfer through Supramolecular Arrays of Ferrocene-Labeled Streptavidin on Biotinylated Gold Electrodes" 2008.
- [11] J. C. Love, L. A. Estroff, J. K. Kriebel, R. G. Nuzzo, and G. M. Whitesides, "Self-assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology.," *Chem. Rev.*, Apr. 2005.
- [12] E. Laviron, "General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems," *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.*, 1979.

Propuesta y validación de un transmisor IBC basado en acoplamiento galvánico para el análisis del canal corporal

D. Naranjo-Hernández¹, A. Callejón-Leblic¹, L.M. Roa-Romero¹, L.J. Reina-Tosina^{2,1}

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Sevilla y CIBER-BBN, Sevilla, España, {dnaranjo@us.es, amparocallejon@gmail.com, lroa@us.es, jreina@us.es}

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

Resumen

En el presente trabajo se realiza una primera aproximación al diseño de un transmisor IBC basado en acoplamiento galvánico. El diseño propuesto es lo suficientemente flexible como para permitir el análisis de la respuesta en frecuencia del canal corporal de cara a la optimización de futuros desarrollos. El prototipo de transmisor IBC ha sido validado mediante una serie de experimentos los cuales han permitido analizar las prestaciones del mismo así como otros aspectos relacionados con la atenuación de la señal en función de la frecuencia, la distancia entre los electrodos transmisores y receptores y su posición en diferentes regiones corporales.

1. Introducción

La transmisión de señales eléctricas empleando el cuerpo humano como un medio de comunicación, denominada originalmente como Intrabody Communication (IBC) [1], ha despertado un gran interés en los últimos años [2]. Un ámbito de aplicación de IBC es la monitorización ubicua de variables fisiológicas por medio de redes inalámbricas de sensores corporales [2]. Como los tejidos corporales tienen una alta conductividad, la transmisión de datos puede ser realizada mediante señales de baja potencia, que pueden ser transmitidas a frecuencias menores evitando el uso de antenas [3]. Como consecuencia, se obtiene una reducción del consumo de energía y una minimización del tamaño de los dispositivos [3]. Además, como la señal está confinada principalmente en la superficie del cuerpo humano, el sistema de comunicación es más robusto frente a interferencias externas. Estas ventajas han servido para que IBC haya sido incluida como la tercera capa física del estándar IEEE 802.15.6 para redes inalámbricas de ámbito corporal [4], designándose en este caso como Human Body Communication (HBC).

Los métodos de transmisión IBC pueden ser clasificados en dos tipos: el acoplamiento capacitivo y el acoplamiento galvánico [5]. En el acoplamiento capacitivo la señal es transmitida mediante un bucle cerrado el cual está formado por el electrodo transmisor, el canal corporal, el electrodo receptor y el camino capacitivo de retorno a través de la tierra externa. El acoplamiento galvánico se basa en una transferencia de señal entre la unidad transmisora y la unidad receptora por acoplamiento de corrientes en el interior del cuerpo humano.

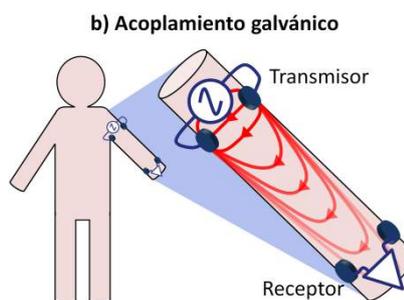
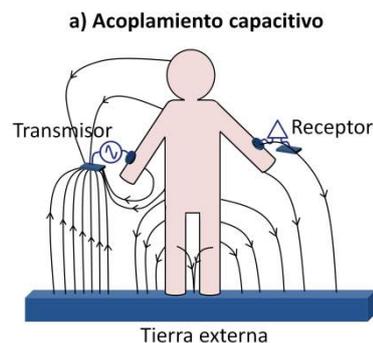


Figura 1. Esquemas de sistemas de comunicaciones IBC basados en acoplamiento capacitivo y acoplamiento galvánico.

La Figura 1 muestra una representación esquemática de ambos métodos de transmisión. Comparado con el método de acoplamiento capacitivo, los fundamentos del acoplamiento galvánico lo hacen libre de la influencia de los efectos derivados de distintas referencias de tierra y del entorno externo, proporcionándole una mayor adaptabilidad y estabilidad [5]. El acoplamiento galvánico se presenta así como un prometedor enfoque en las comunicaciones inalámbricas entre sensores situados sobre el cuerpo [6], pero también para la comunicación con implantes [7].

En los últimos años la investigación de diseños de transceptores para aplicaciones de IBC en general, y del acoplamiento galvánico en particular, ha despertado un gran interés [6]. En general, pueden encontrarse dos diseños fundamentales en acoplamiento galvánico: por un lado están los transceptores IBC basados en la modulación digital paso de banda (BPSK, FSK [7], QPSK [6], FSDT [8]), y por otro los sistemas basados en transmisiones digitales en banda base [7]. Sin embargo,

teniendo en cuenta las limitaciones del canal corporal y las características particulares de los diferentes tejidos en el dominio de la frecuencia, la transmisión directa de señales digitales no siempre es adecuada para el envío de señales por el canal corporal, ya que la tensión o potencia necesaria puede llegar a ser elevada [9]. Los transceptores IBC paso de banda hacen uso de moduladores [6]-[8], sin embargo, no se conocen aún las frecuencias de transmisión óptimas, en parte porque la mayoría de diseñadores optan por un transmisor en una única frecuencia en función de las tecnologías disponibles.

Muchas de las características del canal corporal, tales como la función de transferencia aún no han estudiadas completamente [6]. Teniendo en cuenta que la comprensión de las características del canal corporal juega un papel crucial en un diseño de un transceptor IBC, el estudio de la atenuación de la señal debe tener una importancia significativa [9]. Sin embargo, la mayoría de los transceptores propuestos en la literatura son circuitos integrados a medida que no pueden ser modificados directamente en el caso de realizar mejoras funcionales. Se echan en falta diseños flexibles y adaptables que puedan ser empleados en el estudio y optimización de la capa física del canal corporal de cara a futuros desarrollos [6].

En el presente trabajo se realiza una primera aproximación al diseño de un transmisor IBC basado en acoplamiento galvánico. El diseño propuesto es lo suficientemente flexible como para permitir el análisis de las características frecuenciales del canal corporal, pero también para permitir su configuración y adaptación para un funcionamiento optimizado en función de los resultados obtenidos. La solución propuesta favorece el diseño de bajo coste mediante el empleo de componentes genéricos de propósito general, y un diseño abierto que facilita la incorporación de posibles mejoras funcionales y estructurales. Finalmente se exponen los resultados obtenidos en unos primeros experimentos utilizando el dispositivo propuesto que analizan la respuesta en frecuencia en diferentes regiones corporales.

2. Materiales y métodos

2.1. Diseño de un transceptor IBC para acoplamiento galvánico

La Figura 2 muestra una representación esquemática del transmisor propuesto. En este primer diseño el transmisor de señal consistió en un dispositivo portable alimentado por batería capaz de generar una señal de corriente senoidal de amplitud constante. La base del dispositivo es un módulo de síntesis digital directa de frecuencias (DDS, del inglés Direct Digital Synthesizer), que puede generar cualquier frecuencia comprendida entre 25 MHz y 0.19 Hz, con una resolución de 0.19 Hz y una estabilidad de 40 ppm. La frecuencia y la fase de la señal generada son controladas a través de una interfaz de datos serie desde un microcontrolador (PIC18LF2431 de Microchip), el cual se encuentra también implementado en el mismo dispositivo. Este esquema dota de gran flexibilidad al transmisor para generar señales de diferente frecuencia.

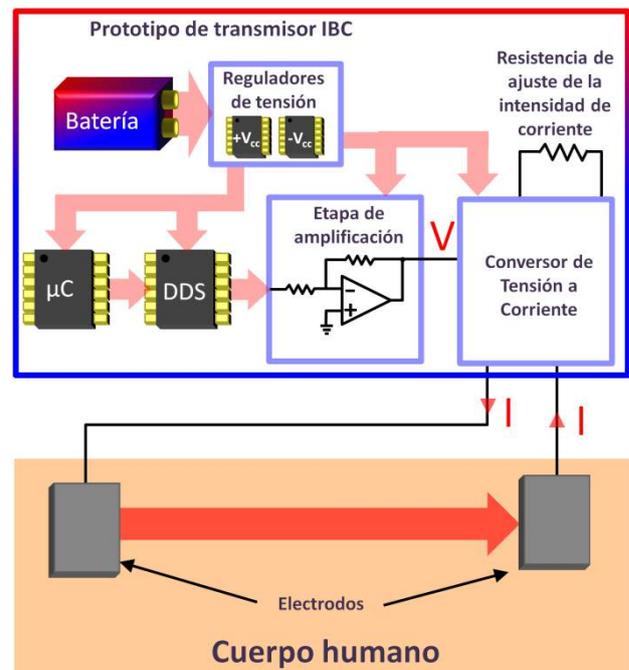


Figura 2. Esquema del transmisor IBC propuesto para acoplamiento galvánico.

Una línea de entrada al DDS, también controlada por el microcontrolador, permite configurarlo en un modo de baja energía, en el que se suspende la operación del dispositivo y se anula el proceso de generación de señal. Esta posibilidad puede emplearse para implementar un esquema de modulación ASK binaria “todo o nada”. Los saltos bruscos en la señal debido al muestreo digital son suavizados a través de un filtro paso de baja con una frecuencia de corte lo suficientemente elevada como para no afectar a las señales generadas. La siguiente etapa del dispositivo es una etapa de amplificación basada en amplificadores operacionales cuyo propósito es aislar al DDS de la influencia de las etapas sucesivas, elevando también su amplitud, ya que la señal de salida del DDS tiene un valor muy pequeño (alrededor de 0.6 Vpp). Finalmente, una última etapa realiza la conversión de la tensión en una corriente de amplitud constante, la cual es inyectada en el cuerpo humano mediante dos electrodos. Una resistencia permite controlar la amplitud de la corriente inyectada por el dispositivo.

2.2. Estudio experimental de evaluación del transceptor IBC

Para evaluar la viabilidad técnica y funcional del dispositivo se realizaron una serie de experimentos sobre un voluntario varón de 36 años de edad, 100 kg de peso y 180 cm de altura. La resistencia del convertor de tensión a corriente fue fijada para obtener 1 mA de corriente eficaz, y dentro del rango de seguridad para dispositivos de experimentación [10] (20 veces por debajo del límite establecido para la corriente de contacto [11] en esta clase de experimentos). El transmisor fue programado para generar de forma secuencial las siguientes frecuencias: 100 kHz, 200 kHz, 400 kHz, 600 kHz, 800 kHz y 1000 kHz. La pulsación de un botón en el prototipo servía para lanzar los saltos de frecuencia en la secuencia

programada. Esto permitió realizar un primer análisis de la respuesta en frecuencia del método de transmisión basado en acoplamiento galvánico con el propósito de localizar el rango óptimo de operación del dispositivo.

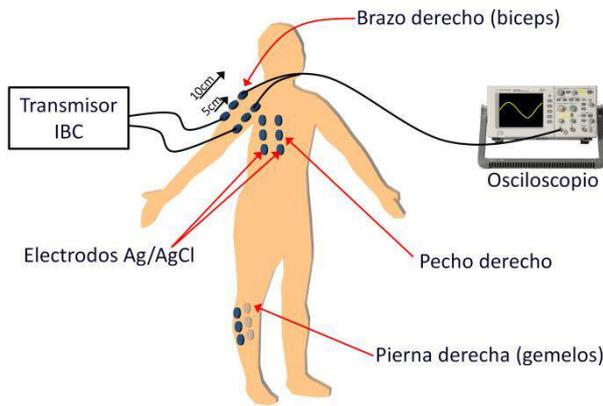


Figura 3. Diagrama del montaje experimental.

La Figura 3 muestra una representación esquematizada de la posición de los diferentes elementos en los experimentos realizados en el estudio de validación del transmisor IBC. La señal generada fue inyectada en el cuerpo del voluntario mediante dos electrodos Ag/AgCl con hidrogel no polarizables de 22.5 x 26.5 mm. La distancia de separación entre los electrodos fue de 5 cm, los cuales estaban enfrentados entre sí por la parte más estrecha. Se probaron a su vez tres posiciones diferentes para los electrodos: brazo derecho a la altura del músculo biceps, pecho derecho a la altura del músculo pectoral y pierna derecha a la altura del músculo gastrocnemio o gemelos. Con un osciloscopio MSO6032A de Agilent se midió la tensión generada en bornas de los electrodos (señal transmitida) y la tensión recibida en otros dos electrodos equivalentes a los de transmisión, separados 5 cm entre sí y situados en dos configuraciones diferentes: a 5 cm y 10 cm de los electrodos transmisores.

Estos experimentos permitieron realizar un primer análisis sobre la influencia de la posición de los electrodos en diferentes partes del cuerpo, así como otros aspectos relacionados con la atenuación de la señal en función de la distancia entre los electrodos transmisores y receptores.

3. Resultados experimentales del transmisor IBC

La Figura 4 muestra las tensiones medidas con osciloscopio (tensión pico a pico) en las diferentes posiciones consideradas (brazo derecho a la altura del músculo biceps, pecho derecho a la altura del músculo pectoral y pierna derecha a la altura del músculo gastrocnemio) para una corriente inyectada de 1 mA eficaz. También se muestran los resultados para las dos distancias consideradas en los experimentos (5 y 10 cm) de separación entre los electrodos transmisores y los electrodos de recepción. Como era previsible, la amplitud de la señal disminuye a medida que aumenta la distancia. Las señales con mayor amplitud fueron obtenidas en el pecho. El valor de tensión recibida es estable con la frecuencia, salvo en el rango comprendido entre 100 kHz

y 200 kHz, donde la tensión medida tiene un valor mayor. De acuerdo con los resultados obtenidos, la frecuencia de 100 kHz se considera como la más adecuada dentro del rango estudiado (100 kHz a 1 MHz) para realizar una transmisión mediante acoplamiento galvánico.

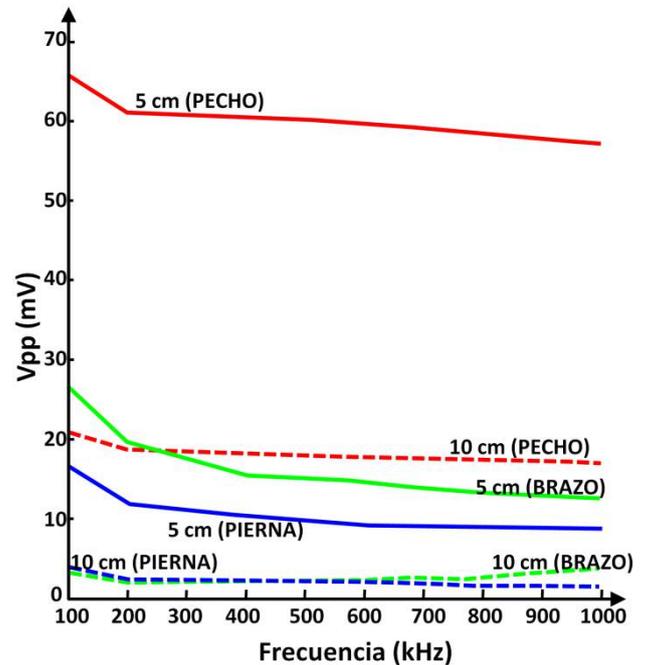


Figura 4. Tensiones medidas en los electrodos de recepción.

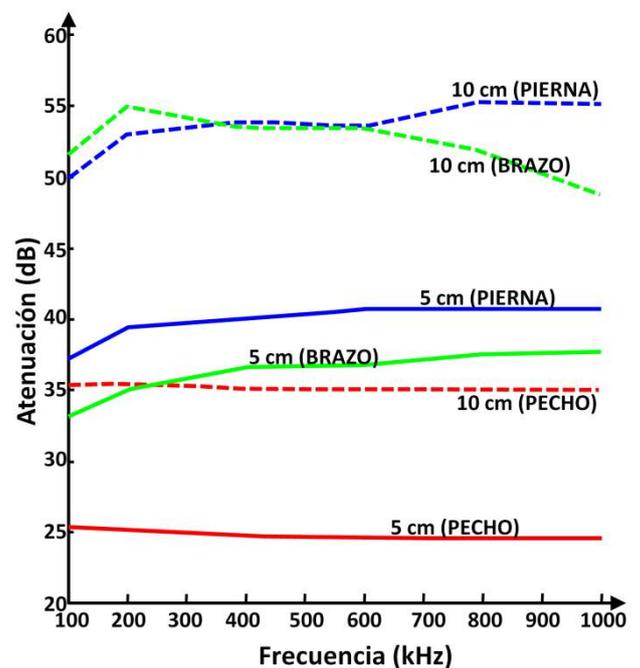


Figura 5. Atenuación en la señal recibida.

La Figura 5 muestra la atenuación de la señal en las posiciones anteriores respecto de la tensión generada por el prototipo del transceptor IBC para acoplamiento galvánico en los electrodos de transmisión, la cual fue medida también con el osciloscopio. De acuerdo con los resultados obtenidos, la atenuación de la señal tiene una

respuesta aproximadamente constante con la frecuencia en las diferentes posiciones de los electrodos y para las diferentes distancias observadas. La atenuación crece a medida que aumenta la distancia. En media, se observa un incremento en la atenuación de 10 a 15 dB cuando la distancia de los electrodos de recepción pasa de 5 a 10 cm. En las medidas realizadas en brazos y piernas se observa una disminución de la atenuación en el rango comprendido de 100 kHz a 200 kHz, siendo la atenuación más baja la correspondiente a 100 kHz. La atenuación en el pecho sin embargo tiene una respuesta constante con la frecuencia y es de valor mucho más bajo que la de brazos y piernas. A 10 cm de distancia la atenuación en el pecho es menor que la atenuación a 5 cm en brazos y piernas.

4. Conclusiones

Se ha realizado la investigación y una primera aproximación al diseño de un transmisor IBC basado en acoplamiento galvánico. Dicho transmisor podrá ser empleado como base en el desarrollo de las comunicaciones inalámbricas de dispositivos y sensores que se encuentran desplegados sobre la superficie corporal. En este sentido, su ámbito de aplicación presenta un abanico amplio de posibilidades, desde la monitorización continua de variables fisiológicas a través de sensores biomédicos portables, al control inalámbrico de dispositivos actuadores que generen algún tipo de respuesta sobre la persona monitorizada, como por ejemplo las bombas dispensadoras de medicamentos. Por otro lado, como los flujos de corriente generados por el acoplamiento galvánico pueden penetrar hacia tejidos internos, el dispositivo propuesto también podría ser empleado para la comunicación con sensores y dispositivos implantados.

El diseño propuesto proporciona la suficiente flexibilidad como para permitir el análisis de la capa física del canal corporal de cara a futuros desarrollos. A partir de dicho diseño se realizó un primer prototipo de transceptor IBC sobre el que se realizaron una serie de experimentos para analizar las prestaciones del dispositivo. Se analizó también la influencia de la posición de los electrodos si se consideran diferentes regiones corporales y otros aspectos relacionados con la atenuación de la señal en función de la frecuencia y la distancia entre los electrodos transmisores y receptores.

Los resultados obtenidos han servido para validar de forma técnica y funcional el diseño realizado como una primera aproximación a un transmisor IBC para acoplamiento galvánico en aplicaciones de sensores biomédicos situados en el tórax o a corta distancia en las extremidades en el rango de frecuencias de comunicación de 100 KHz a 1 MHz, siendo la frecuencia de 100 kHz la más adecuada en el rango analizado para el desarrollo de las comunicaciones. Por otro lado y como líneas futuras de investigación y desarrollo, los resultados obtenidos muestran la necesidad de realizar estudios más amplios sobre la respuesta en frecuencia de las transmisiones mediante acoplamiento galvánico por debajo de 100 kHz.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en parte por la Consejería de Economía, Innovación y Ciencia, Gobierno de Andalucía, bajo los proyectos P08-TIC-04069, P10-TIC-6214 y PI-0010-2013, en parte por el Fondo de Investigaciones Sanitarias, Instituto de Salud Carlos III, bajo los proyectos PI082023 y PI11/00111, en parte por el CIBER-BBN bajo los proyectos DIAB-Support, PLADEBACT y NEUROMON y en parte por la Asociación de Neumología y Cirugía Torácica del Sur (NEUMOSUR).

Referencias

- [1] T. G. Zimmerman, "Personal area networks: near-field intrabody communication," *IBM Systems Journal*, vol. 35, no. 3-4, pp. 609-617, 1996.
- [2] M. Seyedi et al, "A survey on intrabody communications for body area network applications," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 60, no. 8, pp. 2067-2079, Aug. 2013.
- [3] J. Bae et al, "A 0.24-nJ/b wireless body-area-network transceiver with scalable double-FSK modulation," *IEEE J. Solid-State Circuits*, vol.47, no.1, pp. 310,322, Jan. 2012.
- [4] Página web de Task Group 6 IEEE 802.15. Body area networks (BAN). <http://www.ieee802.org/15/pub/TG6.html> (Consultada: Septiembre 2015).
- [5] J.-W. He, Y.-M. Gao, S.H. Pun, P.U. Mak, M.I. Vai, "A transceiver designed for intra-body communication of body area networks," in *Proceedings of the 6th International ICST Conference on Body Area Networks*, pp. 67-70, 2012.
- [6] M. Wang, Z. Wang, J. Li, F. Wan, "Architectural hardware design of modulator and demodulator for galvanic coupling intra-body communication," in *Proceedings of the 7th Biomedical Engineering International Conference*, 2015.
- [7] Z. Cai, M. Seyedi, D.T.H. Lai, F. Rivet, "Characteristics of baseband digital signal transmission for intrabody communications," in *Proceedings of the IEEE Instrumentation and Measurement Technology Conference*, pp. 186-190, 2014.
- [8] C.-H. Hyoung, J.-H. Hwang, S.-W. Kang, S.-O. Park, Y.-T. Kim, "A Feasibility Study on the Adoption of Human Body Communication for Medical Service," *IEEE Trans. Circuits Syst. II Express Briefs*, vol. 62, no. 2, pp. 169-173, 2015.
- [9] M. Seyedi, B. Kibret, D.T.H. Lai, M. Faulkner, "An empirical comparison of limb joint effects on capacitive and galvanic coupled intra-body communications," in *Proceedings of the 8th International Conference on Intelligent Sensors, Sensor Networks and Information Processing: Sensing the Future*, pp. 213-218, 2013.
- [10] International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection ICNIRP, "Guidelines for limiting exposure to timevarying electric, magnetic and electromagnetic fields (up to 300 GHz)," *Health Physics*, vol. 74, no. 4, pp. 494-522, 1998.
- [11] Y. Gao, R. Ma, S. Pun, P. Mak, M. Vai, "Measurement system with experiments for galvanic coupling type intra-body communication," in *Proceedings of the 5th International Conference on Biomedical Engineering and Informatics*, pp. 761-764, 2012.

Avances en el diagnóstico de la discapacidad auditiva: Técnica de la Audiometría por Microfónicos Cocleares

N. Félix González^{1,2,3}, O. Casanova Carvajal¹, C. Sánchez López de Pablo^{1,3}, L. Blas Narváez¹, M. F. Padilla¹, J.J. Serrano Olmedo^{1,3}

¹ Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid. *nazario.felix, oscar.casanova, cristina.sanchez, josejavier.serrano@ctb.upm.es*

² Departamento de Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid. *nfelix@ing.uc3m.es*

³ Centro de Investigaciones Biomédicas en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Zaragoza, España

Resumen

Los problemas de audición que hacen necesario el uso de audífonos afectan a todo tipo de personas, pero especialmente a aquellas que presentan dificultades para realizar la audiometría tonal subjetiva por su falta de colaboración en la prueba. La inexistencia de pruebas de audiometría objetivas equivalente a la tonal da lugar a un impreciso diagnóstico y a un dudoso tratamiento. Los microfónicos cocleares son señales eléctricas producidas por las células ciliadas internas y externas al estímulo de la presión sonora vibrátil del sonido. La determinación de la audición hasta la cóclea inclusive permite separar los problemas de audición según su origen: los debidos a patologías existentes hasta la cóclea, parte de ésta incluida, y los debidos a patologías que afectan desde este tejido hasta el córtex. En este trabajo se exponen los avances obtenidos en el Laboratorio de Bioinstrumentación y Nanomedicina del Centro de Tecnología Biomédica de la UPM. Se ha demostrado que la señal eléctrica es una función de la presión sonora, a mayor presión mayor amplitud de la señal registrada. Comprobación del Recruitment con el equipo experimental de laboratorio, que la técnica de los MC es en realidad una medida objetiva de la pérdida auditiva y que es posible diseñar un nuevo prototipo más sensible capaz de registrar los microfónicos cocleares en humanos.

1. Introducción

Los problemas de audición que hacen necesario el uso de audífonos afectan a todo tipo de personas, pero especialmente a aquellas que presentan dificultades para realizar la audiometría tonal subjetiva por su falta de colaboración en la prueba. Esto afecta a personas mayores que padecen demencia, a bebés de pocos meses, a niños de corta edad cuya colaboración no es fácil de obtener, y a otros grupos de personas con distintos trastornos mentales que también imposibilitan la colaboración efectiva. La inexistencia de pruebas de audiometría objetivas equivalente a la tonal da lugar a un impreciso diagnóstico y a un dudoso tratamiento en personas que de otro modo podrían corregir su pérdida auditiva para una mejor calidad de vida. En caso de ancianos esto podría acelerar el desarrollo de la demencia como consecuencia de la agudización del aislamiento a que la propia demencia los

somete. En el caso de niños, retrasa su maduración intelectual y lingüística con todos los problemas que ello puede acarrear para el resto de su vida, ya que a partir de unos 4 años, el retraso causa consecuencias casi irreversibles.

La distinción de las pérdidas de audición en el audiograma por frecuencias atiende al comportamiento de la cóclea, en el oído interno, en concreto del órgano de Corti, donde las células ciliadas internas y externas producen una transducción de la presión sonora vibrátil del sonido en señales eléctricas que imitan las señales sonoras. Se denominan señales microfónicas cocleares porque, hasta cierto punto, su comportamiento es análogo al de un micrófono convencional que produce señales eléctricas con proporcionalidad a las señales sonoras [1].

Si bien el comportamiento de la cóclea en este punto es conocido en esencia desde hace muchos años, todavía no se tiene una comprensión totalmente detallada de su funcionamiento y es objeto de investigación [1,2,3] así como de generación de modelos que ayuden a comprenderlo [4-9]. Las señales microfónicas cocleares o MC son los primeros potenciales evocados por la estimulación sonora. Diversos potenciales evocados se van sucediendo como transformación de unos en otros a lo largo de los diferentes subsistemas de la cóclea y el nervio auditivo hasta la corteza auditiva. La detección de los potenciales evocados por la estimulación sonora a distintas latencias, es decir, transcurridos determinados lapsos de tiempo desde el estímulo sonoro, permite obtener registros con patrones de actividad eléctrica característicos de cada parte del sistema auditivo [1,10]. Así, un audiograma patológico puede obedecer a distintas causas, que se pueden clasificar en dos grandes grupos, la que determinan una mala transmisión mecánica del sonido hasta el órgano de Corti incluidas las que determinan la deficiente transducción mencionada en este órgano, o la imposibilidad de transmisión de las señales eléctricas hasta el córtex auditivo [11].

La determinación de la audición hasta la cóclea inclusive permite separar los problemas de audición según su origen: los debidos a patologías existentes hasta la cóclea, parte de ésta incluida, y los debidos a patologías que afectan desde este tejido hasta el córtex.

En este trabajo se exponen los avances obtenidos en el Laboratorio de Bioinstrumentación y Nanomedicina del Centro de Tecnología Biomédica de la UPM en cuanto al uso de la técnica de registro de microfónicos cocleares para la obtención de audiometrías objetivas en ratones de laboratorio.

2. Metodología

Para la validación de la técnica de audiometría por microfónico cocleares, se diseñó y desarrolló un equipo experimental para el registro de estas señales bioeléctricas en ratones.

2.1. Equipo de Adquisición

El equipo se diseñó para registrar la señal eléctrica de la cóclea con electrodos de inserción cuando se excita el oído externo con un tono puro que puede ser de 250Hz, 500Hz, 1KHz, 2KHz, 4KHz, 8KHz, 12KHz y 18KHz y cuya potencia sonora puede ser controlada en múltiplos de 10dB a partir de los 30dB y hasta los 120dB.

La Figura 1 muestra el diagrama a bloques del equipo experimental empleado para la adquisición de los microfónicos cocleares en ratones.

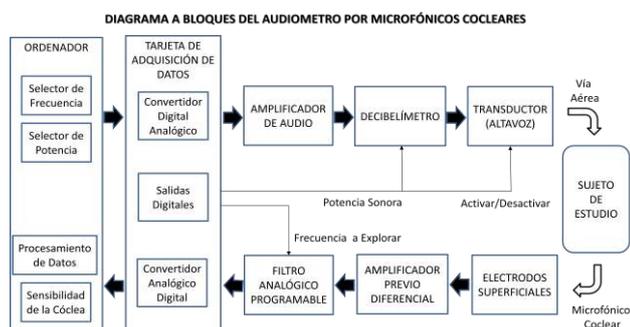


Figura 1. Diagrama a bloques del audiómetro por microfónicos cocleares.

2.2. Experimentación

Para la validación de la técnica de audiometría por microfónicos cocleares se empleó el siguiente protocolo de experimentación:

- Anestesia del ratón a través de inyección peritoneal.
- Intervalo de espera de aproximadamente 10 minutos necesario para que la anestesia surta efecto.
- Colocación de unos conos auditivos en cada pabellón auditivo para canalizar la onda sonora al oído medio del ratón.
- Colocación de electrodos de aguja previamente fabricados en el laboratorio.

- Comprobación de la impedancia eléctrica entre los electrodos para garantizar una correcta colocación de los mismos.
- Se realizaron tres medidas por cada frecuencia (1K, 2K, 4K Hz) a diferentes potencia de la presión sonora (80, 90, 100, 110 dB).
- Registro de la señal MC mediante el software de control.
- Registro de por lo menos tres medidas de cada oído por ratón a distintas frecuencias.

La Figura 2 muestra el montaje experimental para la adquisición de los microfónicos cocleares en ratones.

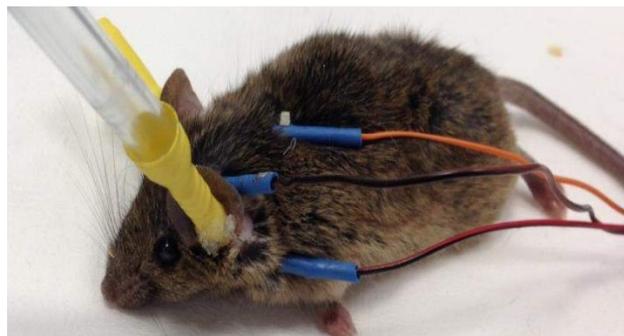


Figura 2. Experimentación. Ratón con los electrodos de aguja para el registro de las señales MC.

Se realizaron las audiometrías de tres diferentes poblaciones de ratones de la sepa 5XFAD de laboratorios Jackson (5 jóvenes, 5 intermedios y 5 ancianos).

3. Resultados

La siguiente figura muestra los audiogramas obtenidos a un conjunto de ratones de tres diferentes poblaciones. Debido a que la audición en los ratones responde mejor a frecuencias altas, los registros se realizaron para las frecuencias de 1K, 2K y 4KHz.

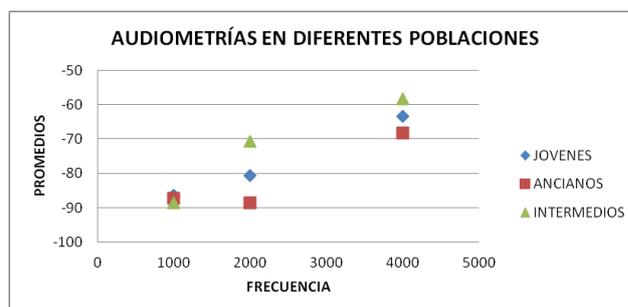


Figura 3. Audiometrías de tres diferentes poblaciones de ratones realizadas por la técnica de microfónicos cocleares.

4. Conclusiones

De los resultados obtenidos se desprenden varias conclusiones:

- Es posible obtener un registro de los microfónicos cocleares con un prototipo experimental de laboratorio basado en el diagrama a bloques de la Figura 1.
- La señal eléctrica es una función de la presión sonora, a mayor presión mayor amplitud de la señal registrada. Comprobación del Recruitment con el equipo experimental de laboratorio.
- La técnica de los MC es en realidad una medida objetiva de la pérdida auditiva.
- Es posible diseñar un nuevo prototipo más sensible capaz de registrar los microfónicos cocleares en humanos.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología – México por la estancia postdoctoral otorgada a Nazario Félix González para la realización de este proyecto.

Referencias

- [1] Clinical Audiology. Brad A. Stach, Ph.D. 2010 Delmar, Cengage Learning, ISBN-13: 978-0-766-86288-3.
- [2] Cochlear microphonic potential. Acta oto-laryngologica supplement, 5 (S203) 1965, LARS ANGGARD.
- [3] The electro-cochleogram. Recent results in children and in some pathological cases. Aran JM. Archives für klinische und experimentelle Ohren, Nasen und Kehlkopf Heilkunde (Munich), 198, 128-141, 1971.
- [4] Modelling the Generation Of the Cochlear Microphonic, 35th Annual International Conference of the IEEE EMBS Osaka, Japan, 3 - 7 July, 2013. Mohammad Ayat and Paul D. Teal.
- [5] Model based prediction of the existence of the spontaneous cochlear microphonic. M.Ayat and P.D. Teal. In Mechanics of Hearing, Attica, Greece, July 2014.
- [6] Cochlear microphonic broad tuning curves. M.Ayat and P.D. Teal. In Mechanics of Hearing, Attica, Greece, July 2014.
- [7] Modelling cochlear mechanics. G. Ni, S. Elliott, M. Ayat, and P.D. Teal. BioMed Research International, pages 1-87, 2014.
- [8] Using circuit analogies for analysis of cochlear models. M. Ayat and P.D. Teal. Biomedical Engineering Letters, 3(4):263-272, December 2013.
- [9] An electromechanical model for the cochlear microphonic. P.D. Teal, B. Lineton, and S.J. Elliott. In C.A. Sera and E.S. Olson, editors, Progress in Auditory Biomechanics, pages 652-657, July 2011.
- [10] Potenciales evocados auditivos, Anales de Pediatría Continuada 2008;6:296-301, Germán Trinidad, Gabriel Trinidad, Eduardo de la Cruz
- [11] Cochlear microphonic audiometry: a new hearing test for objective diagnosis of deafness, Poch-Broto J, Carricondo F, Bhathal B, Iglesias MC, López-Moya J, Rodríguez F, Sanjuán J, Gil-Lozaga P. Acta Otolaryngol. 2009 Jul; 129(7):749-54.

User requirements of online training course on ergonomics for spine minimally invasive surgery

J.L. Moyano-Cuevas¹, J.B. Pagador¹, J.A. Sánchez-Margallo¹, A. Piedrabuena², C. Atienza³, R. Portilla², P Augat⁴, J Tokarczyk⁵, J Bartnicka⁶, F. M. Sánchez-Margallo⁷

¹ Bioengineering and Health Technologies Unit, Jesús Usón Minimally Invasive Surgery Centre, Cáceres, Spain, {jmoyano, jbpagador, jasanchez}@ccmijesususon.com

² Instituto de Biomecánica de Valencia, Valencia, Spain, {alicia.piedrabuena, raquel.portilla}@ibv.upv.es

³ Grupo de Tecnología Sanitaria, GTS-IBV, CIBER BBN, Valencia, Spain, carlos.atienza@ibv.upv.es

⁴ Institute of Biomechanics, Trauma Center Murnau, Germany, Biomechanik@bgu-murnau.de

⁵ Komag Institute of Mining Technology, Gliwice, Poland, jtokarczyk@komag.eu

⁶ Silesian University Technology, Gliwice, Poland, Joanna.Bartnicka@polsl.pl

⁷ Jesús Usón Minimally Invasive Surgery Centre, Cáceres, Spain, msanchez@ccmijesususon.com

Abstract

Orthopaedic minimally invasive surgery (MIS) requires a specialized training to perform surgical procedures. However, this training focuses primarily on the acquisition of psychomotor skills rather than training in ergonomics. This work aims to define the training requirements and main topics of an online course on ergonomics that allows surgeons to improve their knowledge and working conditions during the minimally invasive spine surgery. To achieve this, a survey with Spanish spine surgeons was conducted to determine the current state of education in the field of ergonomics and to define the training requirements and contents of the online course. As a result, this online course must allow physicians to acquire new skills in ergonomics through theoretical and practical contents. Preferred training topics to be included in the online course are contents of ergonomics related to MIS instruments and the operating room, as well as postural ergonomics of surgeons. In a second phase, these results will be complemented by the means of increasing the number of participants in different European countries in order to design, develop and validate an online training course on ergonomics in minimally invasive spine surgery.

1. Introduction

The importance of minimally invasive surgery (MIS) has constantly increased, and it has been routinely used in orthopaedic surgery, thanks to its main advantages for the patient [1-4]: reduced tissue trauma; decreased blood loss, less pain and faster recovery; better stability of the prostheses' components, as well as better cosmetic results. However, MIS surgery is a task with high physical and mental demand and involves a series of risks for the surgeon. The intraoperative surgical workplace is affected by stressing environmental factors and, additionally, surgeons have to perform high-force as well as high-precision tasks in combination with multimodal information processing. These factors lead to increased stress and strain, resulting in muscle overload, fatigue of surgeons and higher risk for human error [5] and inefficiencies in operations, causing that surgeons may suffer from severe musculoskeletal disorders along the

working life [6-8]. Therefore, the implementation of ergonomic criteria in the design of surgical tools and suitable operating room environments is essential to improve efficiency, safety and comfort for the surgical team, while reducing their physical strains.

Therefore, in order to deal with these challenges our proposal is to define, implement and validate a new e-learning course and all the training materials needed for improving the working conditions of orthopaedic MIS surgeons in the operating room under-pinned by key methodologies about user centered design, ergonomics and usability. This paper is focused on a survey with spine surgeons to establish a preliminary list of user requirements to be included in the definition and implementation of the training course in ergonomics of minimally invasive spine surgery to increase its acceptance and utility.

2. Material and methods

2.1. Participants

6 surgeons were recruited for the study. These included 5 expert surgeons on spine surgery and 1 surgical resident.

2.2. Questionnaires

An online survey was developed and distributed using Survey Monkey, a commercial survey delivery service. To approach participants, an email with the purpose of the study and the link to the survey was sent.

The questionnaire consisted of two different sets of questions. The first one included questions related to the training in ergonomics received by the participants. The second set of questions included questions about possible characteristics and contents of the online course in ergonomics applied to spine MIS. This group consists of multiple choice questions and 3-point Likert scale questions

(1 – minor importance and 3 – maximum importance). In multiple choice questions, participant could select a maximum of 3 items.

2.3. Data analysis

All gathered information was kept confidential and anonymous, and then it was statistically analyzed. Percentages were rounded to one decimal. The descriptive analysis was performed using the tools provided by SurveyMonkey [9].

3. Results

Figure 1 shows the opinion of surgeons about how adequate was the training in ergonomics they received during their residency (in percentages). 67% of surgeons considered this training unsuitable during this period.

On the other hand, 67% of the participants in the study consider adequate and very adequate their current training in ergonomics (Figure 2). However 100% of the respondents answered “No” to the question “Have you received any training related to ergonomics in the last two years?”.

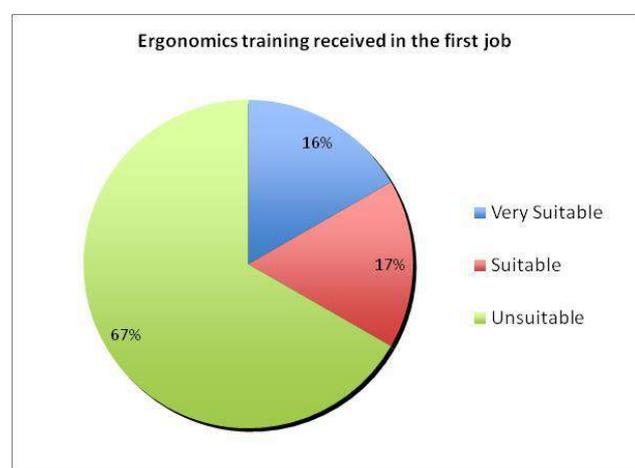


Figure 1. Rating of ergonomics training received during the development of his first job.

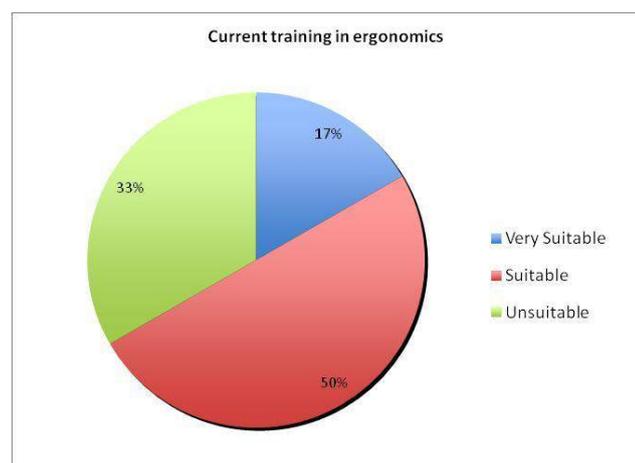


Figure 2. Opinion of surgeons regarding the current training in ergonomics.

The different motivations that lead surgeons to perform a training course related with ergonomics in spine surgery are shown in Table 1. The main motivation is the increasing of the surgeons’ skills (83.3%) followed by the increasing of the general knowledge in ergonomics,

retraining professionally through new techniques, sharing experiences with other professional and offering better service to patients (50%). However, reduction of aches and pain caused by the surgical practice (33%) and improvement in the choice of the most appropriate surgical instruments (0%) were rated with low importance and irrelevant importance, respectively.

Different requirements to be included in the online course and the corresponding rating provided by surgeons are presented in Table 2. The highest rated requirements for the course are the inclusion of useful content for the job and its application to clinical practice (66.6%, in both cases). Both theoretical and practical content were **considered** important by 50% of the surgeons. The requirements of usability and ease of access to online course, the official recognition of the course and a minimum experience in the field were chosen by a low percentage of surgeons. (n=2, n=1 and n=1 surgeons, respectively).

Motivations	N	%
Increase the general knowledge in ergonomics	3	50.0%
Retrain professionally through new techniques	3	50.0%
Share experiences with other professionals	3	50.0%
Reduction of aches and pains	2	33.3%
Increase the skills	5	83.3%
Better serve patients	3	50.0%
Knowledge of how to select the most appropriate instruments	0	0%

Table 1. Number of users (and percentage) for each motivation to take a training course related with ergonomics. Multiple answers were allowed, so the sum of all percentages is not 100%.

Requirements	N	%
Simple theoretical contents	3	50.0%
Contents focused on practice	3	50.0%
Usability and easy access	1	16.6%
Teachers with recognized authority on the subject	2	33.3%
Officially recognition of the course	1	16.6%
Useful contents for the job	4	66.6%
Short time to complete the course	2	33.3%
Application to clinical practice	4	66.6%
Participant should have a minimum experience in the field	1	16.6%

Table 2. Number of users (and percentage) for each requirement. Multiple answers were allowed, so the sum of all percentages is not 100%.

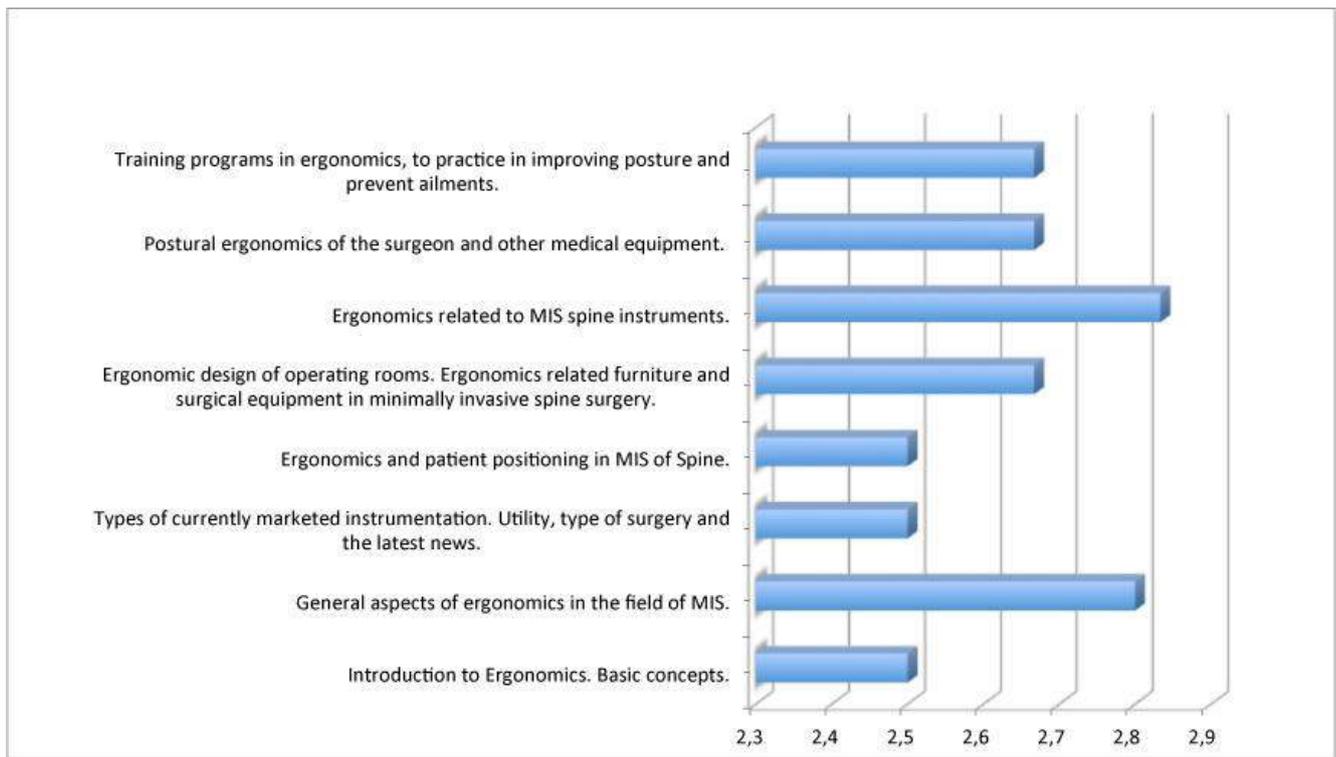


Figure 3. Mean importance for each proposed training field to be included in a course on ergonomic in spine MIS.

Mean importance for each proposed training field to be included in a course on ergonomic in spine MIS is shown in Figure 3 (1 - low importance; 3 - high importance). All training fields were rated with a mean value equal or higher than 2.5 out of 3. The two training fields with highest rate to be included in the online course were the inclusion of contents associated with the ergonomics of the instruments for spine surgery and the inclusion of general aspects of ergonomics in the field of MIS (2.83 and 2.8, respectively). The training contents related to the postural ergonomics of surgeons, and ergonomic design of the operating room and the prevention of ailments were also highly rated with a mean score of 2.66.

4. Conclusions

Orthopaedic surgery, and spine surgery specifically, is associated with a number of features that require the use of a specialized surgical environment and tools. This equipment may causes muscle fatigue, stress and musculoskeletal problems such as neck pain, or feeling of numbness in the legs. In this sense, learning ergonomic criteria necessary to carry out a safe practice of these interventions is critical for the surgeon's health and patient safety. Therefore, the aim of this study is to determine the preliminary training requirements and features that should be included in an online course on ergonomics in minimally invasive spine surgery.

Ergonomics training received during the residency of spinal surgeons is inadequate and scarce. Besides the training received is not continuous as none of the surveyed surgeons reported not having received training in ergonomics for the last two years. Therefore, despite the technological advances in surgical instruments and

equipment for spine surgery, surgeons do not receive any ergonomic training on their use. All this underscores the need to develop training courses focused on ergonomic criteria for the surgical practice of spinal surgery, providing a safer working environment for the surgeon and the patient.

The development of a new online course must provide spine surgeons primarily the acquisition of new skills and useful contents for their surgical practice. Furthermore, the course must have both practical and theoretical content with high application to clinical practice. Although surgeons do not have much time due to their high workload, they do not consider the required time to complete the course as an essential factor, which is also sign of their interest on these courses.

Finally, we can conclude that the training topics raised in this paper are contents or modules of interest for the spine surgeons that should take part on the online course in ergonomics on spine MIS. In this sense, ergonomics related to MIS spine instruments will require special importance in this course.

The proposed course will offer to spine surgeons a validated and practical training on several aspects of ergonomics applied to minimally invasive procedures.

5. Future work

These results are the starting point to design and develop the Train4OrthoMIS project [10] that will be the framework where the online course will be developed and tested.

More participants from other countries will be asked to complete the fundamental of this survey, before applying this preliminary information. In this sense, surgeons from Spain, Germany and Poland, among other countries will be included in the next step of this study to complete the architecture and potential contents of the online course.

Similarities and differences between countries will be analysed and taken into account into the definition and development of the proposed online course. Finally, the course will be implemented with the subsequent validation by a broad number of final users, who will determine its utility and functionality, and will provide an actual and valuable feedback for the final development.

Acknowledgments

This work has been done under the project “Online Vocational Training course on ergonomics for orthopaedic Minimally Invasive Surgery”. This project has been funded with support from the European Commission. This communication reflects the views only of the author, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.

References

- [1] Keggi, Kristaps J, Total Hip Arthroplasty Through a Minimally Invasive Anterior Surgical Approach, JBJS, 2003, vol. 85-A.
- [2] Hudak EM, Perry MW, Outpatient minimally invasive spine surgery using endoscopy for the treatment of lumbar spinal stenosis among obese patients, Journal of Orthopaedics, 2015 Mar 3;12(3):pp 156-9.
- [3] Bel J-Ch, Carret J-P, Total hip arthroplasty with minimal invasive surgery in elderly patients with neck of femur fractures: our institutional experience. Injury, Int. J. Care Injured, 2015, 46 S1 pp 13-17.
- [4] Venkatesh R, Minimal invasive techniques in the management of tibial plateau fractures. Current Orthopaedics, 2006, 20, pp 411-417
- [5] Glikson J, Surgeons experience, more ergonomics stress in the operating room. Bulletin of the American college of surgeons, vol 07, pp 201.
- [6] Wauben LSGL, Van Veelen M, Gossot D, Goossens RHM. Application of ergonomic guidelines during minimally invasive surgery: a questionnaire survey of 284 surgeons. SurgEndosc. 2006, vol 20, pp1268-1271.
- [7] Van Veelen M, Nederlof E, Goossens R, Schot C, Jakimowicz J. Ergonomic problems encountered by the medical team related to products used for minimally invasive surgery. SurgEndosc, 2003, vol 17, pp 1077-1081.
- [8] Santos-Carreras L et al. Survey on Surgical Instrument Handle Design: Ergonomics and Acceptance. Surgical Innov, 2012, vol 19, pp50-59.
- [9] website: www.surveymonkey.com
- [10] website: <http://train4orthomis.eu/>

Validación preliminar del módulo online del curso de formación en laparoscopia para enfermería

JF. Ortega Morán¹, L. Bote Curiel¹, JB. Pagador¹, J. Sánchez Fernández¹, J. Maestre Antequera¹, LF. Sánchez Peralta¹, A. Arco², F. Monteiro², FM. Sánchez Margallo¹

¹ Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España, {lbote,jfortega,jbpagador,jsanchez,jmaestre,lfsanchez,msanchez}@ccmijesususon.com

² Escola Superior de Saúde de Portalegre, Instituto Politécnico de Portalegre, Portalegre, Portugal, {a.arco,franciscomonteiro}@essp.pt

Resumen

La Cirugía de Mínima Invasión (CMI) ha introducido numerosas ventajas en los procedimientos quirúrgicos actuales, sin embargo también supone un reto para el equipo quirúrgico, entre los que se encuentran los enfermeros, ya que deben reciclar sus conocimientos y habilidades para adaptarse a esta nueva técnica. Uno de los métodos de formación cada vez más utilizado, y demandado por los enfermeros, es el blended learning, que permite el aprendizaje semipresencial. En base a ello se ha creado un curso de formación en laparoscopia para enfermería que cuenta con un módulo teórico online y otro módulo práctico presencial. Para llevar a cabo el módulo teórico se ha implementado un entorno web, cuyo procedimiento y resultados de validación preliminar centran el enfoque del presente trabajo. La metodología de validación llevada a cabo incluye valoraciones de funcionalidad, usabilidad y contenidos, y de éstos últimos tanto de cada sección en particular como del módulo teórico en general. Las pruebas de validación las han realizado personal experto, tanto de perfil técnico como enfermeros con experiencia docente. Los resultados muestran que técnicamente la plataforma funciona correctamente, cumpliendo todos los requisitos funcionales. Los expertos enfermeros consideran que la plataforma es atractiva y fácil de usar. Además, valoran que la cantidad, calidad y distribución de los contenidos de cada sección del módulo online son adecuadas, así como la relevancia y correcta cobertura de todos los contenidos que debe impartir un curso de estas características, ya que cubren las necesidades formativas de enfermeros de España y Portugal.

1. Introducción

En los últimos años se han implantado las técnicas de Cirugía de Mínima Invasión (CMI) como una práctica frecuente en las intervenciones quirúrgicas, haciéndose imprescindible cubrir las necesidades formativas de los enfermeros como miembros de los profesionales de este campo quirúrgico [1].

Uno de los métodos de formación que está adquiriendo más auge es el “aprendizaje semipresencial” o “blended learning”, que integra formación a distancia online y formación presencial, combinando la flexibilidad del ritmo y la comodidad de la entrega online con el trato interpersonal del aprendizaje presencial [2].

Teniendo en cuenta lo anterior, se ha creado un curso de formación en laparoscopia para enfermería basado en

“blended learning”, que es el método de enseñanza que prefieren llevar a cabo los enfermeros, puesto que consideran que la formación en CMI debe ser 50% online, con contenido teórico y práctico equilibrado [3]. Este curso se compone de dos módulos: un módulo práctico presencial, que debe realizarse en un centro de referencia especializado, y un módulo teórico, que se desarrolla a distancia a través de un entorno web.

El entorno web implementado para ello se basa en la aplicación Moodle [4]. En dicho entorno (Figura 1) se encuentran las nueve secciones que componen el módulo teórico del curso, diseñadas y creadas en base a las motivaciones y requisitos de los enfermeros para realizar cursos de formación relacionados a la CMI [5].



Figura 1. Entorno web implementado

Dichas secciones integran los contenidos didácticos creados, destacando vídeos quirúrgicos y diseños 3D interactivos, agrupados en un glosario. Además, hay cuestionarios para evaluar el aprendizaje del enfermero. Para incentivar el aprendizaje colaborativo, se han incluido un chat y un foro como sistemas de comunicación entre los usuarios.

El objetivo de este trabajo es dar a conocer los resultados de la validación preliminar del módulo teórico online del curso de “blended learning” creado, y utilizarla para identificar las mejoras necesarias a incorporar en el curso. Para ello, se pretende valorar tanto los contenidos del módulo teórico del curso como aspectos técnicos y de usabilidad del entorno web que se ha creado para permitir a los usuarios enfermeros el acceso a dichos contenidos.

2. Metodología

En la Figura 2 se puede ver un esquema de los métodos de validación utilizados.

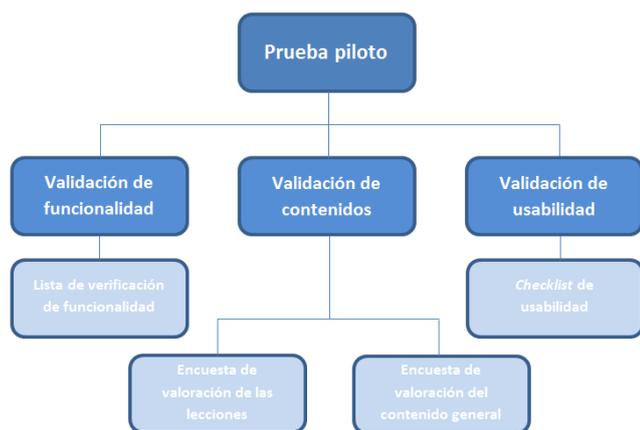


Figura 2. Esquema de la metodología de validación

Se han realizado pruebas de usabilidad, contenidos y funcionalidad tomando como base la metodología *e-MIS validity* [6], llevadas a cabo, bajo condiciones controladas, tanto por personal técnico como por enfermeros con experiencia docente.

La *validación de funcionalidad* del entorno web comprueba el correcto funcionamiento del sistema, así como el cumplimiento de los requisitos funcionales, a través de una lista de verificación (*checklist*). Se verifican aspectos relacionados con:

- Requisitos de gestión de acceso: registro de usuario, inicio de sesión, cierre de sesión, recuperación de contraseña y cambio de contraseña.
- Requisitos de perfil de usuario e interacciones: consulta y edición de datos personales, búsqueda de usuario y selección de idioma.
- Requisitos de mantenimiento del entorno: administración de usuarios, monitorización, mantenimiento y actualización del entorno, detección y notificación de errores, y respuesta de contingencias.
- Requisitos de aprendizaje formal: creación, edición y eliminación de nuevos cursos, búsqueda de cursos, solicitud de suscripción a cursos, consulta de cursos matriculados, aceptar/rechazar la suscripción a un curso, evaluación de las destrezas adquiridas y evaluación de progreso.
- Requisitos de aprendizaje informal: Comentar o plantear preguntas acerca de un contenido didáctico

determinado en el foro asociado, crear nuevos temas en el foro, moderar mensajes en un foro, establecer comunicación síncrona entre usuarios y establecer comunicación asíncrona entre usuarios.

Estas pruebas las deben realizar personas de perfil técnico con amplia experiencia en el desarrollo de herramientas de formación a distancia.

La *validación de contenido* tiene como objetivo evaluar la idoneidad de las lecciones y contenidos ofrecidos en el módulo teórico del curso para cumplir los requisitos de aprendizaje. En esta validación, enfermeros con amplia experiencia en docencia y conocimientos avanzados en cirugía de mínima invasión deben emitir una valoración a través de dos cuestionarios sobre los contenidos y las actividades de las sesiones de formación: uno para la valoración del contenido específico de cada sección y otro para la valoración del contenido general del curso.

En la valoración de las secciones, las cuestiones a valorar fueron las siguientes:

- P1: Los contenidos tienen buena calidad técnica
- P2: La cantidad de contenidos es apropiada
- P3: La distribución de contenidos es apropiada
- P4: Los contenidos multimedia (imágenes, vídeos y diseños 3D) son de calidad, dan valor añadido y proporcionan información útil
- P5: El cuestionario es adecuado en cuanto a cantidad de preguntas y dificultad de las mismas

Para la valoración del contenido general del curso, las cuestiones a evaluar se exponen a continuación:

- P6: Los contenidos son únicos, es decir, los distintos tipos de contenidos no los ofrecen webs similares
- P7: La web proporciona contenidos innovadores
- P8: El contenido está íntegro y completo
- P9: La página web utiliza contenidos multimedia correctamente aplicados a fines didácticos
- P10: Los contenidos están actualizados
- P11: Los contenidos se entienden fácilmente
- P12: Los contenidos son realistas y relevantes para la práctica profesional
- P13: Los contenidos cubren satisfactoriamente los aspectos teóricos de un curso de laparoscopia para enfermería

Ambos cuestionarios consistían en evaluar mediante una escala Likert del 1 (totalmente en desacuerdo) al 5 (totalmente de acuerdo) las preguntas expuestas.

Además, se añadieron otras preguntas relativas a qué secciones y qué recursos son más útiles e importantes.

La *validación de usabilidad* se realiza utilizando un cuestionario como método de validación subjetiva para medir el grado en el que el diseño del entorno web facilita o dificulta su manejo. El cuestionario se componía de una lista de verificación (*checklist*) en la que enfermeros expertos deben valorar con un Sí o un No los siguientes aspectos:

- P14: La plataforma de formación es atractiva
- P15: Se usan los colores adecuadamente
- P16: La plataforma de formación está organizada
- P17: El diseño general de la plataforma es consistente (consistencia y uniformidad en el estilo, estructuras y colores de todas las páginas)
- P18: Las páginas web dentro de la plataforma no son largas
- P19: La navegación a través de la plataforma es intuitiva
- P20: Me gusta el aspecto gráfico y la disposición general del entorno
- P21: El sitio web es fácil de usar

3. Resultados

Para la *validación de funcionalidad*, dos sujetos de perfil técnico realizaron las pruebas, concluyendo que se cumplen todos los requisitos técnicos evaluados de gestión de acceso, de perfil de usuario e interacciones, de mantenimiento del entorno, de aprendizaje formal y de aprendizaje informal.

En cuanto a la *validación de contenido*, realizaron las pruebas cuatro enfermeros expertos, dos de España y dos de Portugal. Los resultados promedio de las valoraciones emitidas en el cuestionario de evaluación del contenido específico de las secciones se incluyen en la tabla 1.

	Sección								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
P1	4,75	4,75	5	5	5	4,75	5	5	5
P2	5	5	5	4,75	4,75	4,75	4,75	4,5	5
P3	5	4,75	4,5	5	4,5	4,25	5	5	4,75
P4	4,75	5	5	5	5	5	5	5	5
P5	4,25	4,75	4	4,75	4,75	4,75	4,75	4,75	4,75

Tabla 1. Validación del contenido de las secciones

Se ha realizado un estudio estadístico sobre las diferencias significativas entre expertos españoles y portugueses para todas las cuestiones, obteniendo valores de *p* comprendidos entre 0,083 y 1.

Los resultados promedio obtenidos del cuestionario sobre los contenidos generales del módulo teórico se muestran en la figura 3:



Figura 3. Validación de contenidos

El estudio estadístico sobre las diferencias significativas entre expertos españoles y portugueses en este caso obtiene valores de *p* comprendidos entre 0,221 y 1.

En cuanto a las secciones del módulo online que consideran más importante se corresponden con pincería y material accesorio, ergonomía y laparoscopia para enfermería, siendo las menos interesantes las relativas a técnicas de diagnóstico y abordaje.

Los recursos que consideran más interesantes son las secciones y los contenidos didácticos, mientras que los menos interesantes son los de comunicación entre usuarios, como son el chat y el foro.

Respecto a la *validación de usabilidad*, las valoraciones subjetivas por parte de los cuatro enfermeros expertos acerca del diseño del entorno web indican que todos los usuarios valoran positivamente cada cuestión evaluada.

4. Conclusiones y trabajos futuros

En base a los requisitos formativos de los enfermeros [5], se ha diseñado e implementado un curso de formación en laparoscopia para enfermería que consta de un módulo práctico presencial y un módulo teórico online. Ésta última parte se ofrece a los usuarios mediante un entorno web basado en la aplicación Moodle, cuyos resultados generales de la validación preliminar de funcionalidad, usabilidad y contenidos realizada por expertos técnicos y enfermeros ha resultado muy satisfactoria.

Más concretamente, desde el punto de vista técnico, el entorno web implementado satisface todos los requisitos funcionales establecidos en las fases de diseño del mismo, dando lugar a un funcionamiento correcto de todas sus características técnicas.

En cuanto a la usabilidad del entorno, todos los usuarios han afirmado que están totalmente de acuerdo con todos los aspectos evaluados de usabilidad, lo que indica que el entorno web implementado es fácil de usar, con una navegación intuitiva. Esto hace válida la premisa que indica que es necesario hacer hincapié en la localización y visibilidad de los botones en el diseño de páginas web para que sea de fácil uso e intuitiva [7]. Además, los resultados muestran que el diseño es atractivo y organizado, con un uso adecuado de los colores, cumpliendo las premisas para conseguir un sitio web de calidad [8].

Desde el punto de vista del contenido del módulo teórico del curso, todas las secciones del mismo han sido valoradas muy positivamente, con una puntuación que sobrepasa en la mayoría de los casos el 4,5 sobre 5, consiguiendo muchas de ellas la máxima puntuación. Esto indica que la cantidad de contenidos, la calidad de los mismos y su distribución son adecuadas en todas las secciones. Además, la base que compone los contenidos del curso, como son los diseños 3D y vídeos quirúrgicos, son de alta calidad y de utilidad para los expertos en todas las secciones. En cuanto a los cuestionarios, la cantidad y dificultad de las preguntas son adecuadas para casi todas las secciones. Según los resultados, sería necesario

mejorar el cuestionario de las secciones 1 y 3, así como la distribución de la sección 6.

Respecto a la valoración global de los contenidos del módulo online, los resultados muestran que la mayoría de las cuestiones preguntadas obtienen una valoración superior a 4,75 sobre 5. De todas ellas, los expertos destacan que los contenidos se entienden fácilmente, están actualizados, completos y se aplican correctamente a fines didácticos, cubriendo todos los aspectos de un curso de laparoscopia para enfermería. Todos estos requisitos cubiertos aumentan la satisfacción de los usuarios [9]. Sin embargo, por el contrario consideran que los contenidos ofrecidos no son los suficientemente innovadores a los que ya ofrecen otros sitios web similares. Lo cual obliga a realizar un trabajo más exhaustivo de revisión de otros sitios web con fines similares para introducir rasgos diferenciadores en los contenidos del entorno web creado que haga que destaque su calidad e innovación.

No existen diferencias significativas entre las valoraciones de contenidos realizados por los expertos españoles y portugueses, ya que todos los valores de p son mayores de 0,05, tanto para los contenidos de las secciones como el contenido global del curso. Esto demuestra que los contenidos que cubren las necesidades formativas tanto en España como en Portugal son similares y este módulo online satisface dichos requisitos.

En cuanto a las secciones más importantes del módulo online que consideran los expertos, se corresponden con las habituales en su ámbito más cercano de trabajo. Como en su práctica habitual no realizan tareas de diagnóstico y abordaje, no las consideran importantes. Sin embargo, esto puede ser contraproducente, ya que deben conocer todas fases y maniobras a realizar durante estas técnicas porque deben saber reaccionar ante cualquier situación que surja en ellas. Por lo tanto, es necesario introducir los cambios necesarios en estas secciones para aumentar el interés de los enfermeros en las mismas. Además, en el módulo práctico presencial diseñado del curso a realizar tras el módulo online, dos de las tres secciones que lo componen están dedicadas a técnicas de corte y sutura, así como solucionar complicaciones durante la cirugía. Por lo tanto, es necesario que los alumnos lleven a cabo las secciones de diagnóstico y abordaje con interés y dedicación para afrontar con garantías la práctica.

Por último, el hecho de que consideren que los recursos más interesantes del curso de formación son las secciones y el contenido en sí, y no los medios de comunicación entre usuarios, es lo esperado, ya que el uso que prefieren los enfermeros de las redes sociales es para uso personal, no profesional [10].

5. Agradecimientos

El Proyecto MITTIC, Modernización e Innovación Tecnológica con base TIC en sectores estratégicos y tradicionales, está cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), a través del Programa Operativo de Cooperación Transfronteriza España-Portugal (POCTEP) 2007 – 2013.

Referencias

- [1] Sánchez-Peralta LF, Sánchez-Fernández J, Pagador JB, Sánchez-Margallo FM. New technologies in minimally invasive surgery training: what do surgeons demand?. *Clinical cases*, vol 81, 2013, pp 386-392.
- [2] Ward JA, Beaton RD, Bruck AM, de Castro AB. Promoting occupational health nursing training: An educational outreach with a blended model of distance and traditional learning approaches. *Aaohn Journal*, vol 59, sup 9, 2011, pp 401.
- [3] Ortega-Morán JF, Maestre-Antequera J, Pagador JB, Sánchez-Fernández J, Reis-do-Arco A, Lourenço-Monteiro F, Telo-de-Arriaga M, Ferreira-dos-Santos J, Sánchez-Margallo FM. Adaptación de las nuevas tecnologías para la formación de enfermería especializada en Cirugía de Mínima Invasión. *XXXII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2014)*, Barcelona, 2014.
- [4] Página web de la aplicación MOODLE. <https://moodle.org/?lang=es> (Consultada: Septiembre 2015)
- [5] Arriaga M, Ortega-Morán JF, Pagador JB, Maestre-Antequera J, Sánchez-Fernández J, Arco A, Monteiro F, Santos J, Sánchez-Margallo FM. Conceptual design of training courses in Minimally Invasive Surgery for nurses using new technologies. *2nd World Congress of Health Research*, Viseu, 2014.
- [6] Ortega-Morán JF, Pagador JB, Sánchez-Peralta LF, Gómez-Aguilera EJ, Sánchez-Margallo FM. e-MIS Validity: Metodología de Validación a Nivel de Usuario de Plataformas de e-Learning en Cirugía de Mínima Invasión. *Simposio Pluridisciplinar sobre Diseño y Evaluación de Contenidos Digitales Educativos (SPDECE-2011)*, Ciudad Real, 2011.
- [7] Peterson ET. The Big Book of Key Performance Indicators. Book Two in the Web Analytics Demystified Series. First Edition. 2006.
- [8] Hernández Ortega B, Martínez Jiménez J, DeHoyos J. Calidad de la información Web en la banca electrónica. *International Congress "Marketing Trends"*, Venice, 2008.
- [9] Rocha ÁL. Three-dimensional model for the global quality of a website. *International Journal of Business Information Systems*, vol 10, sup 4, 2012, pp 436-446.
- [10] Moule P, Ward R, Lockyer L. Nursing and healthcare students' experiences and use of e-learning in higher education. *Journal of Advanced Nursing*, vol 66, sup 12, 2010, pp 2785-2795.

High Resolution 3D Microscopy of Developmental Neurogenesis in Chick Embryo Models

D. Bocancea^{1,2}, M.V.Gómez-Gavira^{1,2}, E.Balaban³, M.Desco^{1,2}, J. Ripoll^{1,2}, J.J. Vaquero^{1,2}

¹ Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial. Universidad Carlos III de Madrid

jjvaquer@ing.uc3m.es

² Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid

³ Department of Psychology, McGill University, Montreal

Abstract

It is unknown when and how the brain makes the developmental transition from a group of cells that are activated spontaneously to a complex organ that functions on a large scale, such as the brain in higher vertebrate animals. In the final 30% of embryonic life of higher vertebrates, brains start to show adult-like forms of circuit and systems brain activity. The hypothalamic brain area is one of the areas involved in regulating the different stages of sleep and waking. To study this area, we have established the CUBIC clearing method (Clear, Unobstructed Brain Imaging Cocktails) to clear tissue and to perform immunohistochemistry on the whole chick embryo and/or in the chick embryo brain. We have cleared and immunostained brains at day 16 of development and acquired 3D images using Selective Plane Illumination Microscopy (SPIM) microscopy as well as confocal microscopy. We have mapped orexin- and TH- (Tyrosine Hydroxylase) positive neuronal populations in the hypothalamus to identify cells within these populations that are also positive for c-fos+ protein, a marker of neuronal activity.

In summary, we show here that SPIM microscopy is an ideal tool for the identification of different neuronal populations in the developing brain, and describe for the first time the three-dimensional distribution and recent activity of developing groups of neurons involved in sleep and waking.

1. Motivation

The comprehension of how the brain develops and functions at a cellular and molecular level is of fundamental importance in the search for answers to a broad range of questions relating to neurological disorders. As revealed in the *Neurological disorders: Public health challenges* report, published by the World Health Organization (WHO) in 2006, up to 1 billion people around the world suffer from neurological disorders, varying from Parkinson and Alzheimer disease, stroke, epilepsy and multiple sclerosis to brain injuries, migraine or neuroinfections [1]. Moreover, approximately 15 million babies are born preterm every year, being the leading cause of death among infants worldwide. Survivors often carry neurological disabilities such as learning, visual and hearing problems [2]. A rudimentary knowledge of the brain from early embryonic stages throughout fetal development is fundamental to understand how it operates, and to have more precise knowledge about how the wirings and connections that

the 100 billion neurons form to assemble such a complex organ.

It has been recently discovered that in the final 30% of the prenatal period, higher vertebrate embryo brains start to show adult-like forms of circuit and systems neural activity. Moreover, the late-stage chick embryonic brain can be induced into a waking-like state by external auditory stimulation such as meaningful chicken sounds [3]. This data validates the existence of selective monitoring neural circuitry operating during non-waking states in the embryonic brain. However, when and how the brain turns on for the first time, and how it makes its transition from being a network of cellular groups that are spontaneously activated to performing as a whole highly-integrated organ are still questions to be answered. The chick embryo model provides a solid approach to study the developmental origins of sleep, waking and brain rhythms in higher vertebrate animals.

In an attempt to understand the awakening of the brain for the first time, a closer look at the neuronal connections involved in the event is needed. Cell groups in the hypothalamus are importantly involved in regulating the different stages of sleep and waking in the adult brain. This project examines several of the cell groups in the chick embryo hypothalamic area during the last 30% of embryonic life using novel imaging techniques. Modern optical clearing methods make it possible to render the samples transparent while performing immunohistochemistry. Visualization of positive neuronal populations in these large, cleared samples is possible using optical sectioning fluorescence microscopy, such as confocal and SPIM microscopes.

2. Introduction

2.1. Optical sectioning fluorescence microscopy

Optical microscopy has played a fundamental role in cell and molecular biology since the 17th century. However, it is the development of fluorescence microscopy together with the rise of fluorescent proteins that make it a desirable imaging technique in biological research. Optical sectioning microscopy such as confocal and Selective Plane Illumination Microscopy (SPIM) aim at

suppressing the need for histological sectioning of the sample, while being able to acquire high-resolution images through a thick specimen at different axial depths.

Confocal microscopy uses pinhole apertures to focus the illumination at a specific depth in the tissue, and also to eliminate the out-of-focus background emitted fluorescence. In SPIM microscopy, a cylindrical lens is used to generate a thin sheet of light that illuminates the focal plane of the detection optics. Only a thin slice of the sample is excited at a time, considerably reducing photobleaching of the fluorophores [4].

SPIM microscopy aims at imaging relatively large biological tissue samples, small animal whole organs or whole organisms such as embryos. The main limitation is the barrier of light penetration through the tissue. A ballistic propagation of the excitation laser sheet through the sample is sought while the emitted fluorescence is expected to escape the sample and reach the detection unit. Tissues present optical absorption and scattering properties that impede light propagation through them. In order to compensate for this limitation and minimize the absorption and scattering that light suffers when interacting with tissues, specimens under study need to either be sufficiently thin or to present a high degree of transparency.

2.2. Tissue clearing methods

Optical clearing techniques aim at rendering transparent the biological specimen under study by means of physical procedures and chemical agents. Since light scattering occurs at the boundary between materials with different refractive indices, modern clearing methods involve treating the sample with organic solvents to homogenize the refractive index inside the sample and remove lipids, molecules that constitute a major source of light scattering.

Many clearing methods have been described for different types of tissues. Techniques that render highly transparent samples, such as BABB [5] produce fluorophore quenching while others such as Scale [6] require prolonged incubation periods. The CUBIC clearing method (Clear, Unobstructed Brain Imaging Cocktails) [7] emerged recently as a relatively fast, replicable and inexpensive procedure that employs two reagents to achieve highly transparent samples. Described in mouse brains and other murine organs, passive incubation with the two mixtures of urea, sucrose, detergents, alcohols and water is enough to remove lipids and homogenize the refractive index (RI) in the sample. Its compatibility with immunohistochemistry and SPIM microscopy makes it the method of choice for this project.

3. Experiments

3.1. CUBIC using whole chick embryo brains

The CUBIC clearing method has been established at our laboratory and optimized for clearing embryonic chick brains. As schematized in Figure 1, the clearing and immunohistochemistry protocol in the whole brain

lasts ten days. Paraformaldehyde-fixed E16 chick brains were treated for two days with Reagent 1, incubated three days with the first antibody, another three days with the secondary antibody and further cleared one more day by immersion in the Reagent 2.

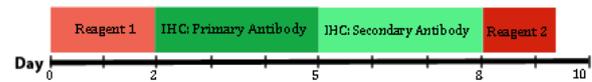


Figure 1. CUBIC clearing protocol optimized for late-stage chick embryo brains

CUBIC clearing is based on both the removal of lipids, molecules that produce light scattering, and homogenization of the RI throughout the whole sample (Figure 2). Lipid removal is achieved through immersion in Reagent 1, a mixture of detergents, polyalcohol, urea and water. Incubation in this reagent results in a highly transparent sample. As sustained by the authors of this method, due to the lipid removal, penetration of antibodies and dyes in the whole brain are achieved with short incubation periods, compared to the immunostaining periods reported in previous described methods. Successful double- and triple-IHC staining was performed in the whole chick brain in six days. Finally, immersion in Reagent 2, a sucrose and urea concentrated solution, adjusts the RI through the whole brain without affecting to the fluorescence of the IHC fluorochromes.

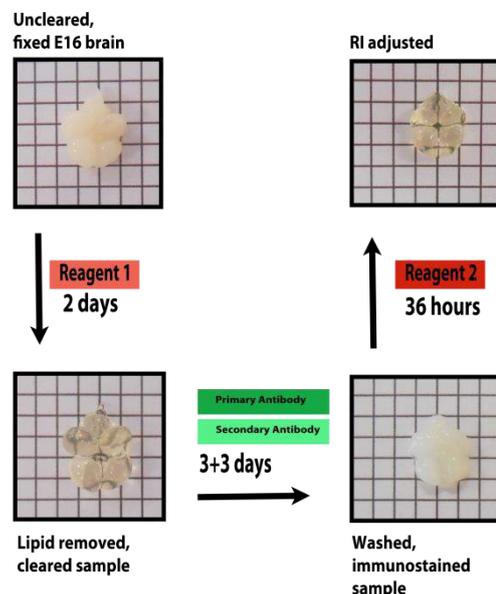


Figure 2. Fixed E16 chick brain cleared and immunostained with CUBIC clearing method

3.2. SPIM images of whole chick embryo brains

A custom-made SPIM microscope was set up by Dr. Ripoll at the Medical Imaging Laboratory, Hospital Gregorio Marañón. The device includes five different excitation lasers of varying wavelengths and several emission filters, which make possible the use of more

than one fluorophore per sample to label different cellular populations. As depicted in Figure 3, the sample – embedded in a low-melt pure agarose block- is immersed in a crystal cuvette filled with a matching refractive index solution. In this case, Reagent2 is used to minimize RI variances thought the sample and the medium.

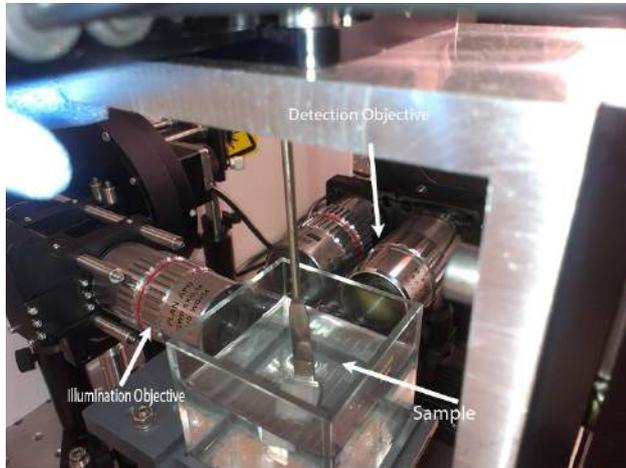


Figure 3. SPIM microscope setup. The illumination objective and the detection optics paths are orthogonal. The sample is immersed in a matching RI solution

The sample is moved by means of three motorized stages that allow translation and one rotation stage. To acquire high resolution images, the stage moves in the z-axis with micrometric precision.

A whole E16 chick embryo brain was cleared and immunostained with two different fluorophores and DAPI counterstain. Orexin-positive neurons were labeled with AlexaFluor 488 secondary antibody while TH-(Tyrosine Hydroxylase) positive neurons were labeled with AlexaFluor 594. The sample was illuminated sequentially with the 473 nm and the 589 nm lasers to image both neuronal populations in the hypothalamic area of the embryonic brain. DAPI nuclear counterstaining images were acquired by illuminating the sample with the 405 nm laser. A stack of 2 x 1.7 x 0.5 mm images was acquired with the 5x magnification objective in order to observe the neuronal distribution in the chick brain hypothalamus. Figure 4 shows Maximum Intensity Projection images along a 350 µm axial depth. DAPI nuclear counterstaining is shown in blue, TH neurons in red and Orexin neuron fibers in green around the third ventricle (3V).

SPIM microscopy allows the rapid acquisition of three dimensional image data. Volume rendering from the stack of two dimensional high resolution images is straightforward and easily performed with currently-available software. A whole chick embryo in its early stages (E4) was immunostained for Orexin neurons and scanned with the SPIM microscope. In Figure 5 the volumetric rendering of the embryo, performed with free open source FIJI software is shown.

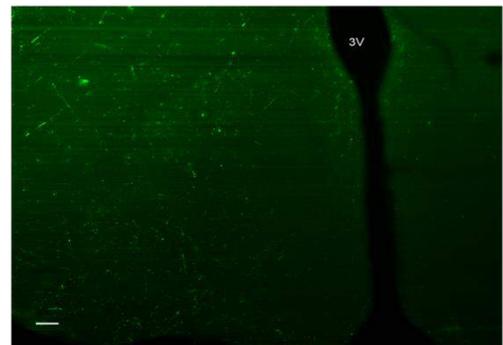
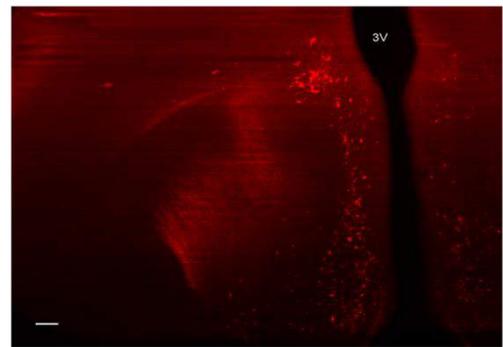
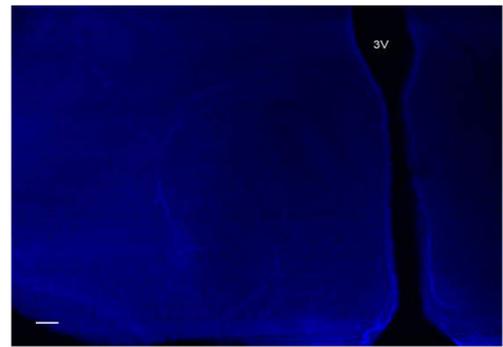


Figure 4. Region in the chick brain hypothalamus imaged with SPIM microscopy. In blue, DAPI nuclear counterstaining, in red TH positive neurons, in green Orexin neuronal fibers. 3V: third ventricle; Scalebar is 100 µm



Figure 5. Volume rendering of early stage (E4) chick embryo scanned with SPIM microscopy

3.3. Confocal microscopy in cleared thick sections

SPIM and Confocal microscopy modalities are combined in this project to get a better visualization of the chick brain hypothalamus. While SPIM offers the possibility to image relatively big specimens and samples with short acquisition periods and with reduced photobleaching, confocal microscopy offers a higher magnification with cellular and subcellular resolution. However, the main limitation of the confocal microscope is that the light suffers scattering at depths greater than 100 μm . Histological sections of <100 μm thickness are required.

By treating 1 mm thick chick embryo brain sections with the CUBIC clearing method, higher tissue depths were visualized with confocal microscopy. Due to physical limitations of the detection unit, a maximum depth of 500 μm can be clearly visualized with a 10x detection objective (Figure 6).

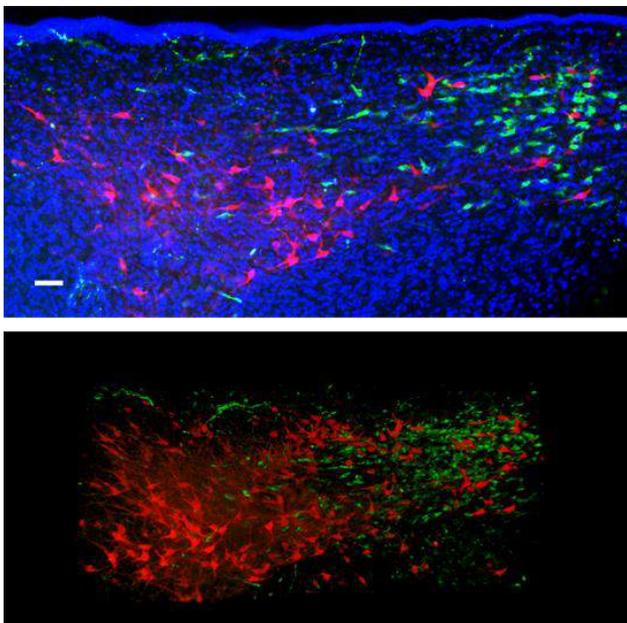


Figure 6. Confocal microscopy in thick chick embryo brain sections. TH positive neurons in red, Orexin positive neuron bodies in green and DAPI nuclear counterstaining in blue (upper image). 3D visualization of the whole stack acquired over 500 μm (lower image); Scalebar is 50 μm

4. Conclusions

A clearing and immunostaining protocol for late-stage chick embryonic brains has been optimized at our laboratory. The distribution of neuronal populations involved in sleep and waking neural states can be mapped and quantified across the chick embryo brain hypothalamus. The SPIM microscope has been set up, and the image acquisition protocol has been optimized for acquiring high resolution 3D images.

The clearing method has been validated in a total of 6 chick embryo brains, achieving good transparency results. The specificity of the signal acquired with SPIM microscopy has been validated through confocal microscopy with higher magnification detection objectives.

The main limitations we encountered in the optimization process regard the duration of the protocol (although it is shorter than other described clearing methods), the sample placement in the microscope to image the hypothalamus area in the brain, and the commonly known stripes artifact in light sheet microscopy caused by high absorption or high scattering structures in the laser pathway.

We conclude that the clearing method - described and optimized for chick embryo brains in this project- in combination with SPIM or even confocal microscopy provide a novel molecular imaging tool with a wide range of applications in the biomedical research.

Aknowledgements

We acknowledge support from the Human Frontier Science Program (HFSP) through the received research grant (RGP0004/2013).

References

- [1] World Health Organization. *Neurological disorders: public health challenges*. Geneva, 2006. Web. (Accessed: September 2015)
- [2] March of Dimes, PMNCH, Save the children, WHO. *Born Too Soon: The Global action report on preterm Birth*. Eds CP Howson, MV Kinney, Je Lawn. World health organization. Geneva, 2012. Web (Accessed: September 2015).
- [3] Balaban E, Desco M, Vaquero JJ. *Waking-like brainfunction in embryos*. *Curr Biol*. 2012;22:852–861. (2012)
- [4] Huisken J., Stainier D. Y. R., *Selective plane illumination microscopy techniques in developmental biology*, *Development* 136(12), 1963–1975 (2009)
- [5] Becker, K., Jahrling, N., Saghafi, S., Weiler, R., and Dodt, H.U. *Chemical clearing and dehydration of GFP expressing mouse brains*. *PLoS ONE* 7, e33916. (2012)
- [6] H. Hama, H. Kurokawa, H.Kawano et al. *Scale: a chemical approach for fluorescence imaging and reconstrucion of transparent mouse brain*, *Nature Neuroscience* 14, 1481–1488 (2011)
- [7] Susaki, E.A., Tainaka, K., Perrin, D., Kishino, F., Tawara, T., Watanabe, T.M., Yokoyama, C., Onoe, H., Eguchi, M., Yamaguchi, S., et al. *Whole-brain imaging with single-cell resolution using chemical cocktails and computational analysis*. *Cell* 157, 726–739, (2014)

Localización de lesiones de mama en posición quirúrgica utilizando deformación laplaciana de mallas poligonales

F. Pérez García^{1,2}, JE. Ortuño Fisac^{2,1}, M. Herrero Conde³, O. Bueno Zamora⁴, F. Calvo⁴, S. Lizarraga⁴, Javier Pascua^{4,5}, MJ. Ledesma Carbayo^{1,2}

¹ Biomedical Image Technologies, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid España ² CIBER-BBN, Madrid, España

³ Unidad de mama, Hospital de Madrid Sanchinarro, Madrid, España

⁴ Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Madrid, España

⁵ Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial. Universidad Carlos III de Madrid. Madrid, España

Resumen

La localización con arpón guiada por imagen de ultrasonido forma parte del protocolo estándar para la resección de tumores no palpables durante la cirugía de mama conservadora. Esta técnica facilita al cirujano localizar la lesión en el momento de la cirugía. Una alternativa para evitar el uso del arpón sería el empleo de imágenes multimodales y su visualización como herramienta de apoyo al cirujano. La fusión de estos estudios de imagen es especialmente compleja dada la naturaleza deformable de la mama y la diferente posición del paciente durante las distintas adquisiciones. En este trabajo se propone una solución para deformar la localización de la lesión identificada en la imagen de resonancia magnética adquirida en posición decúbito prono, de forma que pueda localizarse durante la cirugía que se realiza en posición decúbito supino. El algoritmo desarrollado se basa en la deformación laplaciana de mallas poligonales. Se presenta una validación empleando superficies obtenidas de estudios de resonancia magnética y tomografía computarizada en 6 casos reales, demostrando que es posible localizar el tumor con una precisión en la mayoría de los casos menor de 15 mm. Estos resultados se consiguen empleando únicamente la superficie de la piel del paciente y la localización del pezón como datos de referencia de la posición prona, lo cual facilita su aplicación como herramienta de apoyo en el guiado en este tipo de cirugías.

1. Motivación

A muchas mujeres con cáncer de mama se les detecta el tumor por mamografía o MRI antes de que la lesión sea palpable. En estos casos el tratamiento más utilizado es la cirugía conservadora, cuyo objetivo es la resección del tumor más un cierto margen de tejido a su alrededor, pero conservando la forma y el aspecto de la mama en su conjunto. El protocolo estándar en este tipo de cirugía incluye la localización por arpón. En esta técnica, desarrollada en los años setenta, el radiólogo localiza la lesión a partir de la información proveniente de un mamograma (MRI o US)[1]. El proceso se guía típicamente mediante US, y consiste en la introducción de una aguja hueca a través de la piel y un arpón cuya punta queda clavada en el centro de la lesión, marcando así la zona de interés. Finalmente el cirujano, guiándose por el arpón y las imágenes preoperatorias, realiza la resección de la zona marcada por la punta y teniendo en cuenta el tamaño de la lesión y los márgenes de seguridad. Sin embargo, la técnica de localización por arpón posee varios inconvenientes. En primer lugar se trata de una intervención adicional previa a la cirugía, lo cual supone

un daño y una molestia adicional para el paciente, así como un aumento del coste del procedimiento. Además no se trata de un método que tenga éxito en la mayoría de los casos, ya que se encuentran márgenes patológicos positivos en entre un 30 y un 50 % de los pacientes [2]. Esto suele requerir otra cirugía, que supone un coste adicional y una dificultad emocional añadida para el paciente. Por otra parte, el punto de entrada y el recorrido del arpón determinan la incisión y el proceso quirúrgico. Esto supone un inconveniente, ya que el abordaje quirúrgico que requeriría una incisión más pequeña o con un resultado más estético no sigue típicamente la trayectoria del arpón. Por lo tanto, es conveniente proponer alternativas a este método de localización con el fin de mejorar la seguridad del paciente y el resultado final.

Se han sugerido y probado diversas alternativas a la localización por arpón. Algunos resultados utilizando US intraoperatorio han demostrado ser superiores en diferentes aspectos [3][4], además se trata de una técnica precisa y económica. Lamentablemente, muchos tumores malignos visibles en mamogramas no son evidentes en la ecografía. Distintos trabajos han planteado la utilización de imágenes multimodales, sin embargo es importante tener en cuenta que la forma de la mama puede variar considerablemente entre las imágenes y la posición quirúrgica habitual. En mamografía, la mama se comprime y se eleva; en la MRI está suspendida, ya que se realiza en posición de decúbito prono; la ecografía se realiza en posición de decúbito supino, con el brazo ipsilateral levantado. Ninguna de estas modalidades se adquiere en la posición de la cirugía (decúbito supino con el brazo ipsilateral extendido), por lo que el cirujano debe hacerse una idea mental del desplazamiento y la deformación del tumor con el fin de realizar la resección del tumor y sus márgenes correctamente.

En este proyecto se presenta una herramienta de procesado y visualización de información multimodal que permite trasladar la localización del tumor a partir del estudio de resonancia magnética a un escenario virtual en el que la posición del paciente es en decúbito supino. Dicha herramienta puede facilitar la interpretación proveniente de las imágenes al cirujano, que puede visualizar de manera más intuitiva la localización de tumor de cara a la planificación de la intervención.

2. Descripción de los datos y metodología

El objetivo del trabajo es la creación y validación de un sistema de visualización tridimensional de la escena intraoperatoria que sirva de herramienta de apoyo al cirujano. La superficie de la mama en posición de decúbito prono se deforma para alinearla con la superficie intraoperatoria, en decúbito supino. A partir de esta transformación se estima la localización del tumor y se presenta la escena al cirujano utilizando modelos tridimensionales.

2.1. Datos

Los datos disponibles provienen de 11 pacientes del Hospital General Universitario Gregorio Marañón (HGUGM) de Madrid. Para cada caso se dispone de archivos DICOM que representan:

- MRI T2 SPAIR preoperatoria
- MRI sustracción post-pre contraste
- CT preoperatorio
- Informes y diagnóstico médicos, con las lesiones caracterizadas.

Es importante destacar que los CT utilizados son de estadiaje y que los pacientes están en una posición decúbito supino no idéntica a la de la cirugía. En paralelo a este trabajo y en colaboración con la Universidad Carlos III y el HGUGM se está proponiendo durante la situación quirúrgica real la utilización de un escáner óptico que permita obtener de manera sencilla la superficie dentro del quirófano de manera previa a la resección. Esta adquisición podría sustituir la superficie obtenida a partir del CT en este trabajo.

2.2. Preprocesado

El tumor se ha segmentado en las MRI T2 y en los CT utilizando el algoritmo de contornos activos integrado en la herramienta ITK-Snap [5].

El artefacto producido por el protector de bismuto utilizado en la adquisición del CT se ha eliminado automáticamente mediante un procesado de imagen elemental (umbralización, operaciones morfológicas y extracción de componentes conexos).

2.3. Asunciones biomecánicas

Con el fin de modelar de manera simplificada el comportamiento biomecánico de la mama, se ha asumido que:

- I. El parénquima de la mama es incompresible.
- II. Los ejes anatómicos a partir de los pezones no varían entre la posición de decúbito prono y supino, especialmente el axial.
- III. La piel de la mama se comprime más en dirección lateral al pasar de decúbito prono a supino.
- IV. La distancia entre el tumor y el exterior del cuerpo es constante en cualquier posición.

2.4. Interfaz

La interfaz gráfica se ha desarrollado en forma de módulo del programa de visualización y manipulación de imágenes médicas 3D Slicer [6]. Slicer se comunica con

MATLAB, que realiza los cálculos necesarios y devuelve los resultados para la visualización.

Tras marcar la localización de los pezones en las posiciones pre- e intraoperatorias, el usuario debe simplemente proveer al sistema de las imágenes (volúmenes o superficies) necesarias. El proceso de segmentación de imágenes y localización del tumor es totalmente automático.

2.5. Generación de mallas

Para estimar la localización del tumor en posición de decúbito supino, es necesario en primer lugar alinear las superficies pre- e intraoperatoria, que representan la piel de las mamas para cada caso. Estas superficies se pueden generar automáticamente como mallas poligonales a partir de una segmentación automática de las imágenes tomográficas o bien ser añadidas a partir de una segmentación manual previa a la ejecución de la herramienta.

2.6. Deformación de la malla preoperatoria

Una vez obtenidas las mallas en ambas posiciones, se debe deformar la malla preoperatoria con el fin de alinearla con la intraoperatoria. Inicialmente se utilizó un algoritmo de registro de nubes de puntos [7], que fue descartado por no preservar la coherencia entre los marcadores (correspondientes a los pezones) de ambas mallas tras la alineación.

El método seleccionado se basa en un algoritmo de deformación laplaciana [8]. Este tipo de deformación utiliza coordenadas diferenciales para los puntos, lo cual permite conservar los detalles geométricos de la superficie deformada.

Para calcular la deformación laplaciana es necesario definir:

1. Los índices y la localización final de los nodos que arrastrarán al resto.
2. El método de cálculo de la matriz de adyacencia [9].

Cada nodo de arrastre (en la malla preoperatoria) y cada nodo objetivo (en la malla intraoperatoria) es el más cercano a su fiducial correspondiente.

Los nodos objetivo se calculan de la siguiente forma:

1. Se calculan los nodos más cercanos a los fiduciales correspondientes a los pezones en ambas mallas. El usuario debe especificar la localización aproximada de los pezones utilizando Slicer.
2. Se calcula la distancia geodésica entre cada pezón y cada uno de los nodos de la malla.
3. A partir de cada pezón, se añaden los fiduciales en las 4 direcciones: inferior, superior, medial y lateral. El número de fiduciales en ambas superficies es el mismo. La distancia entre fiduciales es constante, excepto en la dirección lateral de la superficie intraoperatoria, de acuerdo con la asunción III.

Este es un método objetivo que depende de la precisión del usuario al localizar los pezones y del grado de compresión de la mama en la dirección lateral. La Figura

1 muestra un ejemplo de fiduciales utilizados y la Figura 2 un ejemplo del resultado de la deformación.

2.7. Estimación de la posición del tumor

En primer lugar se calculan índices de los tres nodos más cercanos al centroide de la lesión en la malla preoperatoria. Según la asunción IV, la posición final de la lesión puede calcularse a partir de la posición final de estos tres nodos tras la deformación utilizando trilateración, una técnica de posicionamiento basada en distancias habitual en el ámbito de las telecomunicaciones que se utiliza para determinar las posiciones relativas de los objetos usando la geometría de los triángulos de manera análoga a la triangulación [10].

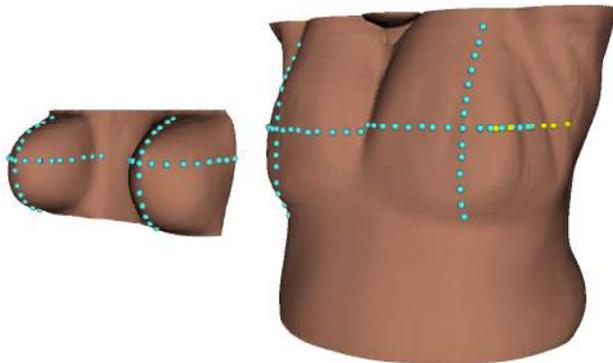


Figura 1. Fiduciales utilizados para la deformación laplaciana. Izda.: superficie preoperatoria en posición de decúbito prono; Dcha.:superficie intraoperatoria en posición de decúbito supino. Los fiduciales amarillos serían el resultado de no aplicar la asunción III, en cuyo caso el último fiducial del pezón izquierdo en dirección lateral de la malla preoperatoria (final de la mama) correspondería a un punto del brazo en la malla intraoperatoria. Los fiduciales azules son los calculados según el modelo de deformación siguiendo la asunción III.



Figura 2. De izquierda a derecha: superficie original (prono); superficie objetivo (supino); resultado de la deformación.

3. Resultados

De los 11 pacientes, 3 se han descartado por no ser visible el tumor en el CT y 2 por no disponer de una MRI que pueda ser segmentada para extraer la superficie preoperatoria. Por lo tanto, se han utilizado los datos de 6 pacientes para la validación.

De las 27 posibles combinaciones de parámetros de cálculo de la deformación laplaciana [9] se han utilizado solamente 3, ya que el resto de métodos producen deformaciones poco naturales, como muestra la Figura 3. El parámetro seleccionado como error para la validación es la diferencia entre el centroide de la malla del tumor en el CT y el centroide de la malla del tumor en la MRI una vez realizada la estimación de la posición.

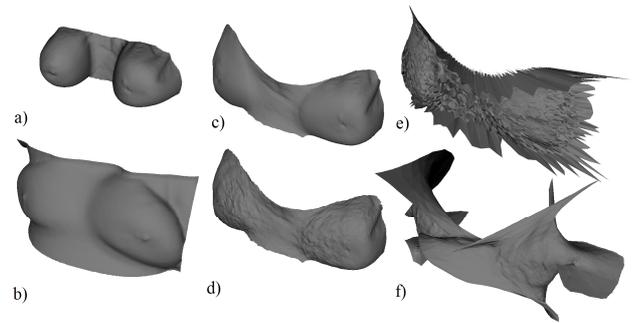


Figura 3. Algunos ejemplos de deformación: a) Superficie preoperatoria; b) superficie intraoperatoria; c) deformación con matriz laplaciana simétrica y pesos conformes; d) deformación con matriz laplaciana simétrica; e) deformación con matriz laplaciana normalizada y pesos según la distancia; f) deformación con la matriz laplaciana simétrica y normalizada.

La Figura 4 muestra el error para cada paciente y método. El método elegido por defecto para el algoritmo es el que utiliza una matriz laplaciana simétrica y pesos conformes (Figura 3.c). El error al utilizar este método es siempre menor que 1.5 cm, excepto en el paciente B. En este caso, la mama correspondiente a dicho tumor está especialmente deformada en el momento de la adquisición de la MRI, debido a la presión de la antena, como muestra la Figura 5. Esto dificulta los cálculos según la asunción IV, ya que el tumor está mucho más cerca de la piel en la MRI que en el CT, lo cual se confirmó numéricamente siendo en el resto de casos la diferencia de distancia menor a 5 mm y en este caso de 18 mm. Además, la presión de la antena puede haber modificado el estado de la piel en la parte lateral de la mama, lo cual entraría en conflicto con la asunción III del mismo apartado.

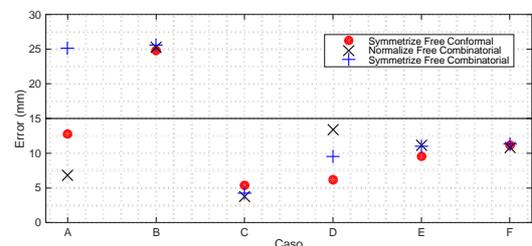


Figura 4. Error en la estimación de la posición del tumor para cada caso y método. Todas las distancias están expresadas en mm.



Figura 5. Imágenes del paciente B. De izquierda a derecha y de arriba abajo: superficie intraoperatoria y tumores; superficie preoperatoria; mama izquierda en el CT; mama izquierda en la MRI; comparación de las mamas en la MRI. En esta última imagen se muestra la diferencia de compresión entre ambas mamas.

La Figura 6 muestra gráficamente los resultados de la estimación del paciente C.

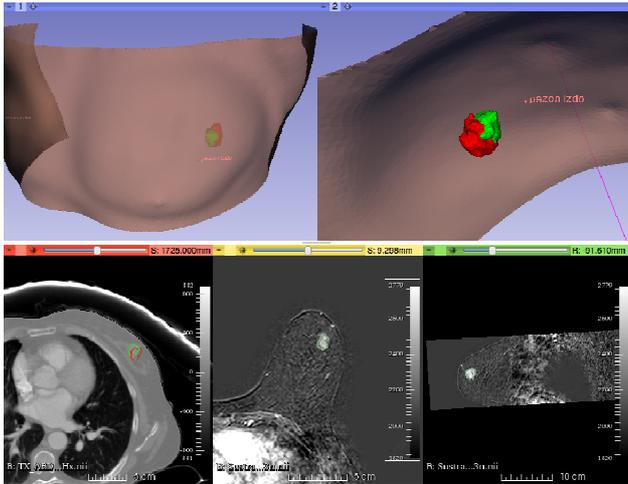


Figura 6. Resultados del paciente C. De izquierda a derecha y de arriba abajo: superficie intraoperatoria; detalle de los tumores real y estimado; mama izquierda en el CT (axial); mama izquierda en la MRI (axial); mama izquierda en la MRI (sagital). El tumor real se muestra en verde y el estimado en rojo.

El tiempo de cálculo es de aproximadamente 10 segundos utilizando mallas de unos 10 000 nodos cada una.

4. Conclusiones

En este trabajo se ha desarrollado y validado un método que permite estimar la posición del tumor en posición de decúbito supino durante una cirugía de cáncer de mama, a partir de una imagen preoperatoria de resonancia magnética adquirida en posición de decúbito prono. El sistema permite al cirujano visualizar la escena de manera intuitiva, utilizando modelos tridimensionales de la piel y el tumor. La evaluación de dicho método en 6 casos reales ha permitido estimar la localización del tumor de manera sencilla y rápida con un error menor de 1.5 centímetros en 5 de los 6 casos. Estos resultados son muy prometedores, especialmente teniendo en cuenta que se han alcanzado resultados similares con otras propuestas de la literatura que requieren de variaciones significativas del protocolo de adquisición, requiriendo marcadores o adquisición de MRI tanto en prono como en supino, y que computacionalmente son mucho más exigentes [11][12][13].

La técnica desarrollada en este proyecto es un primer acercamiento al sistema final que sería necesario implementar para poder ser utilizado en la práctica clínica. Es necesario continuar investigando para generar un modelo más preciso y robusto. Si la lesión permanece en el mismo cuadrante de la mama tras la estimación de la localización, es posible que esta información ya sea útil para el cirujano [13]. Además es un proceso mucho más rápido que el registro multimodal de imágenes tridimensionales, que puede suponer un coste computacional del orden de horas.

La interfaz gráfica puede ser fácilmente adaptada para su uso intraoperatorio. El cirujano debe introducir en el sistema solamente las imágenes pre- e intraoperatorias y

marcar la localización de los pezones utilizando, por ejemplo, 3D Slicer. Esto hace del sistema una herramienta portable y fácil de utilizar por cualquier operario.

Agradecimientos

Este estudio está parcialmente financiado por el proyecto TEC2013-48251-C2.

Referencias

- [1] M. L. Giger, et al. "Breast image analysis for risk assessment, detection, diagnosis, and treatment of cancer," *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 15:327–357, 2013.
- [2] C. S. Kaufman, et al. "Excising the reexcision: stereotactic core-needle biopsy decreases need for reexcision of breast cancer," *World J. Surg.*,22(10):1023–1027;1998.
- [3] S. P. Harlow, et al. "Intraoperative ultrasound localization to guide surgical excision of nonpalpable breast carcinoma," *J. Am. Coll. Surg.*, 189(3):pp. 241–246, 1999.
- [4] C. S. Kaufman, et al. "Intraoperative ultrasound facilitates surgery for early breast cancer," *Ann. Surg. Oncol.*, 9(10):988–993,2002.
- [5] P. A. Yushkevich, et al. "User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: significantly improved efficiency and reliability," *NeuroImage*, 31(3):1116–1128,2006.
- [6] A. Fedorov, et al. "3D Slicer as an image computing platform for the Quantitative Imaging Network," *Magn. Reson.Imaging*,30(9):1323–1341,2012.
- [7] A. Myronenko and X. Song, "Point Set Registration: Coherent Point Drift," *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*,32(12):2262–2275,2010.
- [8] Botsch, M. and O. Sorkine "On linear variational surface deformation methods" *IEEE Transactions on Visualization and Computer Graphics* 14(1):213-230, 2008.
- [9] "Toolbox Graph - File Exchange - MATLAB Central." [Online]. Available: <http://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/5355-toolbox-graph>. [Accessed: 09-Jul-2015].
- [10] "Determination of a position in three dimensions using trilateration and approximate distances." [Online]. Available:http://www.academia.edu/492861/Determination_of_a_position_in_three_dimensions_using_trilateration_and_approximate_distances. [Accessed: 09-Jul-2015].
- [11] L. Han, et al. "A hybrid fem-based method for aligning prone and supine images for image guided breast surgery," in *2011 IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro*, 2011, pp. 1239–1242.
- [12] M. J. Pallone, "Combining Supine MRI and 3D Optical Scanning for Improved Surgical Planning of Breast Conserving Surgeries," *SPIE Medical Imaging Conference* 8316:117–125,2012.
- [13] C. Behrenbruch, K. Marias, et al. "Prone-Supine Breast MRI Registration for Surgical Visualisation," in *Medical Image Understanding and Analysis Conference*, 2001.

Visual feedback facilitates intermanual transfer of the motor control of the dominant arm towards the nondominant arm

O. Urra Vicario^{1,2}, A. Casals i Gelpí^{1,2}, R. Jané Campos^{1,2,3}

¹ Institute for Bioengineering of Catalonia, Barcelona, Spain, {ourra, acasals, rjane}@ibebarcelona.eu

² Universitat Politècnica de Catalunya - BarcelonaTech, Barcelona, Spain

³ CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Spain

Abstract

Visual feedback (VF) is applied to recover motor skills after stroke. However, the exact mechanisms underlying the beneficial effects of VF remain unclear, limiting its optimal use in clinical practice. We previously reported that the effect of neural mechanisms triggered by VF is reflected in the upper-limb at the level of the control structure (the set of synergies/corresponding activation coefficients used to perform a task). Here, we hypothesize that VF may facilitate the transfer of superior motor programs stored in the dominant hemisphere to optimize the nondominant arm's motor control. In order to test this hypothesis we have quantified the intermanual transfer (IMT) of the dominant control structure to the nondominant arm during the execution of a complete set of standard rehabilitation routines. We demonstrate that IMT is the main mechanism by which VF increases interlimb similarity and we show that the magnitude of IMT can be up to 75% in neurologically intact subjects. Thus, this study provides sound physiological evidence to encourage the use of VF in stroke rehabilitation.

1. Introduction

Stroke is a leading cause of disability in adults. Indeed, the majority of patients with upper-limb damage remain with severe motor disability despite all rehabilitation efforts [1]. At present, extensive clinical research is dedicated to improve rehabilitation but this is presumably hindered by the vague knowledge about the physiological mechanisms underlying the restoration of motor control.

Visual feedback (VF) is an effective method to boost stroke rehabilitation [2]. In its traditional form, the use of VF during mirror therapy has been proven to improve motor performance. Neurological studies reveal increased ipsilateral M1 activation [3] and reciprocal inter-hemispheric inhibition [4]. However, the exact mechanisms by which VF modulates the motor control remain unclear, and naturally, this understanding is essential to effectively exploit VF-based rehabilitation.

Along these lines, we previously investigated the effect of VF on the control structure of the upper-limb, i.e., the set of synergies and activation coefficients needed to perform a given task. We demonstrated that VF increases the interlimb similarity (ILS) of the control structure of the upper-limb, both at the level of synergies and activation coefficients [5]. In particular, we observed that VF seemed to modify the nondominant muscle activation patterns to resemble the dominant patterns. This finding is

especially appealing, as the motor impairment caused by stroke has been strongly related to alterations in the activation coefficients of the control structure [6].

Consequently, in this study we have extended this work with the hypothesis that VF may improve motor control by transferring the superior motor programs stored in the dominant hemisphere towards the nondominant hemisphere. Evidences for intermanual transfer (IMT) of skills have extensively been reported in various fields [7,8], but to the best of our knowledge, the role of VF as a facilitator of IMT has not been addressed yet.

Here we consider two possible scenarios for VF to induce IMT of motor control. On the one hand, VF may transfer to the nondominant arm the original activation patterns found in the dominant arm, that is, the control structure extracted in absence of VF. On the other hand, it is also plausible that VF modifies the control structure of the dominant arm and not only the nondominant arm. Therefore, VF may transfer the VF-modulated dominant control instead of the original dominant control. In this paper we study these two forms of IMT and we quantify their occurrence during the execution of standard stroke rehabilitation exercises of elbow and shoulder.

2. Methods

Experimental protocol and extraction of control structures

Six neurologically intact subjects took part in this study. All subjects were right-handed males aged 25 to 35. The Institutional Review Board of the Institute for Bioengineering of Catalonia approved the procedures applied. Written informed consent was required for participation in the study.

Subjects were instructed to perform a set of twelve movements selected from standard rehabilitation routines to cover the basic range of motion of elbow and shoulder. Each movement was repeated 30 times with each arm. The experiment was carried out under two different conditions: in absence and presence of VF. VF was provided by placing a full-body mirror orthogonal to the axis around which the movement was produced.

Electromyographic signals of eight upper-limb muscles (infraspinatus, trapezius superior, deltoid anterior, deltoid medial, pectoralis major, biceps brachii, triceps brachii

long head and brachioradialis) were recorded while subjects performed the exercises. Control structures were extracted using nonnegative matrix factorization (NMF):

$$\mathbf{D}(t) = \sum_{i=1}^N H_i(t) \cdot \mathbf{W}_i(t) + \boldsymbol{\varepsilon} \quad (1)$$

where $\mathbf{D}(t)$ is the vector of EMG signals at time t , N is the number of muscle synergies, \mathbf{W}_i is the time-invariant muscle vector representing the i th muscle synergy, $H_i(t)$ is the nonnegative time-varying activation coefficient for the i th synergy and $\boldsymbol{\varepsilon}$ is any residual activity unexplained by linear combination. A separate control structure was extracted for each subject, movement, arm and condition. Brief, at all the dataset in this study was composed of 288 ($6 \times 12 \times 2 \times 2$) control structures of N synergies and activation coefficients.

N was set as the minimum number of synergies and activation coefficients needed to explain at least the 90% of the Variance Accounted For (VAF) of the original EMG signal. The details of the experimental protocol, the procedures applied for signal processing and for synergy extraction are explained in depth in [5].

Synergy matching

Because the ordering of the control structure components resulting from NMF is random, the activation coefficient located in first place (H1) in the left arm of a subject may correspond with the activation coefficient located in the second place (H2) in the right arm of that subject. Thus, before computing the ILS, it is essential to adequately match the activation coefficients across arms and across conditions (grouping H1s with H1s and H2s with H2s) so that the activation coefficients labeled H_i in the right and left arms of the same subject (both without and with VF) correspond to the same physiological manifestation.

The matching process was carried out in two steps. First, we matched the activation coefficients across arms. That is, we matched right (R) and left (L) arm activation coefficients that resulted in the highest cross-correlation coefficient separately for each condition ($H1_{L,x}$ with $H1_{R,x}$ and $H2_{L,x}$ with $H2_{R,x}$; $x \in \{nVF, VF\}$). Next, we matched the activation coefficients across conditions. To this end, we averaged the right and left activation coefficients in each condition ($\langle H1_x \rangle = (H1_{L,x} + H1_{R,x}) / 2$; $i \in \{1, 2\}$) and we matched the averaged activation coefficients that resulted in the highest cross-correlation coefficient in such a way that if the cross-correlation coefficient between $\langle H1_{nVF} \rangle$ and $\langle H2_{VF} \rangle$ was higher than the cross-correlation coefficient between $\langle H1_{nVF} \rangle$ and $\langle H1_{VF} \rangle$, $H1_{L,nVF}$ was labeled $H2_{L,VF}$ and $H2_{L,VF}$ was labeled $H1_{L,VF}$. Otherwise, the order was left unchanged.

Interlimb similarity (ILS) improvement measures

ILS between activation coefficients was quantified as the maximum cross-correlation coefficient given the delay τ :

$$ILS_x = \max_{\tau} \frac{\sum_{n=0}^{N-1} H_L[n] \cdot H_R[n+\tau]}{\sqrt{\sum_{n=0}^{N-1} H_L^2[n] \cdot H_R^2[n+\tau]}} \quad x \in \{nVF, VF\} \quad (2)$$

The improvement of ILS generated by VF was calculated as the ratio between the ILS found with VF, with respect to the ILS found in absence of VF:

$$ILS_{improvement} (\%) = \frac{ILS_{VF}}{ILS_{nVF}} \cdot 100 - 100 \quad (3)$$

Intermanual transfer (IMT) measures

Projecting one signal (reference pattern) onto another signal (test pattern) is a way to detect the presence of specific patterns as components of much more complex signals. Therefore, the cross-correlation between dominant activation coefficients (D , test pattern) and nondominant activation coefficients (ND , reference pattern) is a measure of “how much” of the test pattern is present in the reference pattern, or in other words, a measure of IMT. However, because cross-correlation is a relative measure, the need exists to reference it to a baseline, in order to provide comparable metrics.

In this paper we considered two possible IMT-types. On the one hand, we hypothesized that VF may transfer the original control of the dominant arm (i.e., in absence of VF) to the nondominant arm. We termed this type of IMT, IMT_0 , and was calculated as:

$$IMT_0 = \frac{\max(xcorr(D_{nVF}, ND_{VF}))}{\max(xcorr(D_{nVF}, ND_{nVF}))} \cdot 100 - 100 \quad (4)$$

On the other hand, we hypothesized that VF may not only modulate the motor control of the nondominant arm, but also the motor control of the dominant arm. Thus, VF may transfer the VF-modulated dominant control, instead of the original control. This type of IMT was termed IMT_{VF} and was calculated as:

$$IMT_{VF} = \frac{\max(xcorr(D_{VF}, ND_{VF}))}{\max(xcorr(D_{nVF}, ND_{nVF}))} \cdot 100 - 100 \quad (5)$$

Statistical analyses

We applied two-way ANOVA test to assess the effect of each independent variable (subjects and movements) on the magnitude of ILS improvement and IMT induced by VF. We also use this test to examine possible interactions between the variables. That is, we investigated whether the effect of subjects significantly varied from movement to movement and vice versa.

3. Results

The VAF-threshold was exceeded by 2-synergy control structures in the 87,5% of the cases analyzed (12 movements \times 6 subjects \times 4 conditions). However, because the average VAF of the remaining cases (88.5 ± 1.4 %) was near that threshold, we used the 2-synergy control structures in all cases to facilitate comparisons.

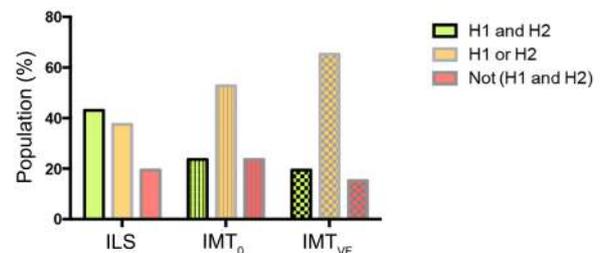


Figure 1. Frequency in population of VF-induced modulation types of the activation coefficients. Bars indicate percentage of cases in which VF increased ILS, IMT_0 or IMT_{VF} . Green bars indicate an increase in the two activation coefficients, orange

bars indicate an increase in only one activation coefficient and red bars indicate a decrease in both activation coefficients

Figure 1 indicates that VF most frequently increases ILS and induces IMT of the dominant activation pattern across subjects and movements. In particular, VF increases the ILS of at least one activation coefficient in 81.95% of the cases analyzed. Likewise, VF produces IMT_0 and IMT_{VF} of at least one of the dominant activation coefficients in 75.00% and 83.33% of the cases respectively. A more exhaustive analysis revealed that the scope of this phenomenon is variable. In 41.67% of the cases VF increases the ILS in the two activation coefficients (Fig. 2A), and in 40.25% of the cases in just one activation coefficient (Fig. 2B). Only in 18.05% (or 16.67%) of the cases VF does not increase the ILS (or not produce IMT) in any activation coefficient (Fig. 2C).

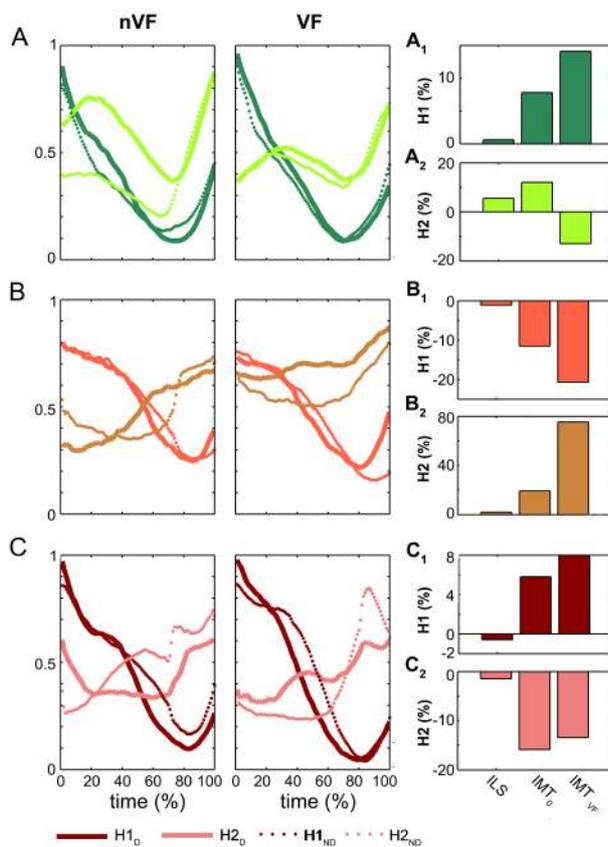


Figure 2. Types of modulation induced by VF in the activation-coefficients – representative examples. **A** – Increase of ILS in both synergies. **B** - Increase of ILS in only one synergy. **C** - Decrease of ILS in both synergies. Columns 1 and 2 show the activation coefficients in absence and presence of VF respectively. Solid and dotted lines represent the activation coefficients of the dominant (D) and nondominant (ND) arm respectively. X_1 and X_2 (with $X \in \{A,B,C\}$) indicate the magnitude of increase (%) of ILS, IMT_0 and IMT_{VF} induced by VF in H1 and H2 respectively.

Figure 2 illustrates the behavior of the activation coefficients during the 3 types of VF-modulation found in this study. We observed that when VF increased ILS, the shape of the nondominant activation coefficient tended to take the form of the dominant activation coefficient (Fig. 2A and 2B in H2). Certainly, these observations were

numerically confirmed by an increase in either the IMT_0 or the IMT_{VF} (Fig. 2A₁); or even in both values (Fig. 2A₂ and B₂). Interestingly, VF decreased ILS mainly due to two reasons. Either because the ILS found in absence of VF was so high that there was little scope for improving such similarity and any deviation from the original curve was numerically reflected as a decrease in the ILS (Fig. 2B – H1: Note that in this case despite the decrease in the ILS, the fundamental shape of the two curves remains very similar); or either because VF modulated the curve of the nondominant arm to take a totally different shape (Fig. 2C – H2. Note that in this case the curve of the dominant arm remains almost the same).

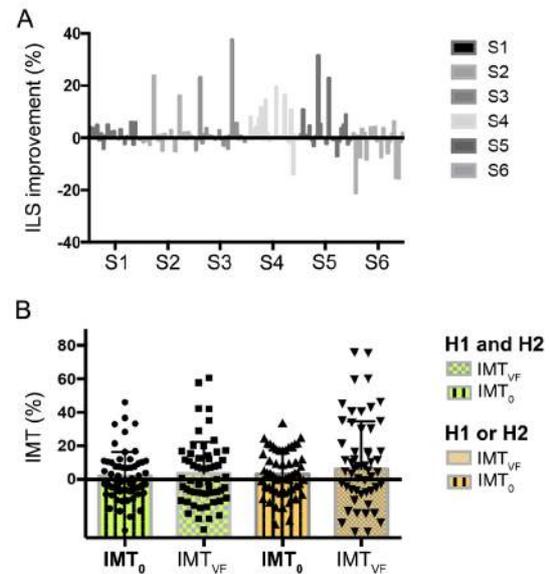


Figure 3. **A** – Magnitude of VF-induced ILS changes (%) in individual subjects. Each bar represents the ILS change induced by VF in the activation coefficient of one movement. **B** – Magnitude of VF-induced increase of IMT (%) in the cases in which VF enhances ILS in H1 and H2 (green bars) and in H1 or H2 (orange bars). Bars are mean $IMT \pm SD$. Data-points indicate the VF-induced increase of IMT (%) in individual cases (subjects' movements).

Figure 3A shows the magnitude of ILS change induced by VF in the activation coefficients of each subject's movements. As we can see, the predominant effect of VF is to increase ILS. In average, VF increases ILS by $4.64 \pm 7.21\%$. Note that this increase is quite substantial taking into account that the mean ILS of these subjects in absence of VF ranged between 0.95 and 0.98. Notably, in subjects with movements exhibiting lower baseline ILS, the improvement induced by VF can reach as high as 23.85%. 2-way ANOVA tests showed a significant effect of subjects ($F_{5,72} = 3.14$; $p < .05$) and movement types ($F_{11,72} = 2.6$; $p < .01$) in the magnitude of ILS change. The interaction between subjects and movement types was also significant ($F_{55,72} = 3.14$; $p < .01$).

Figure 3B shows the average IMT induced by VF in subjects for which VF increased the ILS. VF induced IMT_0 in 46.66% of the cases and IMT_{VF} in 48.3% of the cases for which ILS increased in H1 and H2. Likewise, VF induced IMT_0 in 58.62% of the cases and IMT_{VF} in

56.89% of the cases for which ILS increased in at least one activation coefficient. Although the average IMT was moderate ($13.48 \pm 11.68\%$; $18.42 \pm 15.40\%$; $12.10 \pm 8.95\%$; $25.13 \pm 21.41\%$ respectively), it varied substantially from subject to subject and could be up to 75% in certain subjects. However, 2-way ANOVA indicated no significant effects of subjects or movement in the magnitude of IMT ($p > .05$). Our results indicate that ILS increases are not always related to IMT, suggesting the existence of additional VF-induced mechanisms complementary to IMT able to increase ILS.

4. Discussion

This study demonstrates that VF increases the ILS of the motor control mainly by transferring the control strategy of the dominant arm towards the nondominant arm. In particular, we provide evidence that VF induces two-types of complementary IMT. On the one hand, VF transfers the original motor control of the dominant arm. On the other hand, VF shows also the potential to modulate the control structure of the dominant arm, and to transfer this modified strategy to the nondominant arm.

Diverse performance advantages have been attributed to the dominant arm over the nondominant arm [9, 10]. According to our results, VF most frequently induces IMT of the dominant activation patterns to the nondominant arm denoting an important role of this mechanism during VF at improving motor control. In the domain of stroke, it seems that the concept of dominant and nondominant arm should be reformulated to unaffected and paretic sides respectively as the kinematics of the paretic arm of stroke patients closely resembles the nondominant arm of healthy subjects [11]. Thus, it is very likely that stroke patients may benefit from mirror therapy because VF transfers the intact skills of the unaffected arm to the control structure of the paretic arm.

Apparently, VF is not always beneficial in terms of motor control. In about a fifth of the cases VF does neither increase ILS nor induce IMT. Indeed, several cases reveal VF modulating the activation coefficients to a completely novel shape. Accordingly, the ANOVA tests indicate that the magnitude of ILS improvement induced by VF depends on subjects and movement types. We previously reported that the efficiency of VF was related to subjects feeling comfortable with it [5]. Therefore, further research is needed to investigate whether this is a fixed personal constraint, or conversely, whether subjects can learn how to use VF to modulate their control structure.

Although the magnitude of IMT found in this study is moderate, we speculate that this is because the subjects that participated in the study presented quite a high ILS (even in absence of VF) so that the scope for improving it was very limited. However, this scenario is very unlikely to be found in rehabilitation. In fact, substantial differences in the control structure of the paretic and healthy arm of stroke patients have been recurrently reported, especially regarding the activation coefficients [6, 12]. Consequently, it is expected that patients with stroke can benefit from a greater extent of VF-induced IMT during rehabilitation. At present, we are working to

test this hypothesis. Taken everything together, this study provides sound physiological evidence to encourage the incorporation of VF in the design of new stroke rehabilitation approaches.

Acknowledgements

This work was supported by grants from La Caixa Foundation and Secretaria d'Universitats i Recerca del Departament d'Economia i Coneixement de la Generalitat de Catalunya (Consolidated research group GRC: 2014 SGR 1569). The work was conducted under the framework of the HYPER project (CSD2009-00067 CONSOLIDER INGENIO 2010).

References

- [1] Lloyd-Jones, D. *et al.* Heart Disease and Stroke Statistics—2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*, vol 119, 2008 pp 480–86.
- [2] Thieme H, Mehrholz J, Pohl M, Behrens J, Dohle C. Mirror therapy for improving motor function after stroke. *Cochrane Database Syst Rev*, vol 3, 2012.
- [3] Nojima I, Mima T, Koganemaru S, Thabit MN, Fukuyama H, Kawamata T. Human motor plasticity induced by mirror visual feedback. *J Neurosci*, vol 32, sup 4, 2012, pp 1293-1300.
- [4] Bartur G, Pratt H, Dickstein R, Frenkel-Toledo S, Geva A, Soroker N. Electrophysiological manifestations of mirror visual feedback during manual movement. *Brain Res*, vol 1606, 2015, pp 113-24.
- [5] Urra O, Casals A, Jané R. The impact of visual feedback on the motor control of the upper-limb. In Proceedings IEEE EMBS Conf, Milan, 2015.
- [6] Cheung VC, Piron L, Agostini M, Silvoni S, Turolla A, Bizzi E. Stability of muscle synergies for voluntary actions after cortical stroke in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, vol 106, no 46, 2009, pp 19563-68.
- [7] Pereira EA, Raja K, Gangavalli R. Effect of training on interlimb transfer of dexterity skills in healthy adults. *Am J Phys Med Rehabil*, vol 90, no 1, 2011, pp 25-34.
- [8] Yoo I, Jung M, Yoo E, Park S, Park J, Lee J *et al.* Effect of specialized task training of each hemisphere on interlimb transfer in individuals with hemiparesis. *Neurorehab*, vol 32, no 3, 2013, pp 609-15.
- [9] Sainburg RL, Kalakanis D. Differences in control of limb dynamics during dominant and nondominant arm reaching. *J Neurophysiol*, vol 83, 2000, pp 2661-75.
- [10] Sainburg RK. Evidence for a dynamic-dominance hypothesis of handedness. *Exp Brain Res*, vol 142, 2002, pp 241-58.
- [11] Chiang J, Wang J, McKeown MJ. Study of stroke condition and hand dominance using a Hidden Markov, Multivariate Autoregressive (HMM-mAR) Network Framework. In Proceedings IEEE EMBS Conf, Vancouver, 2008.
- [12] Cheung VC, Turolla A, Agostini M, Silvoni S, Bennis C *et al.* Muscle synergy patterns as physiological markers of motor cortical damage. *Proc Natl Acad Sci USA*, vol 109, no 36, 2012, pp 14652-56.

ÍNDICE DE AUTORES

A			
Abarca E	236	Bocancea D	495
Abella M	134	Boloix R	142
Acha B	22, 142, 146	Boluda M	366
Aguado-Sarrió E	18	Bonet N	63
Agudelo Y	447	Boquete L	163
Agustí A	285	Bosch I	126
Alamilla N	345	Bote L	491
Alberich-Bayarri A	18	Brotos-Cuixart D	314
Alberola-López C	2, 6, 10	Bueno O	499
Alberola-Rubio J	338	Bueno-Barrachina JM	338
Albert-Martínez R	293, 402	Bumaguin GE	331
Alcántara V	121	C	
Alcaraz R	35, 39, 43, 187	Caballero-Ruiz E	80
Alegre M	47, 443	Cabeza R	383
Alesanco Á	236	Cáceres-Taladriz C	109
Almenara M	196, 358	Cadena MM	379
Alonso F	159	Caffarena G	297, 349
Alonso JF	269	Callejón-Leblic A	480
Alonso M	331	Calvillo-Arbizu J	101, 318
Álvarez B	253	Calvo CJ	459
Álvarez D	88	Calvo F	499
Álvarez IS	228	Caminal P	31, 265
Amaya C	418	Campistol JM	322
Antelo S	349	Cano O	374
Antón A	426	Carcavilla A	84
Anula L	22	Carmona M	117
Aparicio C	200	Caro R	265
Arana S	261, 370	Casado-Losada I	253
Arce-Diego JL	51, 326, 387	Casals A	503
Arcentales A	31	Casanova O	484
Arco A	491	Casquero-Veiga M	410
Arias FJ	331	Castañeda CE	422
Arnau MA	459	Castells F	459
Arriaga MF	96	Castillo Y	245
Arrieta S	443	Castro A	221
Arroyo CA	88	Ceballos J	455
Arroyo T	59	Cervigón Abad R	459
Arrúe M	261	Chausa P	76, 109, 455
Artés-Rodríguez A	84	Chernbumroong S	113
Artieda J	47, 175, 443	Cieza S	47
Atienza C	487	Civantos A	253
Atienza F	159, 249, 293, 406, 463	Climent AM	159, 249, 293, 402, 406, 463
Augat P	487	Coalla L	138
Azorín JM	451	Coletta DJ	331
B		Collet A	455
Bacena S	476	Concheiro A	253
Bachiller A	167	Cordero-Grande L	2, 6
Bailador G	96	Cordón I	443
Balaban E	495	Cortés C	447
Ballesteros N	435	Crespo A	88
Barbés B	257	Cruz D	310
Bartnicka J	487	Cuadrado D	154
Bayés-Genís A	31	D	
Benito-León J	281	de la Cruz JE	310
Berenfeld O	406	de Leiva A	101
Bermejo D	285	de Miguel L	257
Binefa X	277	de Molina C	134
Blanco MJ	370	de Pablo C	117
Blas L	484		

de Santiago L	163	García-Rudolph A	76, 455
de Santos D	96	García-Sáez G	80, 101, 121, 422
de Tena-Dávila MJ	117	García-Sagredo P	117
del Campo F	88	García-Santos A	134
del Portillo HA	342	García-Vázquez V	130, 394
del Pozo F	418	Garreta G	322
Desantes D	338	Gavaldà F	171
Desco M	130, 134, 394, 410, 414, 495	Gil S	154
Díaz P	217	Gilaberte Y	236
Domingo D	459	Giménez VM	224
Dubert D	171	Giraldo BF	31
Dux-Santoy L	277	Gomar C	63
E		Gómez C	196, 208
Elizalde-Torrent A	342	Gómez EJ	59, 67, 71, 76, 101, 105, 109, 113, 150, 196, 200, 208, 212, 358, 431, 435, 439, 455
Enciso S	472	Gómez JJ	426, 467
Escuer J	334	Gómez T	142
España S	285	Gómez Peña C	27, 167
Estrada L	183	Gómez-Blanco JC	228, 232, 310, 472
F		Gómez-Cid L	249, 293, 463
Fácil L	35	Gómez-Gavero MV	495
Fanjul-Vélez F	51, 326, 387	Gómez-Pilar J	27, 167
Fatti G	426	González C	121
Feldman S	331	González-Bueno J	14
Felix J	39, 43	Guaita M	265
Félix N	418, 484	Guerra P	467
Fenyöházi E	439	Guerrero M	232
Fernández A	71	Guerrero-Aspizua S	253
Fernández AJ	163	Guillem MS	159, 249, 293, 402, 406, 463
Fernández C	374	Gutiérrez A	245
Fernández E	297	Gutiérrez JO	379
Fernández-Avilés F	159, 249, 293, 406, 463	Gutiérrez-Tobal GC	88
Fernández-Santos ME	249, 293, 463	H	
Ferrer A	18	Hermoso J	55
Ferriol P	192	Hernández AM	354, 447
Figueruelo M	27	Hernández N	228
Fiz JA	179	Hernández-Romero I	159, 249, 293, 463
Frago S	236	Hernando ME	80, 101, 105, 113, 121, 422
Fuentes L	249, 293, 463	Herrero M	499
Fuster-García E	289	Homs-Corbera A	342
G		Hornero R	27, 88, 167
Gaig C	265	Hornero F	35
Galbis A	374	Hortal E	451
Gárate FJ	105	I	
Garbino F	331	Ibáñez J	451
García B	175	Ibáñez-Fonseca A	331
García I	134	Ibarra J	345
García J	236	Igual B	459
García JL	212	Iniesta JM	121
García García B	138	Iriarte A	349
García Pacheco JL	117	Iriarte J	175
García-Alcaide F	109	Izquierdo-Albero R	293
García-Carmona R	301, 349	J	
García-Casado J	183, 338, 398	Jacquemet V	43
García-Cosío B	285	Jammal MV	331
García-Gómez JM	289	Jané R	179, 183, 503
García-Mato D	414		
García-Molina A	76, 200		
García-Nieto E	138, 391		
García-Novoa JR	150		

Jiménez-Serrano S	459	Mir M	476
Juan-Albarracín J	289	Missana LR	331
K		Mitxelena O	370
Kale R	277	Molina F	196, 358
Killian M	204	Molina V	167
Korb W	439	Molleja C	358
L		Montaña E	269
Langensiepen C	113	Monteiro F	491
Ledesma-Carbayo MJ	154, 285, 467, 499	Montero JN	232
León A	109	Montserrat JM	265
Liberos A	406	Montserrat N	322
Lizarraga S	499	Morales FJ	96
Lopetegui E	443	Moreno O	221
López F	117	Moreno PA	113, 455
López J	435	Moya M	192
López JL	253	Moyano JL	71, 487
López L	318	Mujika M	261, 370
López-Blázquez R	455	Muñoz A	117, 221
López-del Río A	281	Muñoz IC	354
Lorenzo L	261	N	
Lotfi A	113	Naranjo-Hernández D	101, 480
Lozano M	179	Navarro G	121
Luengo MA	154	Negoita A	439
Luna M	150	Neuta PA	379
M		Nicolás MJ	443
Maestre J	491	Núñez FJ	142
Maestre JR	418	O	
Malanda A	383	Olías A	138
Maldonado JA	224	Olmo A	394
Manzano JA	92	Ontiveros J	196, 358
Mañanas MA	269, 447	Opisso E	196, 208, 358
Maqueda-González M	314	Oropesa I	59, 71, 431, 439
Marín Llauradó A	273	Orozco O	422
Marinetto E	414	Ortega JF	232, 491
Martí L	18	Ortega-Lara W	362
Martín A	467	Ortigosa N	374
Martín C	196	Ortiz J	289
Martín-Fernández M	2, 6, 10	Ortiz M	163
Martínez A	134	Ortuño JE	499
Martínez JM	192	Otero A	297, 301, 349
Martínez L	459	P	
Martínez MA	334	Padilla MF	484
Martínez Martínez A	154	Pagador JB	228, 232, 310, 431, 439, 472, 487, 491
Martínez Rodrigo A	187	Palomar A	265
Martínez-Campos E	253	Paoli R	322
Martínez-Moreno JM	212, 435	Pardo WA	476
Martínez-Reina J	310	Parra C	146
Mata MT	63	Pascau J	130, 134, 410, 414, 499
Matilla E	228	Pascual A	318
Mayo J	310	Pascual M	117, 221
Mayorga I	394	Peces-Barba G	285
Medina J	196, 208, 358	Pelayo-Fernández ML	51
Melia U	265	Peña E	334
Melià M	192	Perales A	338
Menasalvas E	76	Perera-Lluna A	217, 314
Merino P	154	Pérez E	370
Merino-Caviedes S	6, 10	Pérez F	499
Mijares J	228	Pérez FJ	472
Millet J	459	Pérez S	117
Mingote V	236		

Pérez Rodríguez MT	6	S	
Pérez Zaballos MT	204, 306	Salamero M	265
Pérez-Carrasco JA	22, 146	Salas-García I	51, 326, 387
Pérez-Gandía C	101	Salaverria PG	261
Pérez-Poch A	171	Salazar MB	447
Pérez-Raba R	387	Salcedo R	391
Pérez-Rodríguez R	196, 208	Salvador CH	221
Pérez-Silva J	109	Samitier J	322, 342, 476
Piedrabuena A	487	San José R	285
Pineda-Pardo JA	281	Sánchez J	491
Pons B	80	Sánchez MV	269
Pons JL	451	Sánchez R	221
Porras E	297	Sánchez Ávila C	14, 92, 96
Portabales L	117	Sánchez López de Pablo C	484
Portilla R	487	Sánchez-Carpintero R	47
Postigo M	154	Sánchez-Carrión R	212, 435
Poza J	27, 167	Sánchez-González P	59, 71, 150, 212, 431, 435, 455
Pozo J	117		
Prats JM	18	Sánchez-Margallo FM	55, 71, 228, 232, 310, 431, 439, 472, 487, 491
Prats-Boluda G	183, 338, 398		
Prieto C	2	Sánchez-Margallo JA	55, 71, 431, 487
Puig-Vidal M	241	Sánchez-Peralta LF	439, 472, 491
		Sánchez-Pollo VJ	76
R		Sándor J	439
Ramírez E	362	Santamaría J	265
Ramos V	253	Santos A	467
Ramos de Miguel A	204, 306	Santos-Coquillat A	253
Ramos Macías A	204, 306	Sanz J	459
Raya R	297, 301, 349	Sanz R	18, 126
Reina-Tosina LJ	480	Sanz-Díaz L	414, 130
Repilado JM	232	Sanz-Estébanez S	10
Revilla-Orodea A	6,10	Sanz-Gómez M	67
Rieta JJ	35, 39, 43, 187	Saperas JM	455
Rigat-Brugarolas LG	342	Sarlabous L	183
Rigla M	80	Sastre J	192
Ríos B	14	Serrano C	22, 142, 146
Ripoll J	495	Serrano JJ	418, 484
Rivera JM	379	Sesé-Lucio B	130
Roa-Romero LM	101, 318, 480	Sevilla-Ruiz MT	6,10
Robles M	224	Sierra D	84
Roca-Rodríguez E	314	Simmross-Wattenberg F	2
Rocha M	362	Skarmeas N	431, 439
Rocon E	281, 297, 301	Solana J	105, 200, 435
Rodrigo M	402, 406	Soria F	310
Rodríguez CA	345, 362	Soria JM	314
Rodríguez J	31	Soriano I	358
Rodríguez M	451	Soto-Montenegro ML	410
Rodríguez Baño J	318	Suárez-Mejías C	146
Rodríguez Falces J	383		
Rodríguez Poyo M	27	T	
Rodríguez-Cabello JC	331	Talaminos A	318
Rodríguez-Herrero A	422	Tapia J	121
Rodríguez-Vila B	59,67,71,150	Tiu C	439
Roig T	200	Tokarczyk J	487
Ros A	138, 391	Toledo A	261
Royuela-del-Val J	2	Tormos JM	76, 150, 196, 200, 208, 212, 358, 435, 455
Rubio JL	467		
Ruiz D	366	Torres A	183
Ruiz M	241	Tost D	63
Ruiz X	171	Tous F	192
Ruiz-Cabello J	285	Tsolkas G	431, 439

U

Urigüen JA	175
Urra O	503
Urrestarazu E	47
Usman M	2

V

Valcárcel LV	261
Valencia M	47, 175, 443
Valero J	338
Valero JP	476
Valero-Díaz PA	51
Valle B	301
Vallverdú M	265
Vaquero JJ	394, 495
Vázquez S	126
Velasco E	117
Viana M	71
Viera J	306
Vilaseca I	265
Villán-Villán MA	196, 208, 358
Villaplana M	80
Vitelli EJ	331
von Barnekow A	63
Voss A	31

W

Wéber G	439
---------	-----

Y

Ye-Lin Y	338, 398
----------	----------

Z

Zabalza F	331
Zena-Giménez V	398
Zorio E	459
Zuluaga AF	354
Zverev M	326



CASEIB
2 0 1 5
XXXIII

Congreso Anual
de la Sociedad
Española de
Ingeniería
Biomédica

Patrocinadores

Dräger



Medtronic

PHILIPS

SIEMENS



Colaboradores

Bionic.
BIOLOGICAL
INSPIRED
DESIGN



fundetel
ETSIT-UPM