



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
POSGRADO EN CIENCIAS FÍSICAS
INSTITUTO DE FÍSICA

OPTIMIZACIÓN DE RESTA POR ENERGÍA-DUAL DE IMÁGENES
TOMOGRÁFICAS PRECLÍNICAS CON MEDIO DE CONTRASTE

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS (FÍSICA MÉDICA)

PRESENTA:
JORGE PATRICIO CASTILLO LÓPEZ

TUTOR PRINCIPAL
DRA. MARÍA ESTER BRANDAN SIQUÉS
INSTITUTO DE FÍSICA-UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
DR. LUIS ALBERTO MEDINA VELÁZQUEZ
INSTITUTO DE FÍSICA-UNAM, INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA
DR. JORGE ALBERTO MÁRQUEZ FLORES
CENTRO DE CIENCIAS APLICADAS Y DESARROLLO TECNOLÓGICO-UNAM
M. EN C. HÉCTOR ALEJANDRO GALVÁN ESPINOSA
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA

CIUDAD DE MÉXICO, AGOSTO 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

Al Instituto de Física de la UNAM por permitir el uso de sus instalaciones y facilitar recursos de cómputo.

Al Instituto Nacional de Cancerología por permitir el uso del microCT y proveer las condiciones para realizar los estudios con ratas.

Al CONACyT por proporcionarme la beca de maestría.

A los proyectos DGAPA-PAPIIT IN-105813, IN-107916 e IN-225014 por proveer apoyo económico parcial para este proyecto de investigación.

Al PAEP-UNAM por proveer apoyo económico para la participación en tres congresos.

A ONCOVISION Proyecto Albira por su asesoría en temas relacionados con el microCT.

A la Dra. María Ester Brandan por dirigir y coordinar cada fase del proyecto de investigación.

Al Dr. Luis Alberto Medina por guiar las pruebas en rata y participar en el análisis de los resultados.

Al Dr. Jorge Alberto Márquez por su asesoría en procesamiento de imágenes.

Al Ing. Físico Industrial Leopoldo Corona-Niebla por optimizar el registro de imágenes y participar en la implementación de los métodos de reconstrucción.

Al comité Sinodal: M. en C. Itzel Torres, Dra. Amanda García, Dra. Olga Ávila, Dr. Carlos Villarreal y Dra. María Ester Brandan; por sus valiosas recomendaciones para mejorar la presentación escrita del trabajo de investigación.

A los miembros del grupo de investigación: M. en C. Eduardo López, M. en C. César Ruíz y M. en C. Lizbeth Ayala-Domínguez; por su contribución al análisis de los resultados.

A los miembros del laboratorio de Física Médica del Instituto Nacional de Cancerología: M. en C. Itzel Torres, Dra. Irene Vergara, M. en C. Alfonso Toro y M. en C. Vanessa Izquierdo; por su apoyo técnico.

Resumen

La resta por energía-dual con medio de contraste (MC) es una aplicación preclínica prometedora. Ésta permite realzar el contraste de tejido blando a partir de la resta pesada entre dos imágenes adquiridas con espectros de rayos-x diferentes. El propósito de este trabajo es optimizar la resta por energía-dual con medio de contraste yodado, para su aplicación en estudios preclínicos usando un equipo comercial de microCT.

Las imágenes se adquieren en un equipo Albira ARS, siguiendo una técnica previamente optimizada para realzar la visualización de MC yodado en imágenes 2D. Se utiliza un método independiente de reconstrucción volumétrica, seleccionado entre tres disponibles a través de una comparación en términos de calidad de imagen. A lo largo de un período de un mes, se verifica la estabilidad del microCT a partir de tres magnitudes: la no-uniformidad, el ruido y la HU del agua. Se determinan dos factores de peso (α) a través del estudio de las mezclas hueso-tejido blando y yodo-tejido blando. Se propone un método de detección automática de yodo, el cual se optimiza para maximizar la suma de la sensibilidad y la especificidad. Se realizan pruebas de la metodología propuesta en ratas con modelos tumorales.

Se establecieron valores de referencia y niveles de tolerancia para la no-uniformidad el ruido y la HU del agua. El método independiente de reconstrucción garantizó la linealidad entre la intensidad del MC en la imagen CT y su concentración y mejoró la visualización de estructuras óseas. Se escogieron dos valores de α para formar las imágenes de energía-dual: uno que maximizó la relación contraste ruido (CNR) del yodo mezclado con resina equivalente a agua y otro que minimizó la CNR entre hidroxiapatita y resina equivalente a tejido blando. La sensibilidad del método automático de detección en imágenes de maniquí con MC fue 78% y la especificidad en imágenes de ratas sin MC fue de 94%. Las pruebas efectuadas en ratas evidenciaron la capacidad de la técnica para diferenciar entre MC y estructuras calcificadas.

La técnica de substracción por energía-dual fue optimizada para mejorar la identificación y cuantificación de MC yodado en estudios preclínicos de microCT, usando un equipo comercial.

Abstract

Contrast-enhanced dual-energy subtraction has emerged as a promising preclinical application. It provides improved soft-tissue contrast by performing a weighted subtraction between two images acquired with different x-ray energy spectra. The purpose of this study is to optimize a dual-energy subtraction technique to be used in preclinical studies with a commercial microCT system.

Images are acquired in an Albira ARS microCT, following a radiological technique that was previously optimized to improved iodine visualization in 2D images. Volumes are reconstructed using an independent method. Baseline values for non-uniformity, noise and water HU are established. Weighting factors are determined from contrast analysis of mixtures of bone - soft-tissue and iodine - soft-tissue. An automatic iodine detection method is proposed. A pilot test of the optimized protocol is performed in three rats with tumor models.

Independent reconstruction method guaranteed linearity between iodine intensity and its concentration; it also improved bone visualization. Two subtraction weight factors were determined: one that maximized the contrast-to-noise ratio (CNR) of iodine mixed with soft-tissue-equivalent resin and another that minimized CNR between bone-like rods and soft-tissue-equivalent material. Automatic iodine detection method showed 78% sensitivity with phantom images and it reached 94% specificity with rat images without CM. Pilot test exhibited a good differentiation between iodine CM and calcified structures.

Dual-energy subtraction technique was optimized to improved iodine quantification in preclinical studies with a commercial microCT.

Nomenclatura

COR	Centro de rotación.
CT	Tomografía Computarizada.
FDK	Método de reconstrucción volumétrica propuesto por Feldkamp, Davis y Kress.
FFD	Algoritmo de deformación libre.
HE	Alta energía.
HR	Alta resolución.
HU	Unidades Hounsfield
LE	Baja energía.
MTF	Función de transferencia en modulación.
ROC	Característica Operativa del Receptor.
SIRT	Técnica simultánea e iterativa de reconstrucción tomográfica.
VOI	Volumen de interés.

Índice

Agradecimientos	1
Resumen.....	2
Abstract	3
Nomenclatura	4
Índice.....	5
I Introducción.....	6
II Marco Teórico	9
II.1 Técnica de resta por energía-dual.....	9
II.2 Reconstrucción volumétrica para haz de cono en órbita circular.....	12
II.3 Registro de imágenes de energía-dual.....	14
III Materiales y Métodos.....	16
III.1 Adquisición de imágenes de energía-dual y maniqués.....	16
III.2 Optimización de la reconstrucción volumétrica	18
III.2.1 Alineación entre el sistema de coordenadas de adquisición y el de reconstrucción.....	18
III.2.2 Métodos de reconstrucción independiente.....	19
III.2.3 Evaluación de la reconstrucción independiente.....	20
III.3 Verificación de la estabilidad del microCT	21
III.4 Registro de imágenes de energía-dual	21
III.5 Optimización de la resta por energía-dual	22
III.6 Detección automática de medio de contraste yodado	23
III.7 Aplicación de la metodología propuesta en ratas con modelos tumorales	24
IV Resultados y discusión.....	26
IV.1 Optimización de la reconstrucción volumétrica	26
IV.2 Verificación de la estabilidad del microCT	30
IV.3 Optimización de la resta por energía-dual	32
IV.4 Detección automática de yodo.....	34
IV.5 Aplicación de la metodología propuesta en ratas con modelos tumorales	37
V Conclusiones	40
Referencias.....	41
Apéndice A. Formulación de la resta pesada.....	46
Apéndice B. Eliminación de la sobre-determinación en la técnica de energía-dual con dos sustancias	48
Apéndice C. Cálculo de factores efectivos de atenuación para las técnicas de alta y baja energía.....	53
Apéndice D. Prueba de centro de rotación en geometría de haz de cono	56
Apéndice E. Evolución temporal de la no-uniformidad, el ruido y la HU del agua para las técnicas LE y HE	58

I Introducción

La micro-tomografía de rayos-x es una modalidad imagenológica no invasiva con amplio uso preclínico.¹ Una de sus aplicaciones cuantitativas prometedoras son los estudios de energía-dual con medio de contraste (MC). La técnica utiliza medio exógeno de contraste y la dependencia energética del coeficiente lineal de atenuación para mejorar la discriminación de estructuras blandas y cuantificar algunas funciones biológicas. A grandes rasgos, consta de tres etapas: administración del medio de contraste; adquisición de dos estudios usando diferentes espectros de radiación, estudio de alta y baja energía; y formación de la imagen de energía-dual (DE por sus siglas en inglés). Existen varios métodos para formar la imagen DE,²⁻⁴ en este trabajo se obtuvo de la resta pesada entre las imágenes de alta y baja energía (resta por energía-dual).

La técnica de energía-dual puede ser utilizada para reducir ruido estructurado en la imagen de microCT, incrementando la detectabilidad del medio de interés; aumentar la sensibilidad a la presencia del contraste, o para separar tres sustancias diferentes que se encuentran superpuestas dentro de un volumen conocido.^{5,6} Sus aplicaciones preclínicas incluyen: el análisis de la red vascular en tumores con diferente grado de agresividad;⁷ la visualización del cambio en la distribución del MC como función del ciclo cardíaco;⁸ la estimación del volumen vascular, tisular y la fracción de aire en pulmones de roedores;⁹ la cuantificación de estenosis en vasos sanguíneos;¹⁰ la determinación de la permeabilidad vascular de un modelo murino de tumor de pulmón;^{5,11} y la medición de la función cardíaca de un ratón.¹² Esta tesis contribuye a un proyecto de investigaciones biomédicas, que contempla el estudio del proceso de formación de nuevos vasos en un modelo murino de tumor de mama. Junto a sus potencialidades, la obtención de las imágenes de energía-dual constituye un reto.

Las imágenes de micro-CT poseen una mayor cantidad de ruido que las de un CT clínico, de la misma forma que gozan de una mayor resolución espacial. Este ruido es amplificado durante el proceso de obtención de la imagen DE, disminuyendo la detectabilidad del medio de interés o la precisión de la cuantificación. Para reducir este efecto se ha recurrido al uso de filtros bilaterales previo a la formación de la imagen DE,

con resultados positivos en la preservación de la relación señal ruido, sin afectar significativamente la resolución espacial.^{8,11,13}

La posible falta de correspondencia espacial entre las imágenes de alta y baja energía (HE y LE por sus siglas en inglés, respectivamente) causaría artefactos en la imagen DE, que pueden ser incorrectamente interpretados como MC. Existen tres esquemas de adquisición de los estudios HE y LE que condicionan su grado de registro espacial: secuencial con una sola fuente de rayos-x, simultánea con dos fuentes de rayos-x y simultánea con una sola fuente de rayos-x que alterna entre dos potenciales diferentes (kV). Clark y cols.¹¹ concluyeron que la alternancia entre kV ofrecía los mejores resultados en su microCT, recurriendo a un registro rígido que resultó en una rotación de solo 0.5° alrededor del centro de rotación. Ashton y cols.⁵ aplicaron una transformación afin para registrar las imágenes adquiridas en un microCT de dos tubos de rayos-x. Castillo y cols.¹⁴ combinaron una transformación global afin con una transformación no lineal del volumen de interés para registrar estudios adquiridos de forma secuencial.

La cinética del MC es otro de los elementos que puede limitar el desempeño de la técnica de energía-dual. Los agentes convencionales (MC clínico), de bajo peso molecular, son eliminados rápidamente por los roedores, lo que requiere tiempos de adquisición muy cortos. En su lugar, se prefieren los agentes de permanencia en sangre y los compuestos de nanopartículas, los cuales poseen un tiempo de tránsito mayor.¹

Para este proyecto de tesis se disponía de una unidad comercial de microCT, cuyas imágenes reconstruidas originales no poseen las características necesarias para aplicar la técnica de energía-dual con propósitos cuantitativos. Los valores de los vóxeles (llamados unidades de CT por el software del microCT) no coinciden con la definición de las unidades Hounsfield (HU) y como consecuencia, las unidades de CT no son una función lineal de la concentración de MC yodado. Además, como usuario no se tiene acceso al método de reconstrucción ni al proceso de post-procesado. Los resultados cuantitativos también son afectados por la capacidad del microCT para producir imágenes iguales en adquisiciones idénticas. Berumen y colaboradores,¹⁵ quienes realizaron un análisis detallado de las imágenes 2D producidas por el mismo microCT, encontraron variaciones temporales en las respuesta del equipo y propusieron un protocolo de adquisición que las

redujo significativamente. Sin embargo, el impacto de estas variaciones sobre las imágenes reconstruidas no formó parte del alcance de su investigación.

El objetivo de este trabajo fue optimizar la técnica de resta por energía-dual con medio de contraste yodado, para su aplicación preclínica usando una unidad comercial de microCT.

Para alcanzar el objetivo se plantearon las siguientes metas:

1. Optimizar un método independiente de reconstrucción volumétrica.
2. Verificar la estabilidad del microCT para imágenes 3D.
3. Optimizar la resta por energía-dual para las mezclas de interés preclínico MC yodado-agua y hueso-agua.
4. Proponer un método automático de detección y cuantificación de MC yodado basado en la resta por energía-dual.
5. Aplicar la metodología propuesta en ratas con modelos tumorales.

II Marco Teórico

II.1 Técnica de resta por energía-dual

La técnica de energía-dual consiste en adquirir dos imágenes del mismo objeto usando espectros distintos de rayos-x y luego combinarlas para generar una imagen con propiedades optimizadas. El contraste en una imagen radiográfica está dado por la relación entre los coeficientes de atenuación (μ) de las sustancias que componen al objeto de estudio. Para cada sustancia, μ varía con la energía del espectro de rayos-x de forma diferente (Fig. II.1). La técnica de energía-dual usa esa variación para obtener información adicional del objeto. Dependiendo de su complejidad, la nueva información se puede utilizar para cuantificar o para realzar el contraste de una sustancia específica. Si las discontinuidades de μ son despreciables, una tercera imagen no aportaría nueva información, pues sería linealmente dependiente de las anteriores.²

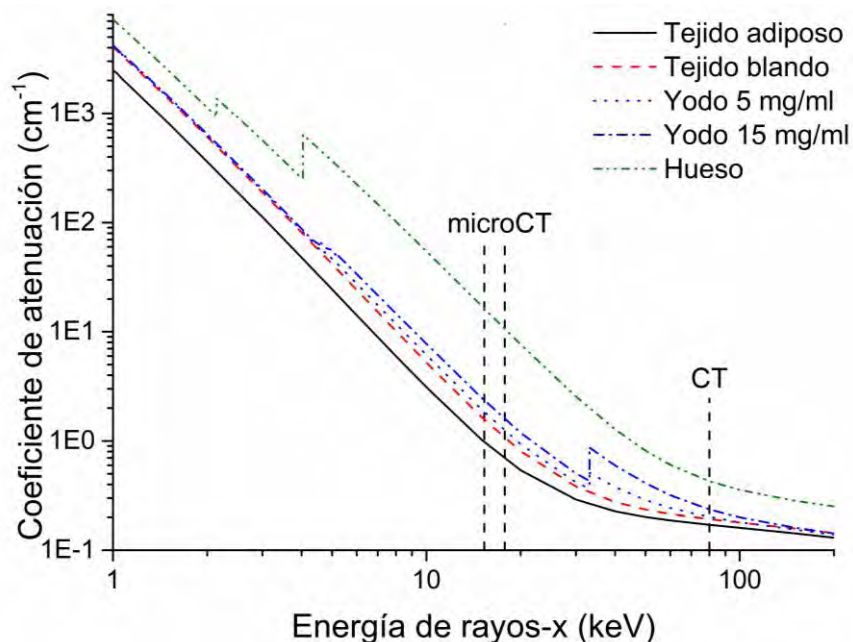


Figura II.1. Coeficientes lineales de atenuación de sustancias con interés clínico.

Existen diferentes métodos para combinar las dos imágenes. La mayoría han sido desarrollados para estudios en 2D,²⁻⁴ pero son válidos para las imágenes de CT al cambiar la formulación de espesor equivalente de material a concentración másica de sustancia. El propósito de cada uno es dar solución al siguiente sistema de ecuaciones:

$$I_{HE}(i) = F_{HE}(\sigma_1, \sigma_2, \sigma_3) \quad [\text{II.1}]$$

$$I_{LE}(i) = F_{LE}(\sigma_1, \sigma_2, \sigma_3) \quad [\text{II.2}]$$

$$\frac{\sigma_1}{\rho_1} + \frac{\sigma_2}{\rho_2} + \frac{\sigma_3}{\rho_3} = 1 \quad [\text{II.3}]$$

donde $I_{HE}(i)$ e $I_{LE}(i)$ son las intensidades del vóxel i en la imagen obtenida con el espectro de rayos-x de mayor (HE) y menor energía (LE), respectivamente; σ_j y ρ_j son la concentración en mg/ml y la densidad en mg/ml de la sustancia j en el vóxel i , respectivamente; y las funciones F_{HE} y F_{LE} forman la imagen. Estas dos funciones son muy complejas y, en sentido estricto, dependientes de la composición de todos los vóxeles, si se considera el endurecimiento del haz y la detección de rayos-x dispersos.

Para dar solución al sistema de ecuaciones, F se ajusta a una forma analítica a través de una calibración, siendo la función lineal la más sencilla y utilizada.¹¹ Con esta aproximación el sistema de ecuaciones se reduce a:

$$FT_{HE}(i) = \frac{FT_{HE,1}}{\rho_1} \sigma_1 + \frac{FT_{HE,2}}{\rho_2} \sigma_2 + \frac{FT_{HE,3}}{\rho_3} \sigma_3 \quad [\text{II.4}]$$

$$FT_{LE}(i) = \frac{FT_{LE,1}}{\rho_1} \sigma_1 + \frac{FT_{LE,2}}{\rho_2} \sigma_2 + \frac{FT_{LE,3}}{\rho_3} \sigma_3 \quad [\text{II.5}]$$

$$\frac{\sigma_1}{\rho_1} + \frac{\sigma_2}{\rho_2} + \frac{\sigma_3}{\rho_3} = 1 \quad [\text{II.6}]$$

donde $FT_{HE}(i)$ y $FT_{LE}(i)$ son los factores efectivos de atenuación del vóxel i en las imágenes de alta y baja energía, respectivamente; y $FT_{HE,j}$ y $FT_{LE,j}$ son los factores efectivos de atenuación en las imágenes de alta y baja energía, de un vóxel compuesto exclusivamente por la sustancia j . Los últimos se obtienen a partir de imágenes de muestras con concentraciones conocidas de las sustancias de interés (calibración). La

solución de este sistema, vóxel por vóxel, es una de las técnicas de energía-dual. La resta pesada es otra de las técnicas.^{3,16} Ésta también se deriva de la solución del sistema anterior (apéndice A), pero es operativamente más sencilla:

$$I_{DE} = I_{HE} - \alpha I_{LE} \quad [\text{II.7}]$$

donde I_{DE} es la imagen de energía-dual; I_{HE} e I_{LE} son las imágenes de alta y baja energía; y α es un factor de peso que, por ejemplo, se puede calibrar para eliminar el contraste entre dos sustancias deseadas, produciendo una imagen exclusivamente dependiente de la concentración de la tercera sustancia. Existe libertad para que alfa cumpla otros propósitos.¹⁷ Siguiendo la nomenclatura del sistema (II.4 - II.5), el factor de peso que elimina el contraste entre las sustancias 2 y 3, es decir, que iguala el valor de vóxel de las sustancias 2 y 3 en la imagen restada, tiene la forma:

$$\alpha = \frac{FT_{HE,2} - FT_{HE,3}}{FT_{LE,2} - FT_{LE,3}} \quad [\text{II.8}]$$

Se han reportado varias vías para calibrar α . Arvanitis y Speller¹⁸ usaron la ecuación II.8 con coeficientes de atenuación medios, pesados por el espectro de rayos-x y la respuesta del detector. Gang y cols.⁶ sugirieron un ajuste de α basado en la inspección visual de estructuras en la imagen de energía-dual, para considerar variaciones con respecto a las condiciones de calibración en términos de cantidad de radiación dispersa y respuesta del detector. Palma y cols.¹⁹ lo calcularon como la razón entre el valor medio en la imagen de HE y la imagen de LE, para una misma región de interés, observando gran variación con la selección de la región. En este trabajo de investigación la calibración se realizó a través de la optimización de la relación contraste ruido (CNR) en la imagen de energía-dual.

En la imagen de energía-dual las concentraciones se calculan a partir de curvas de calibración que dependen de las sustancias de interés y de α . Cuando la cuantificación se realiza sobre una mezcla de tres medios (en un mismo vóxel), α debe cumplir la ecuación II.8 y el resultado es equivalente a resolver el sistema II.4 - II.6. Sin embargo, en microCT son más comunes las mezclas con solo dos sustancias dentro de un mismo vóxel. En esos casos surge una sobre-determinación en el sistema II.4 - II.6, que es

discutida y resuelta en el anexo B. En éste se demuestra que la resta pesada conduce a la solución con mayor probabilidad de satisfacer II.4 - II.6 y menor desviación estándar, sólo cuando:

$$\alpha = -\frac{\sigma_{HE}^2}{\sigma_{LE}^2} \frac{FT_{LE,2} - FT_{LE,1}}{FT_{HE,2} - FT_{HE,1}} \quad [II.9]$$

donde σ_{HE} y σ_{LE} son las desviaciones estándares de los valores de intensidad, en unidades de atenuación, para las imágenes de alta y baja energía. Este resultado sugiere ampliar la formulación de la resta pesada, para incluir factores de peso negativos.

Existen ejemplos de aproximaciones de segundo y tercer orden para el sistema de ecuaciones II.1 - II.3.^{4,20} Sin embargo, para las concentraciones y sustancias utilizadas en este trabajo, la aproximación lineal reprodujo bien a los resultados experimentales.

II.2 Reconstrucción volumétrica para haz de cono en órbita circular

En geometría de haz de cono el tubo de rayos-x y un detector plano giran alrededor del objeto adquiriendo imágenes 2D (proyecciones), a diferentes ángulos (Fig. II.2). El proceso de reconstrucción consiste en determinar, a partir de las proyecciones, la distribución volumétrica de coeficientes de atenuación dentro del objeto de interés. Cuando la órbita recorrida por el tubo de rayos-x es circular, la información en las proyecciones no es suficiente para reconstruir de forma exacta todo el volumen de interés.²¹ En esta geometría, el método aproximado de reconstrucción más popular es el propuesto por Feldkamp, Davis y Kress:²² las proyecciones son pesadas con un factor geométrico; cada fila en las proyecciones es convolucionada con el filtro rampa que se aplica en la solución exacta para un haz de abanico; y retroproyectadas usando la dirección de los rayos originales. Este método ofrece una solución exacta en el corte central y aproximada para el resto de los cortes. Los artefactos aumentan con el ángulo de apertura del cono en la dirección axial. El tiempo de ejecución del método es corto en comparación con los métodos iterativos de reconstrucción.²¹

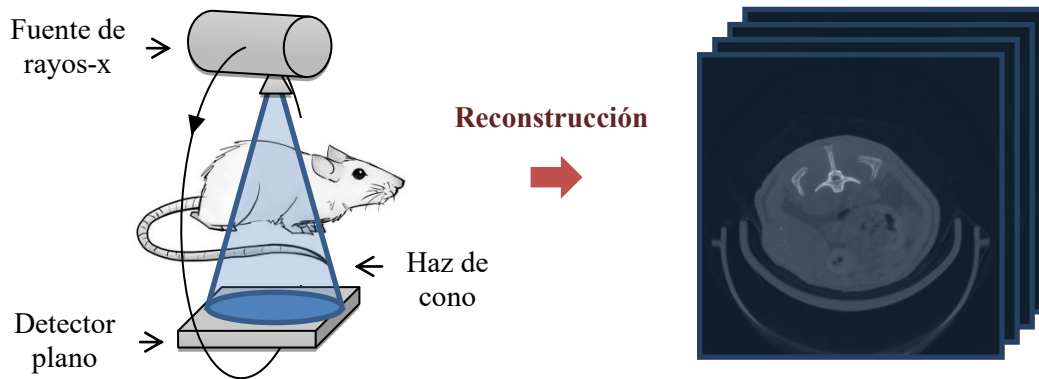


Figura II.2. Esquema de la adquisición de una micro-tomografía con haz de cono.

La formulación de los métodos iterativos de reconstrucción es poco dependiente de la geometría de adquisición: haz de cono, haz de abanico, haz paralelo, etc.²³ Se dividen en dos categorías, los métodos estadísticos y los algebraicos. Los primeros, buscan la distribución de coeficientes de atenuación con la mayor probabilidad de haber producido las proyecciones medidas. Para ello utilizan la física que subyace a la formación de las imágenes e información a priori del objeto de estudio (Ej.: que está compuesto en su mayoría por regiones uniformes). Los segundos, se basan en la solución del siguiente sistema de ecuaciones lineales:

$$P = \mathbf{M}(i, j) \cdot I \quad [\text{II.10}]$$

donde P e I son las proyecciones y la distribución de coeficientes de atenuación expresada en forma vectorial, $\mathbf{M}(i, j)$ es un factor que considera cuánto influye el coeficiente de atenuación del vóxel j sobre el valor del pixel i en las proyecciones. En estos métodos es necesario conocer el camino de los rayos-x que forman las proyecciones. Los términos en la matriz \mathbf{M} (matriz de proyección) se pueden calcular siguiendo diferentes criterios geométricos: la longitud, el área o el volumen del rayo, que es interceptada por el vóxel. Existen diferentes vías para solucionar el sistema de ecuaciones II.10, en esta tesis sólo se utilizó la técnica simultánea e iterativa de reconstrucción tomográfica (SIRT por sus siglas en inglés),²⁴ en la que se llega a la solución siguiendo la siguiente ecuación:

$$I^{(t+1)} = I^{(t)} + \mathbf{C}\mathbf{M}^T\mathbf{R}(P - \mathbf{M} \cdot I^{(t)}) \quad [\text{II.11}]$$

donde $I^{(t)}$ e $I^{(t+1)}$ son las soluciones en la iteración t y $t+1$; \mathbf{M} es la matriz de proyección y \mathbf{M}^T es la de retroproyección; P es el vector de proyecciones; $\mathbf{C}(j, j) = 1/\sum_j \mathbf{M}(i, j)$ y $\mathbf{R}(i, i) = 1/\sum_i \mathbf{M}(i, j)$ son matrices diagonales que corrigen por el número variable de rayos que interceptan un mismo vóxel y por el número variable de vóxeles que interceptan un mismo rayo, respectivamente.

II.3 Registro de imágenes de energía-dual

El registro consiste en encontrar la transformación geométrica que relaciona el contenido espacial entre una imagen “móvil” y una de referencia, de forma biunívoca.²⁵ La mayoría de las técnicas de registro poseen tres elementos principales: una métrica de la calidad del registro (función de costo), un tipo de transformación geométrica y una estrategia de optimización.

La función de costo se selecciona teniendo en cuenta la relación esperada entre las intensidades de las imágenes (tabla II.1). Si dicha relación es una función conocida, $I_R = f(I_M)$ más ruido gaussiano, la función objetivo alcanza su mínimo cuando $I_R - f(I_M) = 0$. Cuando $f(I_M)$ no existe, o es muy compleja, se usan rasgos (bordes, curvas, etc.) o criterios de similitud como la entropía conjunta y la información mutua.²⁶

Tabla II.1. Funciones de costo más comunes para imágenes de una misma modalidad.

Función de costo	Relación esperada entre las intensidades
Mínimos cuadrados	$f(I_M) = I_M$
Desviación de la razón	$f(I_M) = aI_M$
Coficiente de correlación	$f(I_M) = aI_M + b$

Existen muchos modelos de transformación geométrica,²⁵ en este trabajo de investigación sólo se utilizó la transformación afín y el algoritmo de deformación libre (FFD) basado en B-splines.²⁶ La deformación afín conserva el paralelismo entre línea rectas; expresada en coordenadas homogéneas es una matriz de 4×4 , con 12 parámetros libres que incluyen una transformación global rígida en el espacio de tres dimensiones y escalamiento.²⁵ El

algoritmo FFD realiza deformaciones locales no rígidas a través de la manipulación de una malla subyacente de puntos de control. La resolución de la malla define el alcance de las deformaciones, a menor resolución, menor alcance. La deformación consiste en desplazar los puntos de control, a partir de los cuales la función de transformación B-spline genera la nueva posición del resto de los vóxeles. El algoritmo conserva la continuidad hasta la segunda derivada en el mapa de deformación (B-spline cúbico).

El registro es una transformación geométrica que no debe modificar la intensidad. Sin embargo el re-muestreo de la imagen modificada para que se ajuste a una matriz cuadrada requiere interpolación. Para las aplicaciones con interés cuantitativo, como la técnica de energía-dual, la interpolación B-spline cúbica ofrece un buen balance entre exactitud y tiempo de procesamiento.²⁵

En sentido estricto, la relación entre las intensidades (HU) de las imágenes de energía-dual depende de la composición del objeto de estudio (ver apéndice B para detalles). Las funciones de costo de la tabla II.1 deben ser usadas de forma restringida. Para un registro global, donde el medio con mayor presencia es el agua, se puede usar la desviación de la razón considerando sólo las intensidades similares a la del agua (-300 a 300 HU). Para volúmenes de interés (VOI por sus siglas en inglés) donde predomine la mezcla de dos medios (hueso-agua o MC-agua) la función de costo adecuada sería el coeficiente de correlación.

El microCT usado en este trabajo realiza las adquisiciones de energía-dual una a continuación de la otra, tomando entre 8 y 25 minutos por estudio. En condiciones preclínicas, la rata permanece sedada todo el tiempo, limitando los desplazamientos globales entre las dos imágenes. Sin embargo, se esperan deformaciones locales producidas por el llenado de la vejiga con MC y otros movimientos internos.

III Materiales y Métodos

III.1 Adquisición de imágenes de energía-dual y maniqués

Las imágenes fueron adquiridas en la sección microCT de un escáner trimodal Albira ARS4 (ONCOVISION). Ésta posee un tubo de rayos-x con ánodo de tungsteno, filtro interno de 500 μm de aluminio y un detector de panel plano con centellador de CsI(Tl), cuyo tamaño mínimo de píxel es de 50 μm .²⁷ La técnica de adquisición por energía-dual, fue previamente optimizada para mejorar el contraste de resinas yodadas, en imágenes 2D.¹⁵ De acuerdo a dichos resultados, los parámetros de adquisición para LE y HE usados en este estudio fueron [30 kV, 0.8 mA] y [45 kV + 25 μm de Mo como filtro externo, 0.8 mA], respectivamente. Las adquisiciones se realizaron una a continuación de la otra, comenzando por la de HE. El microCT pasa por un proceso de calibración de cada técnica (HE y LE), que consiste en tomar imágenes sin objeto. Los posibles errores en el proceso de calibración, como uso inadecuado del filtro externo, afectarán a todas las imágenes adquiridas a continuación.

El número de proyecciones se ajustó a los requisitos de cada adquisición, considerando la duración del estudio (tabla III.1). El tamaño del píxel en cada proyección fue de 100 μm , excepto para las consideradas de alta resolución (HR), en las cuales fue de 50 μm .

El valor de vóxel en las imágenes reconstruidas con el software del microCT no sigue la definición de unidades Hounsfield.²⁸ En su lugar se utiliza una tabla de conversión de unidades de transmisión de radiación a “unidades de CT”, previamente establecida por el fabricante a través de una calibración inaccesible para el usuario.

Tabla III.1. Número de adquisiciones permitidas por el software del microCT.

Número de proyecciones	120	250	400	600	1000
Tamaño del píxel en cada proyección (μm)	100	100	100	100	50
Duración del estudio (min)	6	8	12	20	25

En el trabajo de investigación se utilizaron los cuatro maniqués descritos a continuación.

Maniquí rellenable con agua – Es un cilindro de acrílico (40 mm \varnothing \times 50 mm) rellenable con agua (Fig. III.1.a). Se utilizó en la determinación de la función de

transferencia en modulación (MTF), la no-uniformidad, el ruido y la HU del agua.

Maniquí CIRS 090 – Este maniquí aproximadamente cilíndrico (20 mm Ø × 60 mm), contiene once barras de hidroxapatita (HA) mezclada con una resina equivalente a tejido blando (Fig. III.1.b).²⁹ La concentración de HA se encuentra en el intervalo 0 – 750 mg/ml. En el centro tiene una sección equivalente a pulmón. Se utilizó en el estudio con energía-dual de la mezcla hueso-tejido blando.

Resinas de yodo – Son cuatro resinas, con forma de ortoedro (10 × 10 × 40 mm³), calibradas con concentraciones de yodo en el intervalo 0 – 3 mg/ml (Fig. III.1.c).³⁰ Se utilizó en el estudio con energía-dual de la mezcla yodo-tejido blando.

Cilindros de yodo – Es un maniquí fabricado para este trabajo, que consta de siete muestras de medio de contraste clínico Iomeron 400 (PATHEON) disuelto en agua (Fig. III.1.d). La concentración de yodo se encuentra en el intervalo 0 – 5 mg/ml. Se utilizó en el estudio con energía-dual de la mezcla yodo-tejido blando.

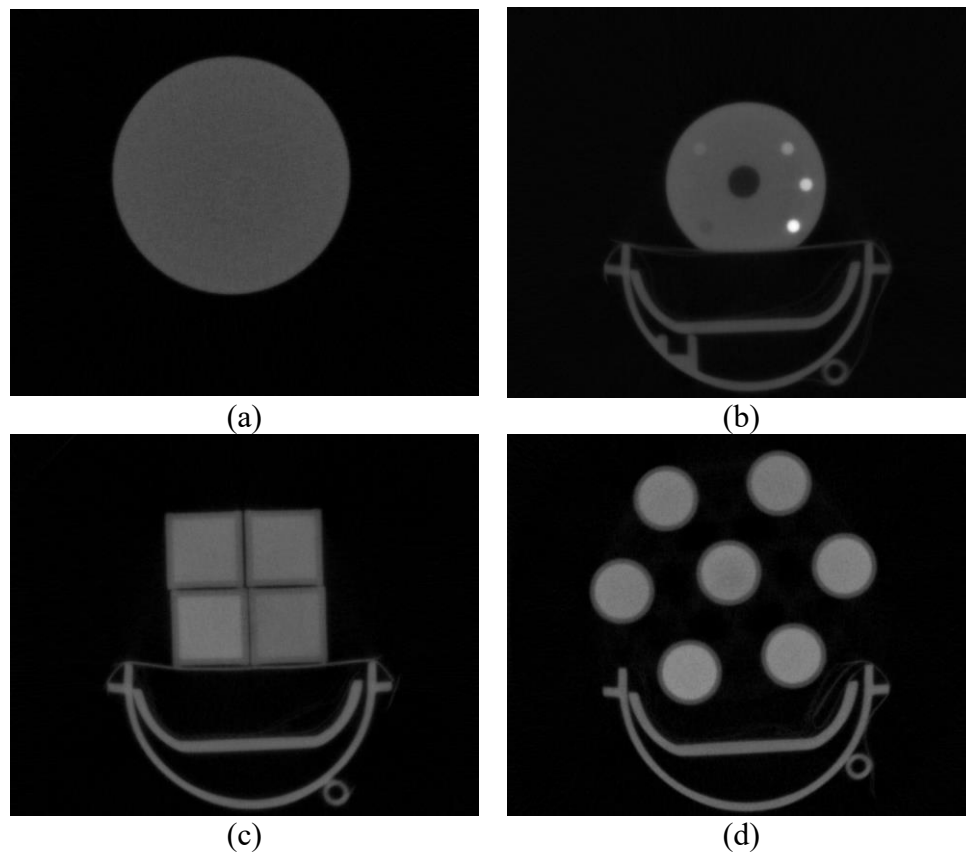


Figura III.1. Corte axial de estudios con HE de los maniqués utilizados en este trabajo: (a) maniquí rellenable con agua, (b) CIRS 090, (c) resinas de yodo y (d) cilindros de yodo.

III.2 Optimización de la reconstrucción volumétrica

III.2.1 Alineación entre el sistema de coordenadas de adquisición y el de reconstrucción

La posición relativa entre el foco de rayos-x, el detector y el eje de rotación del tubo conforma la geometría de adquisición. Para simplificar la descripción, el centro del sistema de coordenadas se ubica en el centro del campo de visión del microCT, con el eje x en la dirección del eje de rotación. Idealmente, el detector es paralelo al plano xy , con el centro del detector y el foco de rayos-x ubicado en el eje z (Fig. III.2.a). En los sistemas reales, las desviaciones con respecto a la geometría de adquisición ideal deben ser consideradas dentro del algoritmo de reconstrucción.

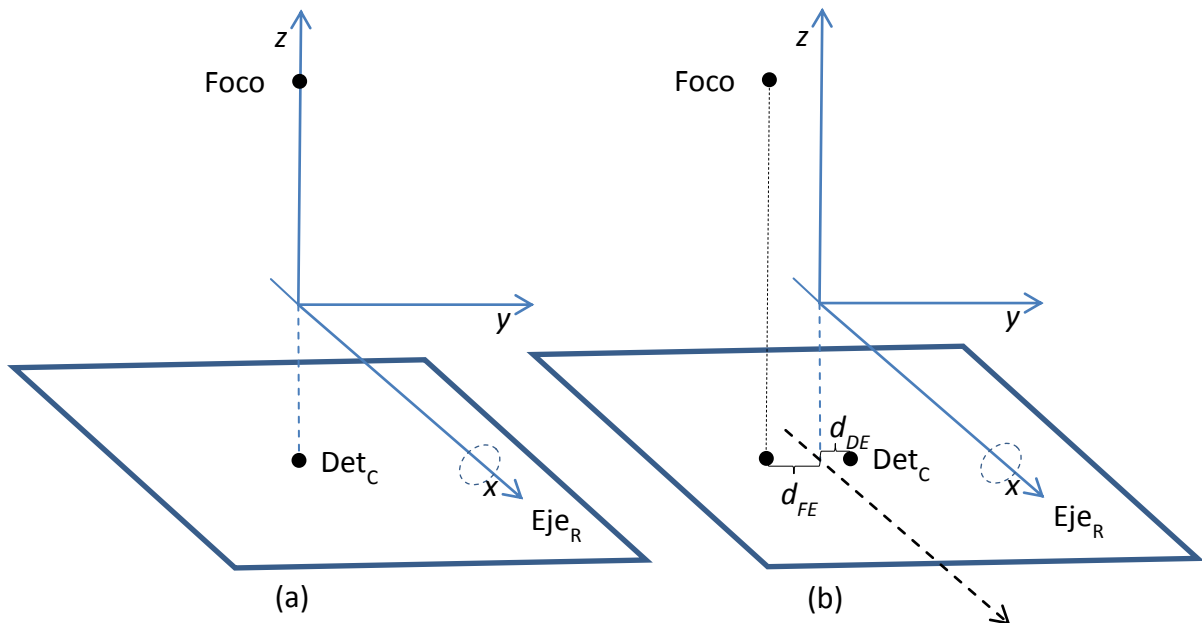


Figura III.2. Geometría de adquisición ideal (a) y real (b). Det_c es el centro del detector; d_{DE} es la distancia entre el eje de rotación (Eje_R) y el centro del detector, en el plano del detector; y d_{FE} es la distancia entre el eje de rotación y el foco, en el plano del detector.

Existen varios métodos indirectos para determinar las posiciones reales del detector y el foco de rayos-x.^{31,32} En este trabajo se combinó información proveniente del fabricante con mediciones. Las distancias foco - eje de rotación y foco - detector, así como las rotaciones del detector (despreciables) fueron proporcionadas por el fabricante. Las distancias entre el centro del detector, el eje de rotación y el foco, en el plano del detector (Fig. III.2.b), fueron aproximadas usando una prueba de centro de rotación.³³ Ésta fue

implementada con una aguja de insulina (apéndice D); se adquirieron 400 proyecciones con la técnica de alta energía. Se realizó un ajuste fino de las distancias para que se maximizara la desviación estándar en el corte central de la aguja reconstruida. Como la aguja es muy fina la desviación estándar es un descriptor de la resolución espacial. La desviación estándar se calculó en una región de interés que cubría la aguja y la reconstrucción se realizó con el método SIRT 2D que se describe en la próxima sección.

III.2.2 Métodos de reconstrucción independiente

Se consideraron tres métodos de reconstrucción independiente: FDK, SIRT 2D y SIRT 3D; implementados usando el toolbox de Matlab ASTRA.^{34,35} Los algoritmos se ejecutaron en una tarjeta gráfica Tesla™ M2090 (NVIDIA), la cual posee 512 núcleos de procesamiento y 6 GB de memoria. Los detalles de la implementación se describen a continuación.

FDK – Se utilizó el método FDK_CUDA del toolbox ASTRA, el cual supone una geometría de adquisición ideal. Las proyecciones se trasladaron para corregir el desplazamiento d_{DE} , el desplazamiento del foco (d_{FE}) no se tuvo en cuenta. Usa filtro rampa truncado en la frecuencia de Nyquist, definida por el tamaño de píxel, sin filtro para atenuar las altas frecuencias.

SIRT 2D – Las proyecciones son pesadas con un factor geométrico derivado del FDK y cada corte se reconstruye como si correspondiera a un haz de abanico con distancia foco – eje de rotación y eje de rotación – detector igual a R y d , respectivamente. Para la reconstrucción por cortes se utilizó el método iterativo SIRT_CUDA del toolbox ASTRA. La dirección de los haces de radiación se ajustó para considerar los desplazamientos d_{DE} y d_{FE} (Fig. III.2).

SIRT 3D – Se genera una matriz de proyección con el método opTomo del toolbox ASTRA, considerando el haz de cono y los desplazamientos d_{DE} y d_{FE} . La reconstrucción se realiza de forma iterativa usando el método SIRT descrito en el epígrafe II.2 (ecuación II.11).

El valor de vóxel en las imágenes reconstruidas se convirtió a unidades Hounsfield (HU) usando la expresión:

$$HU(i) = 1000 \frac{FT(i) - FT_w}{FT_w} \quad [\text{III.1}]$$

donde $HU(i)$ es el valor del vóxel i expresado en HU; $FT(i)$ es el factor efectivo de atenuación del vóxel i ; y FT_w es el factor efectivo de atenuación de un vóxel formado exclusivamente por agua.

III.2.3 Evaluación de la reconstrucción independiente

Los tres métodos independientes de reconstrucción se compararon en términos de calidad de imagen y capacidad para manejar proyecciones de alta resolución. La calidad de imagen se evaluó a través del índice Q , que combina la influencia del ruido y la resolución espacial en un solo valor:³⁶

$$Q = c \frac{f^3}{\sigma^2 \cdot S \cdot D} \quad [\text{III.2}]$$

donde c es una constante para que Q sea adimensional, f [pl/mm] es la frecuencia a la que la función de transferencia en modulación (MTF) alcanza el 10%, σ es la desviación estándar calculada sobre una región uniforme, S es el ancho del corte y D es la corriente integrada del tubo de rayos-x (mAs). Como la evaluación se realiza sobre algoritmos de reconstrucción aplicados a un mismo conjunto de proyecciones, S y D se excluyen del cálculo porque permanecen constantes. Por lo tanto:

$$Q = c \frac{f^3}{\sigma^2} \quad [\text{III.3}]$$

donde $c = mm^3 HU^2$. Un valor mayor de Q significa mejor calidad de imagen.

La MTF se obtuvo de la función de respuesta a borde en la interface acrílico-aire del maniquí rellenable con agua,³⁷ σ se determinó en un volumen de interés (27 mm^3) ubicado en el centro del maniquí. Se adquirieron 250 proyecciones en 360° , usando las técnicas LE y HE. Los volúmenes se reconstruyeron con vóxeles de lado $100 \mu\text{m}$.

El método independiente de reconstrucción que presentó el mejor desempeño, fue comparado con la reconstrucción que realiza el software del microCT en términos de linealidad entre el valor de vóxel y la concentración de yodo, resolución espacial y ruido. La linealidad se estimó usando el maniquí de resinas de yodo, del que se adquirieron estudios en tres días diferentes y se promediaron los resultados. La resolución espacial se calculó a partir de la MTF obtenida previamente. El ruido fue evaluado de forma cualitativa, porque las unidades de valor de vóxel en las imágenes reconstruidas con el software del microCT y el método independiente son diferentes y se desconoce la función de conversión entre ellas.

III.3 Verificación de la estabilidad del microCT

La estabilidad del microCT se estudió a lo largo de un período de un mes evaluando tres magnitudes: la no-uniformidad, el ruido y la HU del agua. Se adquirieron 13 estudios de 250 proyecciones del maniquí rellenable con agua con ambas técnicas (HE y LE). Los volúmenes se reconstruyeron usando el método independiente. Se seleccionó un VOI en el centro del maniquí y otros cuatro cerca de la frontera (27 mm^3 cada uno). La HU del agua y el ruido se determinaron como el valor medio y la desviación estándar en el VOI central. La no-uniformidad se estimó como la máxima diferencia entre el valor medio en el VOI central y el valor medio en los VOI periféricos. Los resultados permitieron establecer valores de referencia para cada magnitud.

Adicionalmente, se analizó la estabilidad del microCT en adquisiciones continuas de 10 imágenes de LE, una hora y tres horas después de encender el microCT.

III.4 Registro de imágenes de energía-dual

El registro entre las imágenes de energía-dual fue previamente optimizado para maximizar la información mutua normalizada.¹⁴ Siguiendo las recomendaciones de dicho trabajo, se realizó una transformación afín global, más una transformación no lineal del volumen de interés (tumor) utilizando el algoritmo FFD. Las imágenes de HE se tomaron como fijas. La transformación afín se efectuó con el software AIR,³⁸ función de costo desviación de la razón, y restricción en las intensidades a la región entre -300 y 300 HU. La transformación FFD fue determinada usando el toolbox de Matlab MIRT, función de

costo coeficiente de correlación, 3 vóxeles de tamaño de mallado, y condición de finalización en 100 iteraciones.

III.5 Optimización de la resta por energía-dual

La determinación del factor de peso (α) se realizó para dos mezclas: hueso-tejido blando y yodo-tejido blando. La primera se estudió usando el maniquí CIRS 090. La relación entre HU y concentración de hidroxapatita (HA) se ajustó al modelo lineal y se determinó el factor α que minimizaba la CNR entre la HA y el material equivalente a tejido blando. Para la segunda mezcla se obtuvieron imágenes del maniquí de resinas de yodo. La relación entre HU y concentración de yodo también se ajustó al modelo lineal y se determinó el factor α que maximizó la CNR. La CNR se calculó usando su expresión estándar:

$$CNR(C_I, \alpha) = \frac{|V_I - V_0|}{\sqrt{\sigma_I^2 + \sigma_0^2}} \quad [III.4]$$

donde V_I , V_0 , σ_I y σ_0 corresponden al valor medio de HU y la desviación estándar de las resinas con concentración de yodo C_I y 0 mg/ml, respectivamente. En este trabajo se obtuvo una expresión para la CNR explícitamente dependiente de α , la cual se derivó de la ecuación anterior, usando la definición de resta pesada y asumiendo linealidad entre las HU y la concentración de yodo:

$$V_I = m_{HE} C_I + n_{HE} - \alpha(m_{LE} C_I + n_{LE}) \quad [III.5]$$

$$V_0 = n_{HE} - \alpha \cdot n_{LE} \quad [III.6]$$

$$CNR(C_I, \alpha) = \frac{|m_{HE} - \alpha m_{LE}| C_I}{\sqrt{\sigma_{HE}^2 + \alpha^2 \sigma_{LE}^2}} \quad [III.7]$$

donde m_{HE} y m_{LE} son las pendientes de las relaciones HU concentración de yodo para las técnicas HE y LE, $\sigma_{HE}^2 = \sigma_{HE,I}^2 + \sigma_{HE,0}^2$ y $\sigma_{LE}^2 = \sigma_{LE,I}^2 + \sigma_{LE,0}^2$ son las varianzas

combinadas de las resinas con y sin yodo para las técnicas HE y LE, respectivamente. La ecuación III.7 fue validada con valores de CNR obtenidos de aplicar la ecuación III.4 en las imágenes de energía-dual. El límite de detectabilidad se estableció en $CNR \geq 5$, según el criterio de Rose.³⁹

Los valores obtenidos de α se compararon con los calculados usando la ecuación II.8 y los factores efectivos de atenuación obtenidos en el apéndice C.

III.6 Detección automática de medio de contraste yodado

La detección automática se efectúa sobre el histograma conjunto de intensidades de la imagen HE y LE, suponiendo que el MC yodado siempre está mezclado con material equivalente a agua. Dentro del marco de validez de la aproximación lineal (ecuaciones II.4-II.6), las mezclas de dos sustancias se ubican en segmentos cuyos extremos son las sustancias puras. Se estableció una región de clasificación alrededor del segmento agua-yodo definida por dos límites: la distancia elíptica (d_e) al segmento y la concentración equivalente de yodo (σ_p). La obtención de cada uno se describe en el anexo B. El segmento del agua-yodo se determinó a partir de mediciones con el maniquí de cilindros de yodo (epígrafe III.1). Los límites de detección se seleccionaron tal que se maximizara el índice J del método (sensibilidad más especificidad menos uno). La sensibilidad se determinó como el número de vóxeles detectados correctamente entre el número de vóxeles con MC yodado en el maniquí de cilindros de yodo. La especificidad se determinó en un estudio de energía-dual de una rata sin MC, como:

$$Especificidad = \frac{N_{-400} - FP}{N_{-400}} \quad [III.8]$$

donde N_{-400} es el número de vóxeles con valores de HU mayores que -400, considerados vóxeles de interés; FP es el número de falsos positivos: vóxeles que el algoritmo identificó erróneamente como yodados.

El resultado (o “salida”) del método de detección es una imagen de concentración de yodo, con las mismas dimensiones que la original. La cuantificación se evaluó a través de

la diferencia cuadrática media entre la salida del método y las concentraciones de referencia. La promediación se realizó por el número de vóxeles con yodo.

El desempeño del método automático se comparó con el del método tradicional de la resta pesada, optimizado en el epígrafe III.5. Para determinar la sensibilidad y la especificidad de la resta pesada, se estableció como criterio de detección una concentración equivalente de yodo mayor que cero.

III.7 Aplicación de la metodología propuesta en ratas con modelos tumorales

Se realizó una prueba de concepto de la técnica optimizada de energía-dual en una rata Sprague Dawley con un modelo de tumor de mama, inducido a través de la administración intraperitoneal de 50 mg/kg de 1-metil-1-nitrosourea.⁴⁰ El MC clínico Iomeron 400 (PATHEON) fue inyectado de forma continua (20 µl/min) durante los 50 minutos que duró el estudio. Los parámetros de adquisición de las imágenes de baja y alta energía fueron [30 kV, 0.8 mA] y [45 kV + 25 µm de Mo como filtro externo, 0.8 mA], respectivamente; el número de proyecciones en cada estudio fue 1000 y el tamaño de vóxel fue 50 µm.

Se observó la cinética de excreción del MC Omnipaque 300 (GE HEALTHCARE) en dos ratas Wistar con un modelo tumoral de glioma, inducido a través de la inoculación subcutánea de células de la línea C6.⁴¹ Cada rata fue inoculada con tres y seis millones de células en su costado izquierdo y derecho, respectivamente. El estudio se realizó nueve días después de la implantación de los tumores. Se inyectaron 40 µl de MC diluido en solución salina (40 mg/ml de yodo) en cada tumor y en una región de referencia bajo la piel, similar a la que alberga los tumores. A cada rata se le efectuaron cuatro estudios continuos de energía-dual. Las imágenes HE y LE se obtuvieron usando las técnicas radiológicas descritas en el párrafo anterior; el número de proyecciones en cada estudio fue 250 y el tamaño de vóxel fue 100 µm. Se cuantificó la masa de yodo en cada región como el valor medio de concentración de yodo multiplicado por el volumen de la misma, el resultado se graficó como función del tiempo de inyección.

La dosis absorbida media en cada rata producto del estudio de energía-dual, se estimó a partir de las tablas de dosis obtenidas por Berumen.⁴² El grosor promedio de las ratas (diámetro de un cilindro equivalente) se asumió igual a 40 mm.

IV Resultados y discusión

IV.1 Optimización de la reconstrucción volumétrica

La figura IV.1 muestra el resultado de la prueba de centro de rotación aplicada con la aguja de insulina. El ajuste a la función sinusoidal ubicó el centro de rotación en la posición 560 píxeles en coordenadas del detector, coincidiendo con su centro. Existen dos posibles explicaciones para las pequeñas diferencias entre las mediciones y el ajuste en las proyecciones cercanas a 0° . La primera es que el sistema tubo de rayos-x detector se desvíe ligeramente de la órbita circular. Este efecto es común en equipos con componentes pesados (SPECT y LINAC), pero poco probable en equipos con componentes pequeños como el microCT. La segunda, y más probable, es la incapacidad del modelo sinusoidal para describir completamente el resultado de la prueba (ver apéndice D).

Figura IV.1. Resultados de la prueba de centro de rotación.

En la figura IV.2 se muestra el criterio de calidad (desviación estándar) en la reconstrucción, utilizado para hacer el ajuste fino de las distancias entre el centro del

detector, el eje de rotación y el foco, en el plano del detector. La correlación entre las distancias que maximizan la desviación estándar es consistente con los resultados de Yi Sun y cols.³² Ellos demostraron que toda desviación de la proyección del foco con respecto a la posición ideal, puede ser convertida a desplazamientos del centro del detector. Esto permite seleccionar el valor de una y calibrar el de la otra. En este trabajo se decidió asumir como cero la distancia entre el foco y el eje de rotación en el plano del detector, quedando fija en 0.38 mm la distancia entre el centro del detector y la proyección del eje de rotación.

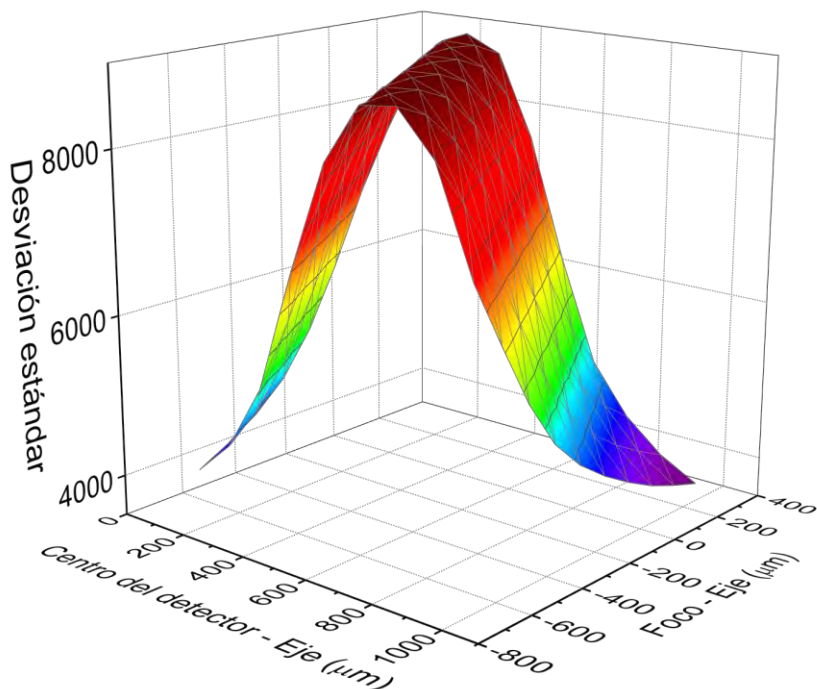


Figura IV.2. Desviación estándar del corte axial de una aguja reconstruida variando los parámetros geométricos distancia centro del detector – proyección del eje de rotación y proyección del foco – proyección del eje de rotación.

La figura IV.3 muestra las MTF determinadas para cada método de reconstrucción con ambas técnicas de adquisición (HE y LE). Los métodos iterativos obtuvieron los peores valores de resolución espacial, pero su desempeño general (índice Q) fue mejor al incluir el manejo de ruido (tabla IV.1). El método SIRT 2D obtuvo el mayor índice de calidad de imagen para ambas técnicas de adquisición. Además, fue el único capaz de reconstruir las proyecciones de alta resolución, los otros dos métodos rebasaban la memoria de la tarjeta

gráfica. Por lo tanto, se seleccionó el algoritmo SIRT 2D para realizar la reconstrucción independiente.

En los volúmenes reconstruidos usando SIRT 2D, los cortes axiales a menos de 20 mm del centro del campo visual no revelaron artefactos por la divergencia del haz. Los primeros aparecieron en hueso a partir de los 30 mm, aproximadamente. Los maniquíes y las ratas estudiadas fueron colocados con sus volúmenes de interés dentro de la región libre de artefactos.

Figura IV.3. Función de transferencia en modulación (MTF) de los tres algoritmos independientes de reconstrucción y del software de reconstrucción del microCT, para las técnicas de adquisición HE y LE.

Tabla IV.1. Índice de calidad Q de los métodos de reconstrucción independiente, para las técnicas de adquisición HE y LE.

Técnica	Algoritmo	Frecuencia (pl/mm)	Desviación estándar (HU)	Índice de calidad Q (u.a.)
LE	FDK	3.2	248	5.0E-03
	SIRT 2D	1.6	57	1.3E-02
	SIRT 3D	1.5	75	6.0E-03
HE	FDK	3.3	163	1.3E-02
	SIRT 2D	1.5	37	2.3E-02
	SIRT 3D	1.5	52	1.4E-02

La figura IV.4 muestra el valor de vóxel como función de la concentración de yodo. Las imágenes de HE reconstruidas con el software del microCT no siguen rigurosamente el modelo lineal esperado, lo que podría afectar la cuantificación del yodo en las imágenes de energía-dual. Esta fue la principal razón para usar un método independiente de reconstrucción, pero no la única. Algunas regiones uniformes (resinas de yodo, tejido blando, etc.) en las imágenes de HE, exhibieron ruido estructurado con intensidades hasta cinco veces mayores que su fondo, el cual no se apreció en la reconstrucciones con SIRT 2D (Fig. IV.5). Además, se encontró un pronunciado artefacto de anillo en las imágenes de HR reconstruidas con el software del microCT, causado por píxeles muertos del detector no corregidos (Fig. IV.5). En el análisis de la MTF, el software del microCT mostró mejores resultados que el SIRT 2D, obteniendo un valor de resolución espacial tres veces mayor. Sin embargo, dicha superioridad no se reflejó en la resolución de estructuras internas en las imágenes de las ratas, como el hueso vertebral en la figura IV.5.

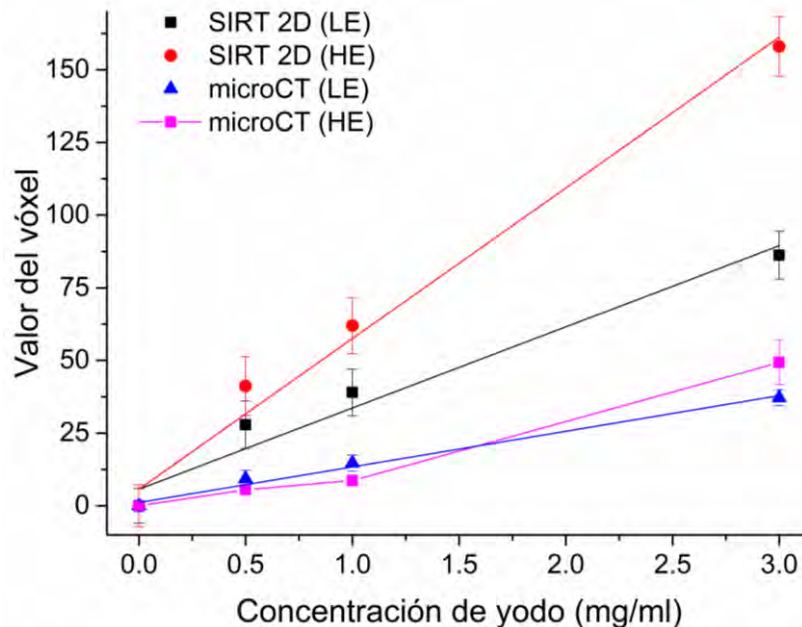


Figura IV.4. Intensidad del yodo como función de su concentración en imágenes reconstruidas con el software del microCT y el método SIRT 2D. Las tres rectas son ajustes lineales, la curva color rosa es una guía visual.

En la función de respuesta a un borde de la reconstrucción del microCT se observó una deformación que es consistente con la aplicación de filtros de realce de bordes. Esto

podría explicar el haber obtenido una MTF superior a la de aplicar el algoritmo FDK usando exclusivamente el filtro rampa, sin suavizado de altas frecuencias. El ruido estructurado en las imágenes de HE, es similar a los residuos de un filtro de preservación de bordes. La técnica HE no está contemplada por el fabricante del microCT (incluye un filtro externo de Mo), por lo que los métodos de post-procesamiento no están optimizados para usarla y probablemente son éstos los que causan artefactos.

El método SIRT 2D no incluye corrección por endurecimiento del haz de radiación, permitiendo la formación de artefactos alrededor de los huesos grandes en imágenes de LE (Ej. hueso HR, LE en la figura IV.5); los cuales son menos intensos en las imágenes reconstruidas por el software del microCT.

En el resto del trabajo, todas las imágenes utilizadas se reconstruyeron con el método SIRT 2D.

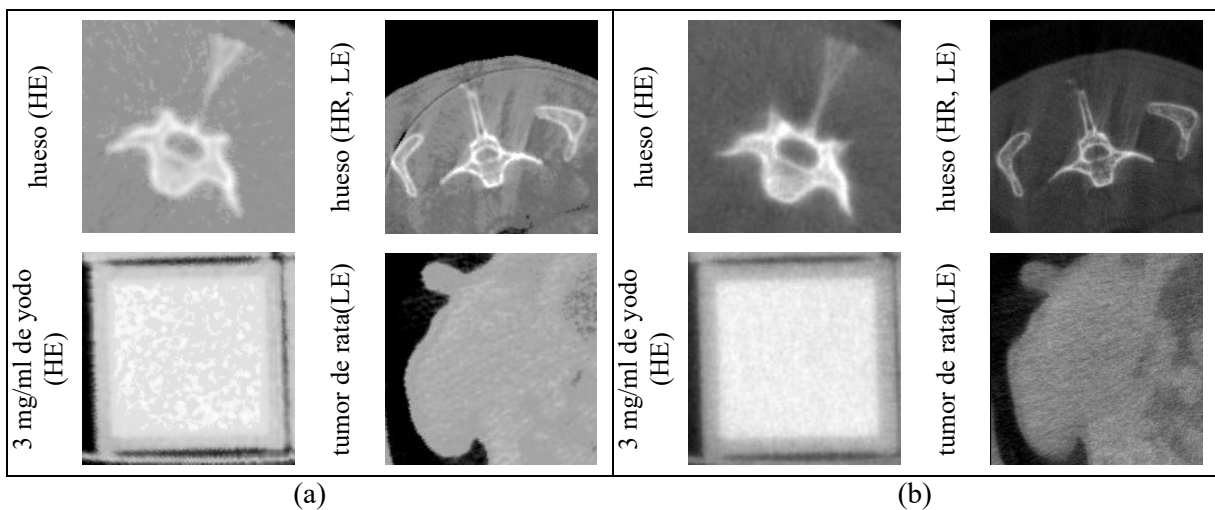


Figura IV.5. Imágenes reconstruidas con: (a) el software del microCT y (b) el método SIRT 2D.

IV.2 Verificación de la estabilidad del microCT

La tabla IV.2 muestra los valores de referencia de la no-uniformidad, el ruido y la HU del agua para las técnicas HE y LE. Las incertidumbres están expresadas con un factor de cobertura (k) de 3 y sirven como criterio de aceptación de la prueba. El apéndice E contiene las gráficas con la evolución temporal de cada magnitud. En general las tres magnitudes se mantuvieron estables ($\pm 3\sigma$), excepto por una medición en la técnica de baja energía de la HU del agua que superó las 5σ . La desviación pudo haber sido causada

por una variación local en la respuesta del microCT o por una mala calibración de la técnica (ver epígrafe III.1). La prueba de estabilidad también da trazabilidad entre la calibración de la técnica de energía-dual y su aplicación. Por lo que se recomienda su aplicación previo a cualquier estudio de energía-dual con interés cuantitativo.

Tabla IV.2. Valores de referencia para la no-uniformidad, el ruido y la HU del agua, para las técnicas de adquisición HE y LE.

Magnitud	Valor de referencia (k=3)	
	HE (HU)	LE (HU)
No-uniformidad	42.8 ± 8.0	43.5 ± 8.0
Ruido	43.6 ± 3.5	56.7 ± 3.0
HU del agua	-1 ± 8.8	1.9 ± 8.3

A partir de los resultados de la tabla IV.2 se establecen incertidumbres de tipo B para el valor medio de las HU en un VOI (tabla IV.3).⁴³ La incertidumbre debido a la inestabilidad del microCT se asumió igual a la desviación estándar en la HU del agua, para la no-uniformidad se asumió una variación lineal con la distancia al centro de rotación y una función de distribución de probabilidad uniforme.

Tabla IV.3. Incertidumbres de tipo B para el valor medio de HU dentro de un VOI.

Fuente de incertidumbre	Incertidumbre estándar (k=1)	
	LE (HU)	HE (HU)
Estabilidad	2.8	3.0
No-uniformidad	10.2	10.1
Incertidumbre combinada	10.6	10.5

Una hora después de que el microCT se encendió, la HU del agua en las imágenes de baja energía disminuyó hasta 8 unidades conforme se incrementó el número de imágenes adquiridas (Fig. IV.6). Tres horas después de encendido, la HU del agua permaneció constantes ($\pm 1\%$) entre adquisiciones continuas, sugiriendo una espera de tres horas para que el microCT alcance estabilidad en la respuesta.

Figura IV.6. Diferencia en la HU del agua en imágenes adquiridas de forma continua, con el valor de la primera imagen una hora y tres horas después de que el microCT fue encendido.

IV.3 Optimización de la resta por energía-dual

La figura IV.7 muestra los valores de CNR en la imagen de energía-dual para diferentes concentraciones de yodo, como función del factor de peso α . También incluye la CNR de hidroxiapatita (HA) promediada sobre el intervalo de concentración 0 – 750 mg/ml. Las curvas representan la CNR calculada usando la ecuación explícitamente dependiente de α (ecuación III.7). La máxima CNR de las resinas de yodo se alcanzó con $\alpha = -0.4$ y disminuyó con el incremento de α hasta alcanzar un punto crítico ($\alpha = 1.7$), en el que el yodo fue indistinguible de la resina que lo rodeaba. La mezcla HA – tejido blando presentó su comportamiento crítico en una vecindad estrecha alrededor de $\alpha = 0.74$, proporcionando una herramienta para diferenciar yodo de hueso.

La expresión propuesta para la CNR (ecuación III.7) fue capaz de predecir las principales características de la figura IV.7: existe un valor máximo y mínimo para la CNR de la mezcla yodo – tejido blando en la imagen DE y se alcanzan con valores de α independientes de la concentración de yodo. El valor máximo posee especial interés práctico y se consigue cuando:

$$\alpha = -\frac{\sigma_{HE}^2}{\sigma_{LE}^2} \frac{m_{LE}}{m_{HE}} = -\frac{\sigma_{HE}^2}{\sigma_{LE}^2} \frac{\mu_{LE,2} - \mu_{LE,1}}{\mu_{HE,2} - \mu_{HE,1}} \quad [IV.1]$$

coincidiendo con el valor de α para el cual el método de la resta pesada conduce a la concentración de yodo más probable y de menor desviación estándar (ver apéndice B).

Figura IV.7. CNR medida en la imagen DE para diferentes concentraciones de yodo, CNR de hidroxiapatita promediada por la concentración y predicciones de la ecuación III.7 (curvas). Los valores de contraste corresponden a la combinación yodo o HA con tejido blando.

Los resultados anteriores condujeron a $\alpha = -0.4 \pm 0.3$ si el MC se encuentra embebido en tejido blando y $\alpha = 0.74 \pm 0.01$ si se sospecha la presencia de hueso o de estructuras calcificadas. Ambos son valores de referencia para comenzar el análisis con DE. Se esperan desviaciones leves dependiendo de la respuesta del microCT, la variación en la cantidad de radiación dispersa (consecuencia del tamaño de la rata) y las no-uniformidades, entre otras. Por lo tanto, se recomienda un ajuste fino basado en la inspección visual de estructuras conocidas como la columna o muestras de yodo.

El límite de detección del MC mezclado con tejido blando fue 3.4 mg/ml (imagen de DE con $\alpha = -0.4$), significativamente menor que los 20 mg/ml (CNR = 3) obtenido por Badea

y cols.,⁴⁴ pero mayor que los 2.3 mg/ml (CNR = 5) obtenidos por el mismo grupo de investigación al incluir filtros bilaterales.¹¹ Esto sugiere que la resta pesada propuesta, todavía posee potencial para reducir el límite de detección a través del filtrado del ruido.

En la tabla IV.4 se muestran los valores teóricos de α calculados usando la ecuación II. 8. Las mediciones de α coinciden en orden de magnitud con los cálculos. El uso de hidroxiapatita en lugar de hueso tuvo un impacto menor al 0.5% en α , al igual que la sustitución de tejido adiposo por tejido blando. Este resultado es consistente con el bajo contraste que existe entre ambas sustancias en las imágenes de CT.

Tabla IV.4. Valores de alfa calculados y medidos para diferentes mezclas de sustancias.

Sustancias mezcladas	Alfa	
	Teórico	Medido
hidroxiapatita - tejido blando	0.8667	0.74 ± 0.01
hueso - tejido blando	0.8675	-
hueso - tejido adiposo	0.8652	-
yodo - tejido blando	1.614	1.7 ± 0.1
yodo - tejido adiposo	1.611	-

IV.4 Detección automática de yodo

Cada punto en la figura IV.8 representa el valor de intensidad (HU) para la misma región de los maniqués en las imágenes LE y HE, eje x e y , respectivamente. En la gráfica se observan dos segmentos bien diferenciados, correspondientes a medio de contraste (mezcla agua-yodo) y a hueso con diferente densidad (mezcla hidroxiapatita-tejido blando). El ruido y la no-uniformidad causaron dispersión en los valores de intensidad, dando una impresión de continuidad a pesar de que los maniqués tienen concentraciones discretas. La pendiente de ambos segmentos coincide con los valores de α según la ecuación II.8. La resina de yodo de 3.0 mg/ml marca el inicio del segmento de MC, ligeramente por encima del segmento de hueso, con valores de intensidad cercanos a cero por su baja concentración. El método de detección automática de yodo se basó en la identificación de los vóxeles “cercaños” al segmento del MC.

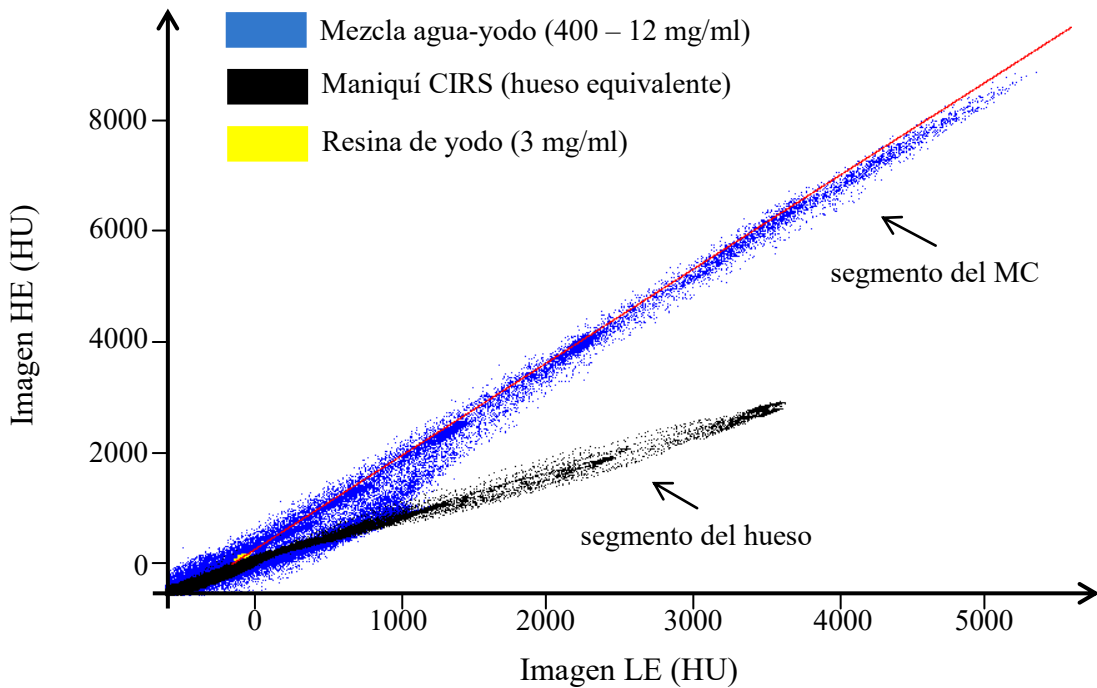


Figura IV.8. Relación de las HU (a partir del histograma conjunto de energía-dual) para MC yodado y el maniquí equivalente a hueso. La línea roja es el segmento de la mezcla yodo-agua determinado a partir del maniquí cilindros de yodo.

La figura IV.9 muestra la gráfica ROC del método de detección de yodo, la cual se formó al graficar sensibilidad como función de $(1 - \text{especificidad})$. Cada curva representa la respuesta del método para una misma distancia elíptica (d_e), variando el umbral de detección σ_p (concentración equivalente de yodo) en el intervalo 0.5 – 3.0 mg/ml. El índice de calidad J alcanzó su máximo ($J = 0.71$), para $d_e = 64$ HU y $\sigma_p = 0.5$ mg/ml, mostrando una mayor dependencia con σ_p . El método de la resta pesada exhibió mayor sensibilidad que la detección automática, pero baja especificidad, obteniendo un índice de calidad significativamente menor ($J = 0.21$).

La figura IV.10 muestra la imagen HE y la de concentración equivalente de yodo, para el maniquí de cilindros de yodo. La no-uniformidad dentro del campo de visión causó una disminución de los valores de intensidad (HU) en el cilindro central, que se ve reflejada en la detección automática como una disminución en la sensibilidad del 4%.

Figura IV.9. Curva ROC del método de detección automática de yodo para diferentes distancias elípticas (d_e), usando la concentración equivalente de yodo como umbral de detección.

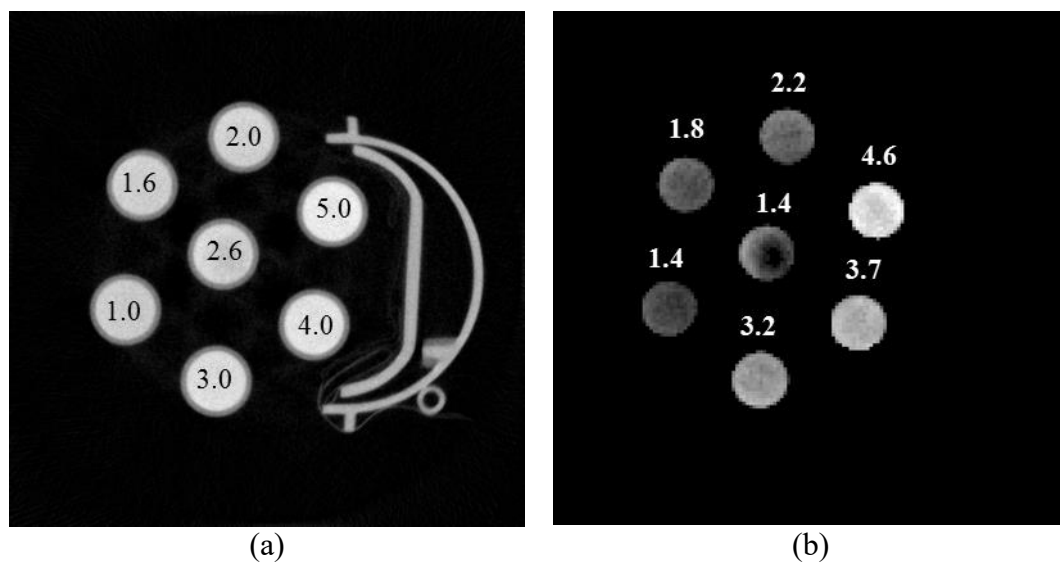


Figura IV.10. (a) Imagen HE del maniquí de cilindros de yodo etiquetada con la concentración en mg/ml. (b) Imagen de concentración de yodo (mg/ml) generada por el método automático de detección, las etiquetas corresponden a los valores medios.

La diferencia cuadrática media entre la concentración estimada con el método automático y la de referencia, fue de 1.53 mg/ml; mientras que para el método de la resta pesada fue

de 1.48 mg/ml. Ambos valores se consideraron similares, porque su diferencia relativa es inferior a la incertidumbre de la concentración del maniquí (10% aproximadamente). El método automático utiliza la misma estructura teórica sobre la que se formula la resta pesada, agregando un criterio de detección para mejorar su especificidad. Por lo que ambos métodos poseen la misma capacidad de cuantificación.

IV.5 Aplicación de la metodología propuesta en ratas con modelos tumorales

La tabla IV.5 contiene un resumen de las pruebas efectuadas en ratas. La prueba de concepto realizada en la rata con el modelo tumoral de mama no mostró incorporación de MC en el interior del tumor (Fig. IV.11). Los puntos brillantes fueron considerados estructuras calcificadas, porque desaparecen en la imagen resta con $\alpha = 0.9$. La dosis total al cuerpo entero asociada al estudio de DE se considera alta (0.75 Gy), pero no excedió a los valores descritos en la literatura.¹

Tabla IV.5. Resumen de las pruebas efectuadas en ratas.

Rata	Modelo tumoral	Tipo de inyección	Concentración de I (mg/ml)	Volumen inyectado (μ l)	Propósito
1	mama	intravenosa continua	400	1600	Observar incorporación de MC al tumor
2 y 3	glioma subcutáneo	intratumoral única	40	50	Observar la eliminación del MC del tumor

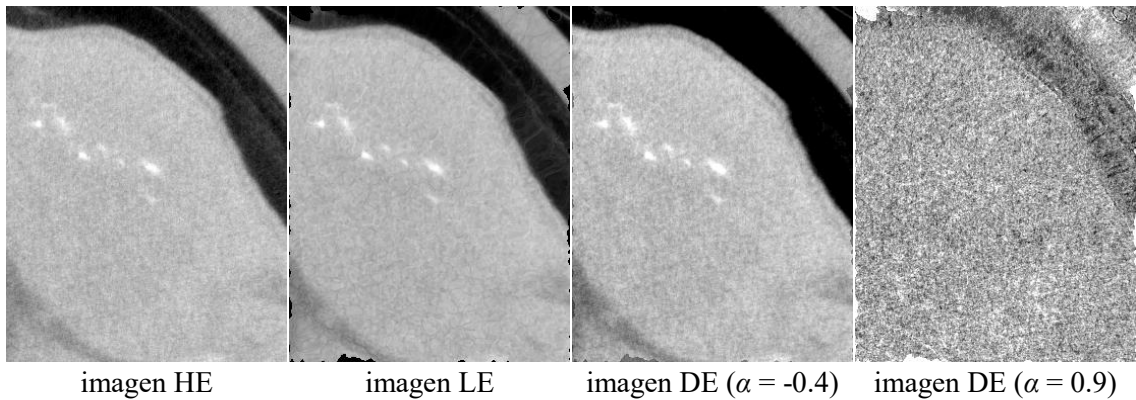


Figura IV.11. Imagen de HE, LE, DE ($\alpha = -0.4$) y DE ($\alpha = 0.9$) del modelo tumoral de mama, rata 1. Las tres primeras imágenes se visualizan en la misma escala de grises.

La figura IV.12 muestra la masa de yodo como función del tiempo post-administración del MC en ratas 2 y 3. Las mediciones se ajustaron a funciones exponenciales con

desplazamientos en la variable dependiente, para considerar la variación del fondo en los diferentes volúmenes de cuantificación. El tiempo medio de excreción arrojado por el ajuste tiene poco valor cuantitativo, pues se usaron cuatro mediciones para determinarlo entre tres parámetros libres. Sin embargo, las curvas mejoran el análisis cualitativo del proceso.

La figura IV.13 muestra una comparación entre la imagen HE y las imágenes de concentraciones de yodo producidas por la resta pesada y el método automático de detección; en un mismo corte axial de la rata 2 en las diferentes adquisiciones post-inyección de MC. Las escalas de grises de las dos imágenes cuantitativas fueron ajustadas al intervalo 0-15 mg/ml. Se puede apreciar la mayor especificidad del método automático de detección, pues excluye el interior del hueso vertebral. Sin embargo, también refleja su menor sensibilidad al descartar algunos vóxeles con MC en la primera adquisición. Esto se debe a que la primera imagen posee concentraciones de yodo mucho mayores que las usadas para calibrar el método y el histograma de energía-dual se aleja un poco del modelo lineal como consecuencia del endurecimiento del haz (ver figura IV.8).

Figura IV.12. Masa de yodo como función del tiempo post-inyección en dos tumores y una región subcutánea, para las ratas 2 y 3. Ajuste al modelo exponencial de excreción con fondo remanente (curvas).

t (min)	Imagen HE	Imágenes de concentración de yodo (mg/ml)	
		Obtenidas al aplicar la resta pesada	Obtenidas al aplicar el método automático
11			
22			
30			
39			

Figura IV.13. Imagen HE e imágenes de concentraciones de yodo producidas por la resta pesada y el método automático de detección. Es un mismo corte axial de la rata 2 a diferentes tiempos post-inyección de MC. Las flechas señalan la presencia de tumores a la derecha y a la izquierda del animal.

V Conclusiones

La técnica de resta por energía-dual fue optimizada para mejorar la identificación y cuantificación de medio de contraste yodado en estudios de microCT, usando un equipo comercial.

Se optimizó un método independiente de reconstrucción volumétrica que permitió aplicar la técnica de sustracción por energía-dual con propósitos cuantitativos, superando las limitaciones impuestas por el software del microCT. Se verificó la estabilidad de la unidad Hounsfield del agua, el ruido y la no-uniformidad en las imágenes 3D reconstruidas con el método independiente.

El método de la resta pesada por energía-dual se formuló para maximizar la exactitud y la precisión de la concentración de yodo cuantificada. Se determinaron factores de peso para maximizar la visualización del MC mezclado con tejido blando y para diferenciarlo de estructuras calcificadas. La especificidad de la técnica mejoró al incluir un criterio automático de detección de yodo.

La prueba de concepto efectuada en una rata con un modelo de tumor de mama, mostró la capacidad de la técnica para diferenciar MC y estructuras calcificadas. También se visualizó el proceso de eliminación del MC en un modelo tumoral de glioma, al que se le aplicó una administración in situ del MC.

Referencias

1. Clark, D. P. & Badea, C. T. Micro-CT of rodents: State-of-the-art and future perspectives. *Phys. Medica* **30**, 619–634 (2014).
2. Lehmann, L. a. Generalized image combinations in dual KVP digital radiography. *Med. Phys.* **8**, 659 (1981).
3. Boone, J. M. Dual-energy mammography: A detector analysis. *Med. Phys.* **17**, 665 (1990).
4. Lemacks, M. R., Kappadath, S. C., Shaw, C. C., Liu, X. & Whitman, G. J. A dual-energy subtraction technique for microcalcification imaging in digital mammography--a signal-to-noise analysis. *Med. Phys.* **29**, 1739–1751 (2002).
5. Ashton, J. R. *et al.* Dual-energy micro-CT functional imaging of primary lung cancer in mice using gold and iodine nanoparticle contrast agents: A validation study. *PLoS One* **9**, (2014).
6. Gang, G. J., Zbijewski, W., Stayman, J. W., Siewerdsen, J. H. & Gang, G. J. Cascaded systems analysis of noise and detectability in dual-energy cone-beam CT. *Med. Phys.* **39**, 5145 (2012).
7. Ehling, J. *et al.* Micro-CT imaging of tumor angiogenesis: Quantitative measures describing micromorphology and vascularization. *Am. J. Pathol.* **184**, 431–441 (2014).
8. Johnston, S. M., Johnson, G. A. & Badea, C. T. Temporal and spectral imaging with micro-CT. *Med. Phys.* **39**, 4943 (2012).
9. Badea, C. T. *et al.* Dual-energy micro-CT of the rodent lung. *AJP Lung Cell. Mol. Physiol.* **302**, L1088–L1097 (2012).
10. Gremse, F. *et al.* Virtual Elastic Sphere Processing Enables Reproducible Quantification of Vessel Stenosis at CT and MR Angiography. *Radiology* **260**, 709–717 (2011).
11. Clark, D. P., Ghaghada, K., Moding, E. J., Kirsch, D. G. & Badea, C. T. In vivo

- characterization of tumor vasculature using iodine and gold nanoparticles and dual energy micro-CT. *Phys. Med. Biol.* **58**, 1683–704 (2013).
12. Lee, C. L. *et al.* Assessing cardiac injury in mice with dual energy-MicroCT, 4D-MicroCT, and MicroSPECT imaging after partial heart irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **88**, 686–693 (2014).
 13. Clark, D., Johnson, G. a & Badea, C. T. Denoising of 4D Cardiac Micro-CT Data Using Median-Centric Bilateral Filtration. *Proc. SPIE Med. Imaging* **8314**, 1–12 (2012).
 14. Castillo, J. *et al.* Optimization of Dual-Energy Subtraction for Preclinical Studies in Rodents Using a Commercial Micro-CT Unit. in *Medical Physics, XIV Mexican Symposium* (ed. G Massillon J-L *et al.*) **080005**, 1–7 (AIP Publishing, 2016).
 15. Berumen, F., Ayala-Domínguez, L., Medina, L. A. & Brandan, M. E. A method to optimize the image acquisition protocol of a MicroCT unit for preclinical studies using contrast-enhanced digital subtraction. in *Medical Physics, XIV Mexican Symposium* (ed. G Massillon J-L *et al.*) **080003**, 1–6 (AIP Publishing, 2016).
 16. Gang, G. J., Zbijewski, W., Webster Stayman, J. & Siewerdsen, J. H. Cascaded systems analysis of noise and detectability in dual-energy cone-beam CT. *Med. Phys.* **39**, 5145–5156 (2012).
 17. Brandan, M. E. Contrast-enhanced digital mammography and other techniques based on image subtraction. in *Medical Physics, XIV Mexican Symposium* (ed. G Massillon J-L *et al.*) **080002**, 1–9 (AIP Publishing, 2016).
 18. Arvanitis, C. D. & Speller, R. Quantitative contrast-enhanced mammography for contrast medium kinetics studies. *Phys. Med. Biol.* **54**, 6041–6064 (2009).
 19. Palma, B. a, Rosado-Méndez, I., Villaseñor, Y. & Brandan, M. E. Phantom study to evaluate contrast-medium-enhanced digital subtraction mammography with a full-field indirect-detection system. *Med. Phys.* **37**, 577–589 (2010).
 20. Kappadath, S. C. & Shaw, C. C. Dual-energy digital mammography: Calibration and inverse-mapping techniques to estimate calcification thickness and glandular-

- tissue ratio. *Med. Phys.* **30**, 1110 (2003).
21. Turbell, H. Cone-Beam Reconstruction Using Filtered Backprojection. (Linköping University, 2001).
 22. Feldkamp, L. A., Davis, L. C. & Kress, J. W. Practical cone-beam algorithm Sfrdr I _ f. *J. Opt. Soc. Am* **1**, 612–619 (1984).
 23. Tang, J., Nett, B. E. & Chen, G. Performance comparison between total variation (TV) -based compressed sensing and statistical. *Phys. Med. Biol.* **54**, 5781–5804 (2009).
 24. Gregor, J. & Benson, T. Computational Analysis and Improvement of SIRT. **27**, 918–924 (2008).
 25. Oliveira, F. P. M. M. & Tavares, J. M. R. S. S. Medical image registration: a review. *Comput. Methods Biomech. Biomed. Engin.* **17**, 73–93 (2014).
 26. Rueckert, D. *et al.* Nonrigid registration using free-form deformations: application to breast MR images. *IEEE Trans. Med. Imaging* **18**, 712–21 (1999).
 27. Sánchez, F. *et al.* ALBIRA: A small animal PET/SPECT/CT imaging system. *Med. Phys.* **40**, 051906 (2013).
 28. Bushberg, J. T., Seibert, J. A., Leidholdt, E. M. J. & Boone, J. M. *The Essential Physics of Medical Imaging*. (Lippincott Williams & Wilkins, 2011).
 29. CIRS Inc. CIRS. Tissue Simulation & Phantom Technology (página web). at <<http://www.cirsinc.com/>>
 30. Hill, M. L., Mainprize, J. G., Mawdsley, G. E. & Yaffe, M. J. A solid iodinated phantom material for use in tomographic x-ray imaging. *Med. Phys.* **36**, 4409–4420 (2009).
 31. Bronnikov, A. V & V, K. N. B. Virtual alignment of x-ray cone-beam tomography system using two calibration aperture measurements. *Opt. Eng.* **38**, 381–386 (1999).
 32. Sun, Y., Hou, Y., Zhao, F. & Hu, J. A calibration method for misaligned scanner

- geometry in cone-beam computed tomography. *NDT E Int.* **39**, 499–513 (2006).
33. Siegel, J. a *et al.* *Rotating Scintillation Camera Spect Acceptance Testing and Quality Control.* (American Institute of Physics, 1987).
 34. Palenstijn, W. J., Batenburg, K. J. & Sijbers, J. Performance improvements for iterative electron tomography reconstruction using graphics processing units (GPUs). *J. Struct. Biol.* **176**, 250–253 (2011).
 35. van Aarle, W. *et al.* The ASTRA Toolbox: A platform for advanced algorithm development in electron tomography. *Ultramicroscopy* **157**, 35–47 (2015).
 36. Tang, J., Nett, B. E. & Chen, G.-H. Performance comparison between total variation (TV)-based compressed sensing and statistical iterative reconstruction algorithms. *Phys. Med. Biol.* **54**, 5781–5804 (2009).
 37. Friedman, S. N., Fung, G. S. K. & Siewerdsen, J. H. A simple approach to measure computed tomography (CT) modulation transfer function (MTF) and noise-power spectrum (NPS) using the American College of Radiology (ACR) accreditation phantom. *Med. Phys.* **40**, 1–9 (2013).
 38. Woods, R. P., Grafton, S. T., Holmes, C. J., Cherry, S. R. & Mazziotta, J. C. Automated image registration: I. General methods and intrasubject, intramodality validation. *J. Comput. Assist. Tomogr.* **22**, 139–152 (2015).
 39. Rose, A. The sensitivity performance of the human eye on an absolute scale. *J. Opt. Soc. Am.* **38**, 196–208 (1948).
 40. Thompson, H. J. in *Methods in Mammary Gland Biology and Breast Cancer Research* (ed. Ip, Margot M., Asch, B. B.) 19–29 (Kluwer Academic/Plenum Publisher, 2000).
 41. Grobбен, B., De Deyn, P. P. & Slegers, H. Rat C6 glioma as experimental model system for the study of glioblastoma growth and invasion. *Cell Tissue Res.* **310**, 257–270 (2002).
 42. Berumen, F. Caracterización de un micro-tomógrafo de rayos-x para estudios preclínicos usando resta de imágenes con medio de contraste. (UNAM, 2016).

43. Joint Committee For Guides In Metrology. Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement. *Int. Organ. Stand.* **50**, 134 (2008).
44. Badea, C. T., Johnston, S. M., Qi, Y., Ghaghada, K. & Johnson, G. a. Dual-energy micro-CT imaging for differentiation of iodine- and gold-based nanoparticles. *SPIE Med. Imaging* **7961**, 79611X–79611X–10 (2011).
45. Smith, M. J. *Maths for the Mystified: An Exploration of the History of Mathematics and Its Relationship to Modern-day Science and Computing*. (Matador, 2006).
46. Moya, U., Brandan, M., Martínez-Dávalos, A., Ruiz-Trejo, C. & Rodríguez-Villafuerte, M. Parametrization of X-ray spectra appropriate for microCT scanners. *Nucl. Instruments Methods Phys. Res.* **613**, 152–155 (2010).
47. NIST. Tables of X-Ray Mass Attenuation Coefficients (página web). at <<http://www.nist.gov/pml/data/xraycoef/>>

Apéndice A. Formulación de la resta pesada

La técnica de resta pesada por energía-dual es formulada en este trabajo a partir de la solución del siguiente sistema de ecuaciones:

$$FT_{HE}(i) = \frac{FT_{HE,1}}{\rho_1} \sigma_1 + \frac{FT_{HE,2}}{\rho_2} \sigma_2 + \frac{FT_{HE,3}}{\rho_3} \sigma_3 \quad [A.1]$$

$$FT_{LE}(i) = \frac{FT_{LE,1}}{\rho_1} \sigma_1 + \frac{FT_{LE,2}}{\rho_2} \sigma_2 + \frac{FT_{LE,3}}{\rho_3} \sigma_3 \quad [A.2]$$

$$\frac{\sigma_1}{\rho_1} + \frac{\sigma_2}{\rho_2} + \frac{\sigma_3}{\rho_3} = 1 \quad [A.3]$$

donde $FT_{HE}(i)$ y $FT_{LE}(i)$ son los factores efectivos de atenuación del vóxel i en las imágenes de alta y baja energía, respectivamente; $FT_{HE,j}$ y $FT_{LE,j}$ son los factores efectivos de atenuación en las imágenes de alta y baja energía, de un vóxel compuesto exclusivamente por la sustancia j ; σ_j y ρ_j son la concentración y la densidad de la sustancia j en el vóxel i . En forma matricial el sistema se escribe como:

$$\begin{pmatrix} FT_{HE}(i) \\ FT_{LE}(i) \\ 1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} FT_{HE,1} & FT_{HE,2} & FT_{HE,3} \\ FT_{LE,1} & FT_{LE,2} & FT_{LE,3} \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{pmatrix} \quad [A.4]$$

con $x_j = \frac{\sigma_j}{\rho_j}$. Simplificando el sistema a dos ecuaciones se obtiene:

$$\begin{pmatrix} FT_{HE}(i) - FT_{HE,3} \\ FT_{LE}(i) - FT_{LE,3} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} FT_{HE,1} - FT_{HE,3} & FT_{HE,2} - FT_{HE,3} \\ FT_{LE,1} - FT_{LE,3} & FT_{LE,2} - FT_{LE,3} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \end{pmatrix} = \mathbf{M} \begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \end{pmatrix} \quad [A.5]$$

cuya solución es:

$$\begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \end{pmatrix} = \frac{1}{|\mathbf{M}|} \begin{pmatrix} FT_{LE,2} - FT_{LE,3} & -(FT_{HE,2} - FT_{HE,3}) \\ -(FT_{LE,1} - FT_{LE,3}) & FT_{HE,1} - FT_{HE,3} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} FT_{HE}(i) - FT_{HE,3} \\ FT_{LE}(i) - FT_{LE,3} \end{pmatrix} \quad [\text{A.6}]$$

que se puede escribir como:

$$\frac{|\mathbf{M}| \sigma_1 / \rho_1 + N}{(FT_{LE,2} - FT_{LE,3})} = FT_{HE}(i) - \frac{FT_{HE,2} - FT_{HE,3}}{FT_{LE,2} - FT_{LE,3}} FT_{LE}(i) = I_{HE} - \alpha I_{LE} \quad [\text{A.7}]$$

donde I_{HE} e I_{LE} son las imágenes de alta y baja energía, con la intensidad expresada en unidades de atenuación; $N = FT_{HE,2}FT_{LE,2} - FT_{HE,2}FT_{LE,3}$; y α es el factor de peso que hace que las sustancias 2 y 3 muestren la misma intensidad en la imagen resta. Las soluciones para las sustancias 2 y 3 se obtienen de permutar los índices en la ecuación A.7. Si la intensidad de I es expresada en unidades Hounsfield alfa toma la siguiente forma:

$$\alpha = \frac{FT_{HE,2} - FT_{HE,3}}{FT_{LE,2} - FT_{LE,3}} \frac{FT_{LE,W}}{FT_{HE,W}} \quad [\text{A.8}]$$

donde $FT_{HE,W}$ y $FT_{LE,W}$ son los factores efectivos de atenuación del agua en las imágenes de alta y baja energía, respectivamente.

Apéndice B. Eliminación de la sobre-determinación en la técnica de energía-dual con dos sustancias

El sistema de ecuaciones II.4 - II.5 con sólo dos sustancias se reduce a:

$$FT_{HE}(i) = \frac{FT_{HE,1}}{\rho_1} \sigma_1 + \frac{FT_{HE,2}}{\rho_2} \sigma_2 \quad [B.1]$$

$$FT_{LE}(i) = \frac{FT_{LE,1}}{\rho_1} \sigma_1 + \frac{FT_{LE,2}}{\rho_2} \sigma_2 \quad [B.2]$$

$$\frac{\sigma_1}{\rho_1} + \frac{\sigma_2}{\rho_2} = 1 \quad [B.3]$$

donde $FT_{HE}(i)$ y $FT_{LE}(i)$ son los factores efectivos de atenuación del vóxel i en las imágenes de alta y baja energía, respectivamente; $FT_{HE,j}$ y $FT_{LE,j}$ son los factores efectivos de atenuación en las imágenes de alta y baja energía, de un vóxel compuesto exclusivamente por la sustancia j ; σ_j y ρ_j son la concentración de la sustancia j en el vóxel i y su densidad.

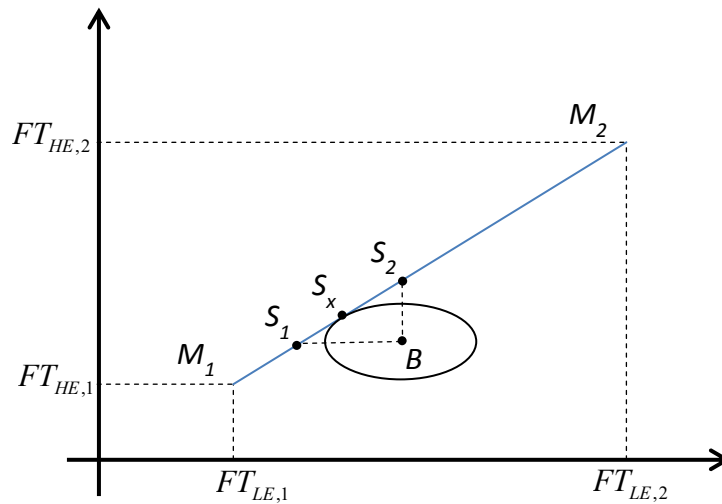


Figura B.1. Representación del sistema de ecuaciones 1-3 en el histograma conjunto de intensidades.

En un histograma conjunto de intensidades $(FT_{LE}; FT_{HE})$ los valores de intensidad para los que el sistema de ecuaciones B.1-B.3 tiene solución se encuentran en el segmento $\overline{M_1M_2}$ (Fig. B.1), donde $M_1 = (FT_{LE,1}; FT_{HE,1})$ y $M_2 = (FT_{LE,2}; FT_{HE,2})$. Como las imágenes contienen ruido, el punto $B = (FT_{LE}(i); FT_{HE}(i))$ puede no encontrarse en $\overline{M_1M_2}$, haciéndose incompatible el sistema. Para resolver la incompatibilidad se determina la solución a la que B tiene la mayor probabilidad de pertenecer. Suponiendo una distribución de probabilidad de Gauss alrededor de cada punto de $\overline{M_1M_2}$, la probabilidad de que $B \in (FT_{LE}; FT_{HE})$ es:

$$\frac{1}{2\pi\sigma_{LE}(FT_{LE})\sigma_{HE}(FT_{HE})} \exp\left(-\frac{(FT_{LE} - FT_{LE}(i))^2}{2\sigma_{LE}(FT_{LE})^2} - \frac{(FT_{HE} - FT_{HE}(i))^2}{2\sigma_{HE}(FT_{HE})^2}\right) \quad [\text{B.4}]$$

donde $\sigma_{HE}(FT_{HE})$ y $\sigma_{LE}(FT_{LE})$ son la desviación estándar para las intensidades FT_{HE} y FT_{LE} , en las imágenes de alta y baja energía, respectivamente. En las imágenes 2D (proyecciones) $\sigma_j(FT_j) \approx \sqrt{FT_j}$, siguiendo la distribución de Poisson. Sin embargo, en las imágenes reconstruidas con el método SIRT 2D (epígrafe II.2.2), se observó una relación aproximadamente lineal $\sigma_j(FT_j) \approx mFT_j + n_j$, donde la pendiente (≈ 0.02) no dependía de la técnica de adquisición (HE o LE), mientras que el intercepto sí lo hacía. Dado que la pendiente tiene un valor pequeño, se puede hacer la aproximación $\sigma_{HE}(FT_{HE}) = 0.6 \pm 0.3$ y $\sigma_{LE}(FT_{LE}) = 1.3 \pm 0.7$, que es válida para el intervalo de intensidades presente en el maniquí CIRS 090, el cual incluye materiales equivalentes a pulmón, tejido blando y hueso de diferentes densidades. Con la forma de la función de distribución de probabilidad independiente de la intensidad, el problema es equivalente a encontrar el punto en $\overline{M_1M_2}$ que maximice la función B.4 centrada en B . Para ello se define la distancia elíptica (d_e) como:

$$d_e = \sqrt{\frac{(FT_{LE} - FT_{LE}(i))^2}{\sigma_{LE}(FT_{LE})^2} + \frac{(FT_{HE} - FT_{HE}(i))^2}{\sigma_{HE}(FT_{HE})^2}} \quad [\text{B.5}]$$

y el problema se convierte en encontrar el punto en $\overline{M_1M_2}$ que se encuentra a la menor distancia elíptica de B , definido como proyección elíptica de B en $\overline{M_1M_2}$ (S_x en la figura B.1). Para S_x se cumple:

$$\mathbf{S}_x = \frac{m_{1,2}\mathbf{S}_1 - m_{B,x}\mathbf{S}_2}{m_{1,2} - m_{B,x}} \quad [\text{B.6}]$$

donde \mathbf{S}_1 y \mathbf{S}_2 son los vectores de intensidad para los que el sistema B.1-B.3 tiene soluciones iguales a las de los sistemas de sólo dos ecuaciones (B.1; B.3) y (B.2; B.3), respectivamente; $m_{1,2}$ y $m_{B,x}$ son las pendientes de los segmentos $\overline{M_1M_2}$ y $\overline{BS_x}$. Aplicando la condición de tangencia entre el elipse de iso-probabilidad definido por la ecuación B.5 y el segmento $\overline{M_1M_2}$ se obtiene:

$$\frac{dy}{dx} = -\frac{FT_{LE} - FT_{LE}(i) \sigma_{HE}^2}{FT_{HE} - FT_{HE}(i) \sigma_{LE}^2} = m_{1,2} \quad [\text{B.7}]$$

de donde se puede separar $m_{B,x}$ como:

$$m_{B,x} = -\frac{\sigma_{HE}^2}{m_{1,2}\sigma_{LE}^2} \quad [\text{B.8}]$$

Sustituyendo la ecuación B.8 en B.6 se puede calcular la solución compatible a la que B tiene la mayor probabilidad de pertenecer:

$$\mathbf{S}_x = \frac{\frac{1}{\sigma_{HE}^2}\mathbf{S}_1 + \frac{1}{(m_{1,2}\sigma_{LE})^2}\mathbf{S}_2}{\frac{1}{\sigma_{HE}^2} + \frac{1}{(m_{1,2}\sigma_{LE})^2}} = \frac{\frac{1}{|\boldsymbol{\sigma}_1|^2}\mathbf{S}_1 + \frac{1}{|\boldsymbol{\sigma}_2|^2}\mathbf{S}_2}{\frac{1}{|\boldsymbol{\sigma}_1|^2} + \frac{1}{|\boldsymbol{\sigma}_2|^2}} \quad [\text{B.9}]$$

donde $\boldsymbol{\sigma}_1 = (\sigma_{HE}/m_{1,2}; \sigma_{HE})$ y $\boldsymbol{\sigma}_2 = (\sigma_{LE}; m_{1,2}\sigma_{LE})$ son los vectores desviación estándar de \mathbf{S}_1 y \mathbf{S}_2 . La ecuación B.9 es un resultado razonable, pues coincide en formulación con

el promedio pesado que posee la menor varianza, asumiendo que las variables son independientes y se distribuyen de forma normal.⁴⁵ Las concentraciones se obtienen de resolver el sistema B.1-B.3 para \mathbf{S}_x . Si no es posible suponer que la forma de la distribución de probabilidad es independiente de la intensidad, la solución compatible debe ser encontrada maximizando directamente la función B.4 dentro $\overline{M_1 M_2}$. En este trabajo solo se utilizó la ecuación B.9.

A partir de la ecuación B.9 se puede derivar la forma del vector desviación estándar de \mathbf{S}_x :

$$\sigma(\mathbf{S}_x) = \boldsymbol{\sigma}_x = \frac{1}{\sqrt{\frac{1}{|\boldsymbol{\sigma}_1|^2} + \frac{1}{|\boldsymbol{\sigma}_2|^2}}} \frac{(1; m_{1,2})}{\sqrt{1 + m_{1,2}^2}} \quad [\text{B.10}]$$

El $|\boldsymbol{\sigma}_x|^2$ coincide en formulación con la menor varianza alcanzable con un promedio pesado.

El método de la resta pesada es en sí mismo una forma de solucionar la sobre-determinación, porque reduce el número de imágenes y por consiguiente el de ecuaciones. La solución compatible (\mathbf{S}_α) producida por el método de la resta pesada es función del factor de peso:

$$\mathbf{S}_{\alpha,LE} = \frac{FT_{HE}(i) - \alpha FT_{LE}(i) - (FT_{HE,1} - \alpha FT_{LE,1})}{m_{1,2} - \alpha} + FT_{LE,1} \quad [\text{B.11}]$$

$$\mathbf{S}_{\alpha,HE} = m_{1,2} \frac{FT_{HE}(i) - \alpha FT_{LE}(i) - (FT_{HE,1} - \alpha FT_{LE,1})}{m_{1,2} - \alpha} + FT_{HE,1} \quad [\text{B.12}]$$

La desviación estándar de \mathbf{S}_α , derivada de B.11- B.12 es:

$$\sigma(\mathbf{S}_\alpha) = \sigma_\alpha = \sqrt{\left(\frac{\sigma_{HE}}{m_{1,2} - \alpha}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_{LE}\alpha}{m_{1,2} - \alpha}\right)^2} (\mathbf{1}; m_{1,2}) \quad [\text{B.13}]$$

En general la solución de la resta pesada no coincide con la más probable. Sin embargo para $\alpha = -\sigma_{HE}^2 / m_{1,2} \sigma_{LE}^2$ se cumple $\mathbf{S}_\alpha = \mathbf{S}_x$ y σ_α alcanza su valor mínimo igualándose con σ_x .

Apéndice C. Cálculo de factores efectivos de atenuación para las técnicas de alta y baja energía

El factor efectivo de atenuación se calculó como:

$$FT_x = \frac{\int \Psi(E) \exp(-\mu_x t_x) \eta(E) dE}{\int \Psi(E) \eta(E) dE} \quad [C.1]$$

donde FT_x , μ_x y t_x son el factor efectivo de atenuación, el coeficiente lineal de atenuación y el grosor de la sustancia x ; $\Psi(E)$ es el espectro de fluencia de energía generado por el tubo de rayos-x y atenuado por todas las sustancias que atraviesa hasta antes de llegar al detector (exceptuando la sustancia x); y $\eta(E) = 1 - \exp(-\mu_{CsI}(E) \cdot t_{CsI})$ es la eficiencia de detección del cristal centellador de CsI(Tl) del detector.

El cálculo asume que no se detecta radiación dispersa y que el tubo de rayos-x tiene una distribución espectral dada por la parametrización propuesta por Moya y cols.,⁴⁶ determinada para un tubo de rayos-x similar al del microCT. El espectro de fluencia de energía de la fuente es modificado por el filtro interno de aluminio, el filtro externo de molibdeno (sólo en HE) y el aire entre el tubo de rayos-x y el detector. La densidad del aire se corrige para considerar condiciones atmosféricas similares a las de Ciudad México (590 mm de Hg y 25 °C). La muestra de interés se considera un vóxel de lado 0.1 mm flotando en el aire. La composición y extensión de cada medio se reúne en la tabla C.1.

Tabla C.1. Composición y extensión de los medios que modifican el haz de radiación.

Identificación	Material	Densidad (kg/m ³)	Espesor (mm)
filtro interno	Al	2698	0.500
filtro de Mo	Mo	10280	0.025
aire	aire seco	0.9	425.000
detector	CsI	4510	0.200
hidroxiapatita	HA	2950	0.107
hueso	hueso	1920	0.107
yodo	I	4930	0.107
agua	H ₂ O	1000	0.107
tejido adiposo	T. Adip.	950	0.107

Los coeficientes de atenuación se extrajeron del sitio del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST).⁴⁷ Las integrales fueron calculadas usando el método recursivo de Simpson implementado en MATLAB. El error en su determinación fue menor que 10^{-6} . Para las mezclas de dos sustancias (HA-tejido blando y yodo-tejido blando), el coeficiente lineal de atenuación (μ_M) se calculó como:

$$\mu_M = \mu_1 \frac{C_1}{\rho_1} + \mu_2 \frac{C_2}{\rho_2} \quad [C.2]$$

donde μ_i , C_i y ρ_i son el coeficiente lineal de atenuación, la concentración en la mezcla y la densidad de la sustancia i .

La tabla C.2 muestra los factores efectivos de atenuación para varias sustancias y mezclas de interés, así como el valor esperado en HU. Los valores de HU se encuentran en el mismo orden de magnitud que los observados en imágenes reales. Se considera que la principal fuente de discrepancia es la modelación del haz. En las imágenes reales el haz cambia su distribución espectral al pasar por el maniquí producto del endurecimiento y de la incorporación de radiación dispersa.

Tabla C.2. Factores efectivos de atenuación y HU esperadas para varias muestras de interés.

	Factor efectivo de atenuación		HU esperadas	
	Baja energía (LE)	Alta energía (HE)	Baja energía (LE)	Alta energía (HE)
hidroxiapatita	0.1348	0.0655	11036	9565
hueso	0.1022	0.0499	8125	7048
tejido blando (agua)	0.0112	0.0062	0	0
tejido adiposo	0.0072	0.0044	-357	-290
yodo	1.2029	1.0708	106402	171710
mezcla I - H ₂ O (I mg/ml)				
0	0.0112	0.0062	0	0
1	0.0116	0.0064	30	40
3	0.0122	0.0069	91	120
5	0.0129	0.0074	151	200
20	0.0180	0.0111	602	797
50	0.0281	0.0185	1498	1988
80	0.0380	0.0259	2387	3175
150	0.0610	0.0429	4433	5928
200	0.0772	0.0550	5873	7883
250	0.0932	0.0671	7296	9827
300	0.1090	0.0791	8702	11762
350	0.1246	0.0910	10093	13687
400	0.1401	0.1029	11469	15602
mezcla HA - H ₂ O (HA mg/ml)				
0	0.0112	0.0062	0	0
50	0.0135	0.0072	199	170
100	0.0157	0.0083	396	339
250	0.0223	0.0114	985	845
500	0.0332	0.0166	1958	1683
750	0.0440	0.0218	2921	2514

Apéndice D. Prueba de centro de rotación en geometría de haz de cono

La prueba de centro de rotación (COR por sus siglas en inglés) permite obtener la proyección del COR sobre el detector, a partir de las proyecciones de un objeto puntual. La misma fue diseñada considerando una geometría de haz paralelo (Fig. D.1.a), donde la posición del objeto puntual en el detector es dada por la expresión:

$$P_D(\theta) = R_p \cos(\theta) + C_D \quad [D.1]$$

donde P_D y C_D son las coordenadas de las proyecciones del objeto puntual y del centro de rotación sobre el detector; R_p es la distancia centro de rotación - objeto puntual; y θ es el ángulo de la proyección. C_D se obtiene de ajustar $P_D(\theta)$ a una función sinusoidal.

La geometría de irradiación del microCT no es de haz paralelo (Fig. D.1.b), por lo que la posición del objeto puntual en el detector está dada por la expresión:

$$P_D(\theta) = R_p \frac{\sin(\varphi - \theta)}{\sin(\varphi)} \frac{R_F \sin(\varphi) + d}{R_F \sin(\varphi) - R_p \sin(\theta)} + C_D - d \cos(\varphi) \quad [D.2]$$

donde R_p , R_F y d son las distancias del centro de rotación al objeto puntual, el foco de radiación y el detector, respectivamente; y φ es el ángulo entre el vector director del foco y el eje y . La ecuación D.2 converge a la ecuación D.1 cuando R_F tiende a infinito y $\varphi = \pi/2$. El término que modula a $\sin(\varphi - \theta)$ tiene una variación lenta cuando $R_F \gg R_p$, entre 1.48 y 1.54 en el montaje utilizado, por lo que puede ser aproximado a constante. El $\cos(\varphi)$ es cercano a cero, desviándose poco de la geometría ideal de adquisición (foco, COR y centro del detector alineados). Por lo tanto, se puede obtener una buena aproximación de C_D al ajustar P_D a una función sinusoidal.

En este trabajo se utilizó una aguja fina de insulina (~ 0.3 mm \varnothing) orientada en la dirección del eje de rotación para producir un objeto aproximadamente puntual. La prueba de COR

se realizó con la información correspondiente al plano axial que divide al detector por la mitad. El centro de masa determinó la posición del objeto puntual en el detector.

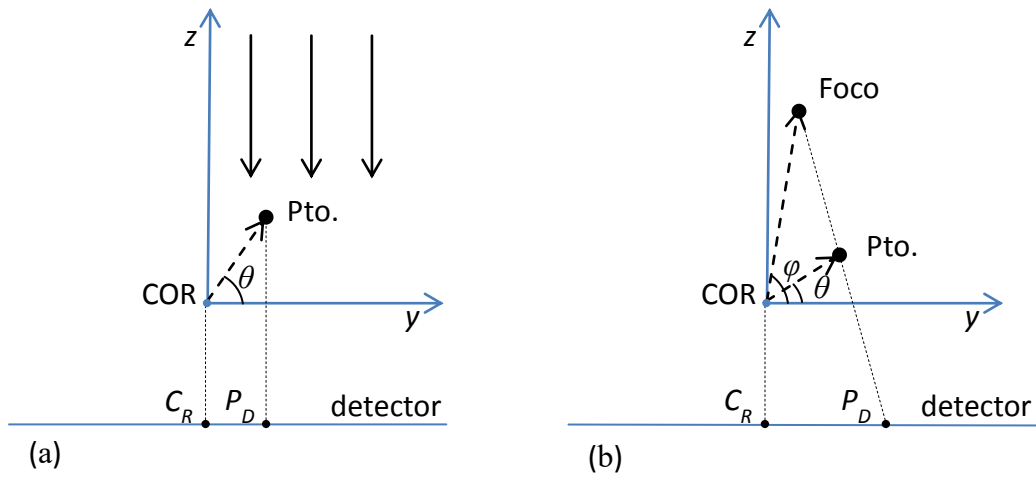


Figura D.1. Geometría de adquisición de la prueba de centro de rotación para (a) haz paralelo y (b) haz de abanico. El eje x del sistema de coordenadas está alineado con el eje de rotación.

Apéndice E. Evolución temporal de la no-uniformidad, el ruido y la HU del agua para las técnicas LE y HE

Las figuras E.1, E.2 y E.3 muestran la evolución temporal de la no-uniformidad, el ruido y la HU del agua en imágenes adquiridas con las técnicas HE y LE. Las magnitudes fueron calculadas en imágenes del maniquí rellenable con agua (epígrafe III.1) siguiendo la metodología descrita en el epígrafe III.3.

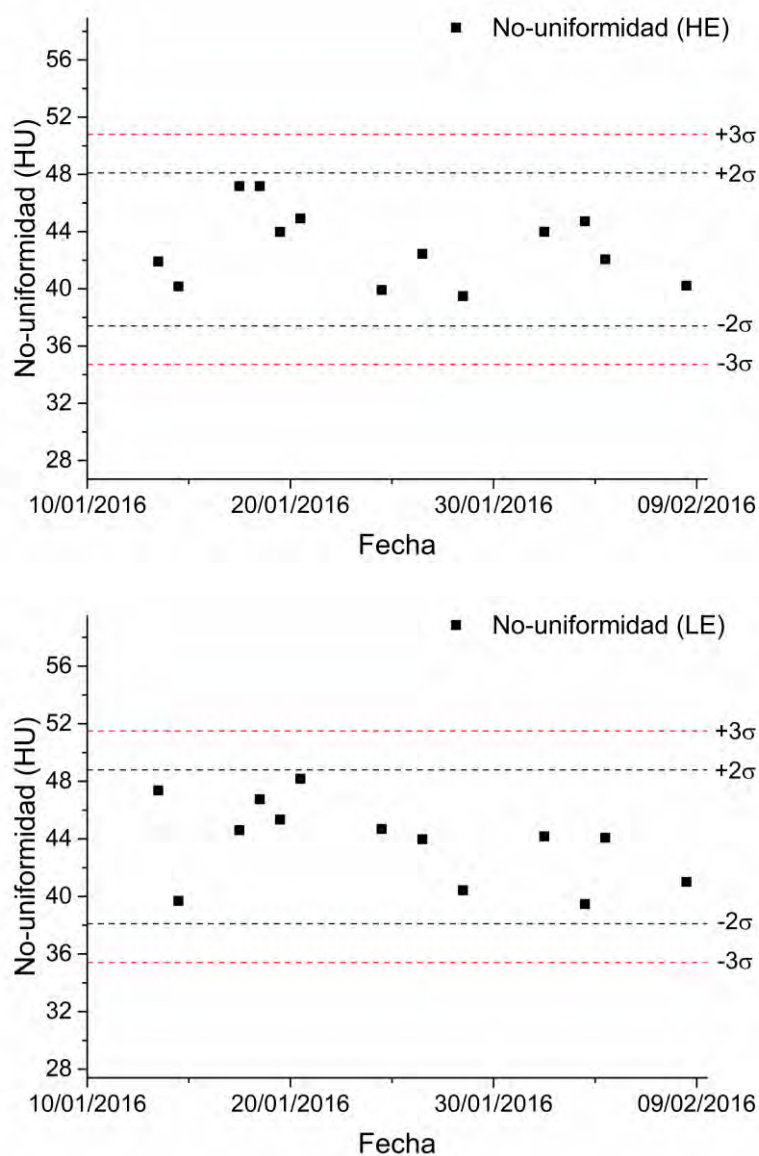


Figura E.1. Evolución temporal de la no-uniformidad en imágenes adquiridas con las técnica de alta energía (HE) y baja energía (LE).

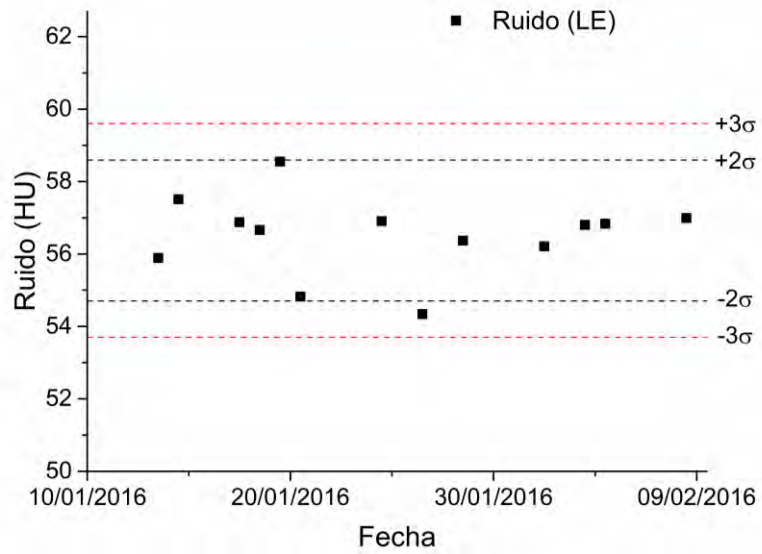
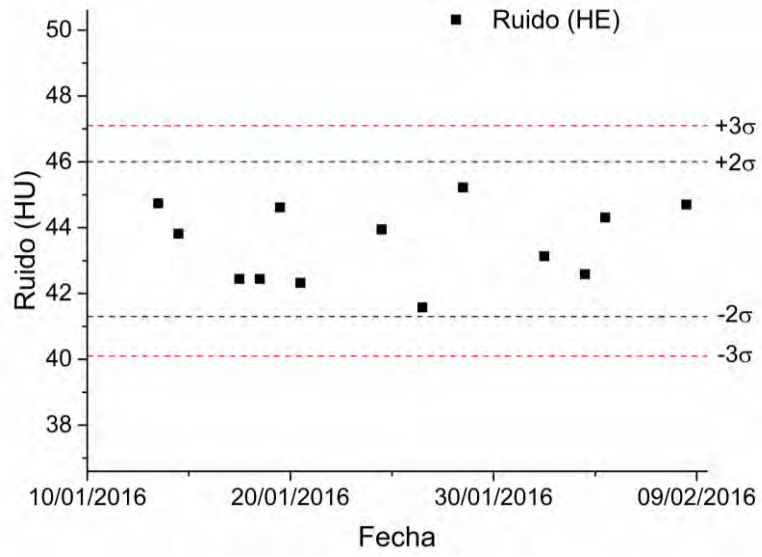


Figura E.2. Evolución temporal del ruido en imágenes adquiridas con las técnica de alta energía (HE) y baja energía (LE).

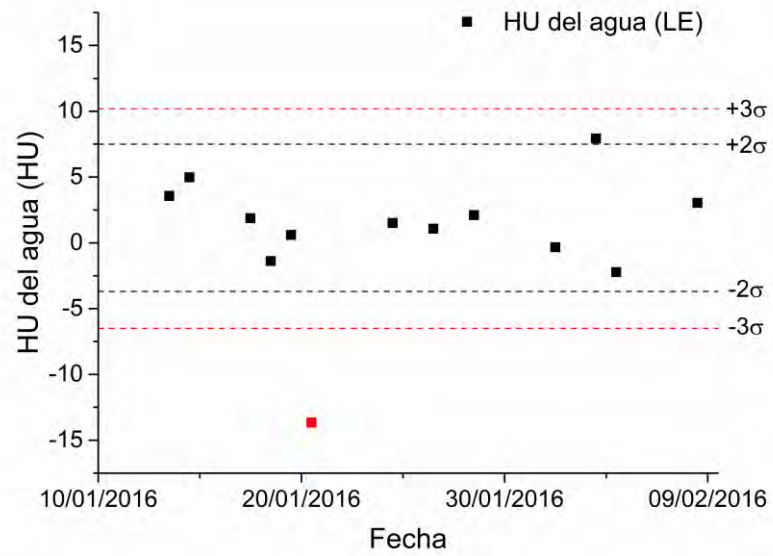
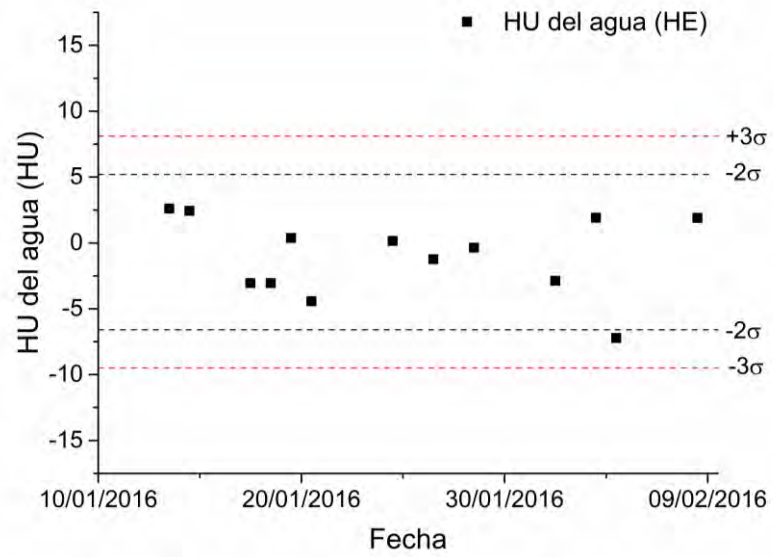


Figura E.3. Evolución temporal de la HU del agua en imágenes adquiridas con las técnica de alta energía (HE) y baja energía (LE).