



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS FÍSICAS
INSTITUTO DE FÍSICA

ULTRASONIDO MÉDICO CUANTITATIVO PARA EL ESTUDIO DE LA MADUREZ
DE PULMÓN FETAL

TESIS

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

PRESENTA:

QUITERIO PÉREZ IRENE GUADALUPE

TUTOR PRINCIPAL:

DR. RAÚL PATRICIO ESQUIVEL SIRVENT
INSTITUTO DE FÍSICA, UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

DR. IVÁN MIGUEL ROSADO MÉNDEZ
UNIVERSITY OF WISCONSIN - MADISON

DR. CARLOS VILLARREAL LUJÁN
INSTITUTO DE FÍSICA, UNAM

MÉD. YUBIA AMAYA GUEL
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., NOVIEMBRE, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



**PROTESTA UNIVERSITARIA DE INTEGRIDAD Y
HONESTIDAD ACADÉMICA Y PROFESIONAL
(Graduación con trabajo escrito)**

De conformidad con lo dispuesto en los artículos 87, fracción V, del Estatuto General, 68, primer párrafo, del Reglamento General de Estudios Universitarios y 26, fracción I, y 35 del Reglamento General de Exámenes, me comprometo en todo tiempo a honrar a la Institución y a cumplir con los principios establecidos en el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente con los de integridad y honestidad académica.

De acuerdo con lo anterior, manifiesto que el trabajo escrito titulado:

**“ULTRASONIDO MÉDICO CUANTITATIVO PARA EL ESTUDIO DE LA MADUREZ DE
PULMÓN FETAL “**

que presenté para obtener el grado de -----Maestría----- es original, de mi autoría y lo realicé con el rigor metodológico exigido por mi programa de posgrado, citando las fuentes de ideas, textos, imágenes, gráficos u otro tipo de obras empleadas para su desarrollo.

En consecuencia, acepto que la falta de cumplimiento de las disposiciones reglamentarias y normativas de la Universidad, en particular las ya referidas en el Código de Ética, llevará a la nulidad de los actos de carácter académico administrativo del proceso de graduación.

Atentamente

Irene Guadalupe Quiterio Pérez
313344800

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Irene Quiterio'.

(Nombre, firma y Número de cuenta de la persona alumna)

Para mis padres y hermana.

*“Science is competitive, aggressive, demanding.
It is also imaginative, inspiring, uplifting.”
-Vera Rubin*

Agradecimientos

Agradecimientos personales

A mis padres, Everardo y Juana, por su apoyo incondicional, cariño y paciencia. Sin ustedes, no hubiera podido alcanzar cada meta que me he propuesto.

A mi hermana, Mariana, por creer en mí siempre y motivarme a seguir adelante en los días más complicados. Les agradezco infinitamente.

Al resto de mi familia, por siempre tener palabras de apoyo para mí.

A mi asesor, el Dr. Raúl Esquivel, le agradezco el conocimiento y tiempo que ha compartido conmigo a lo largo de estos años. Por motivarme cada vez que parecía que este trabajo no se iba a lograr, su apoyo ha sido vital a lo largo de mi formación académica. Gracias.

A mis compañeros y amigos del laboratorio de ultrasonido médico, Ana Karen, Fabián, Joan, Mayra, gracias por el tiempo que cada uno de ustedes invirtió en ayudarme a llevar a cabo este trabajo y por las palabras de ánimo que me brindaron.

A mis compañeros de la maestría por todas las experiencias que vivimos juntos. En especial a Jaz y Miri por la amistad que me han brindado.

A mis amigas Eli, Faby y Sharon por su amistad y apoyo incondicional. Gracias por acompañarme en cada paso que he dado y por estar ahí para alentarme siempre.

A los miembros de mi comité tutor, el Dr. Iván Rosado, el Dr. Carlos Villarreal y la Méd. Yubia Amaya, por el apoyo y la orientación brindados a lo largo de este trabajo.

A los sinodales, Dra. Lucia Medina, Dra. Ursula Iturrarán, Dr. Pablo Rendón y Dr. Rafael Méndez, gracias por el tiempo dedicado a revisar mi trabajo y por los valiosos comentarios que me brindaron con el fin de mejorar mi trabajo.

Agradecimientos Institucionales

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de maestría otorgada a lo largo de mis estudios (CVU 1105548).

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM, proyecto IN107022, por el apoyo para asistir al International Lung Ultrasound Symposium (ILUS 2023) y por la beca otorgada para concluir este trabajo de tesis.

También agradezco al Laboratorio Central de Microscopía (LCM) del Instituto de Física de la UNAM por el apoyo brindado para la realización de esta tesis. En particular, al técnico académico Samuel Tehuacanero Núñez por su apoyo en la adquisición de las imágenes por microscopía electrónica de las muestras empleadas en este trabajo.

Agradezco también a Noushin Jafarishah y al Dr. Hassan Rivaz, del IMPACT Laboratory de la Universidad de Concordia en Montreal, Canadá, por el desarrollo de los códigos de ALGEBRA (AnaLytic Global rEgularized BackscatteR quAntitative ultrasound) con los cuales fue posible realizar este trabajo.

Resumen

Actualmente, existe una técnica no invasiva que permite evaluar el estado de la madurez pulmonar fetal, mediante el uso de ultrasonido diagnóstico. Sin embargo, esta se basa en el análisis de la textura de las imágenes en modo B, las cuales guardan una dependencia con el operador y los parámetros de adquisición. Aunado a esto, durante el post - procesamiento de dichas imágenes, se pierde toda la información acerca de los parámetros físicos del tejido.

Debido a ello, se plantea una prueba de concepto, en la cual se busca evaluar si es posible caracterizar la morfología del tejido pulmonar mediante la técnica de microscopía por retrodispersión ultrasónica, y a partir de dicha evaluación, generar una correlación con el estado de madurez pulmonar fetal. Por consiguiente, en este trabajo se desea validar la metodología para la estimación del tamaño de dispersores esféricos en un maniquí con una morfología similar al pulmón, donde con dichos dispersores se estaría simulando la estructura alveolar.

Los maniqués empleados en este proyecto se encuentran hechos a base de esponjas de melamina sumergidas en agua. En total se analizaron cinco esponjas. El proceso de análisis consistió en la adquisición de la señales de radiofrecuencia provenientes de los ecos generados en la esponja. Seguido de esto, se realizó la estimación del espectro de potencia de dichas señales, a partir de cual se estimó el espectro del coeficiente de retrodispersión. Siendo este parámetro acústico, el que permitió estimar el tamaño de los dispersores con los que interactuó la onda.

Para la adquisición de la señales de radiofrecuencia se empleó un equipo Siemens modelo ACUSON S3000, así como un transductor 12L4 de la misma marca. En cuanto a los parámetros de adquisición, se seleccionaron tres frecuencias nominales de emisión (6 MHz / 9 MHz / 12 MHz) y diferentes porcentajes para la potencia acústica de emisión. Mientras que, para el procesamiento de las señales, todos los programas utilizados se encontraban implementados en el lenguaje de programación MATLAB.

Para evaluar el sesgo de las estimaciones realizadas mediante ultrasonido se caracterizó el tamaño de los poros de la esponja a través de una técnica independiente. La cual consistió, en el análisis de imágenes adquiridas empleando un microscopio de barrido electrónico. Para la identificación y medición de las estructuras de interés se hizo uso del software ImageJ.

Al analizar los resultados obtenidos para las tres frecuencias nominales y una potencia acústica del 100 %, se encontró que para 6 MHz, se tiene una mejor estimación del tamaño de

los poros. Dado que, para dicha frecuencia, la frecuencia central de su espectro de potencia cumple con encontrarse dentro del intervalo de la relación de $0.5 < ka < 1.2$, lo cual establece que es posible estimar el tamaño de dispersores esféricos a través del análisis del coeficiente de retrodispersión.

Para 6 MHz y una potencia acústica del 100 %, se observó la presencia del segundo armónico en el espectro de potencia. Por lo que se decidió estimar el tamaño de los poros a potencias en las cuales no se tenían armónicos (0.1 %, 0.2 % y 0.32 %), así como a la potencia umbral en la cual se comenzaba a observar la generación del segundo armónico (0.5 %). Al realizar la evaluación y comparar los resultados obtenidos para las cinco potencias, se determinó que en tres de las cinco esponjas el menor sesgo se obtenía al emplear una potencia de 0.5 %, seguido del 100 %.

También se realizaron pruebas de hipótesis para evaluar si los valores obtenidos por ultrasonido eran estadísticamente iguales a los del valor de referencia. Aunado a esto, se estimaron los intervalos de confianza al 95 % para la diferencia entre los radios promedio obtenidos mediante ambas técnicas. En lo que respecta a las pruebas de hipótesis se obtuvo que para ninguna de las esponjas y potencias analizadas se cumple que los valores son iguales, por lo que las diferencias encontradas en las estimaciones son estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Al analizar los intervalos de confianza se encontró que para una esponja y cuatro de los valores de potencia analizados (0.1 %, 0.2 %, 0.32 % y 0.5 %) el cero se encuentra contenido, por lo que existe la posibilidad de que las estimaciones sean estadísticamente las mismas.

Finalmente, de acuerdo con lo reportado en la literatura, la diferencia máxima entre la estimación del tamaño de dispersores esféricos por ultrasonido y su respectivo valor de referencia es del 20 %. En nuestro caso, en cuatro de las cinco esponjas se obtuvo que la diferencia máxima es del 28 %. Por lo que nos encontramos un 8 % por arriba de lo reportado.

Este trabajo destaca el potencial del coeficiente de retrodispersión para la caracterización del tamaño de dispersores esféricos. A pesar de los resultados prometedores, es necesario llevar a cabo un análisis exhaustivo de la contribución de los armónicos en la estimación del parámetro de interés. Además, se plantean mejoras en el método de referencia y en el maniquí empleado.

Este proyecto constituye el primer paso en la exploración de una técnica novedosa para evaluar la morfología pulmonar fetal. Con el potencial de desarrollar una herramienta integral para evaluar el estado de madurez pulmonar en el futuro. La implementación exitosa de esta técnica podría proporcionar una valiosa herramienta para determinar la necesidad de administrar tratamientos antes del parto, con el objetivo de favorecer un óptimo desarrollo del sistema respiratorio fetal y reducir las complicaciones postnatales asociadas a enfermedades respiratorias.

Índice general

| | |
|--|------------|
| Agradecimientos | III |
| Resumen | VII |
| 1. Introducción y Antecedentes | 1 |
| 1.1. Desarrollo pulmonar | 2 |
| 1.2. Evaluación de la madurez pulmonar fetal | 4 |
| 1.3. Ultrasonido médico | 6 |
| 1.3.1. Evaluación de la madurez pulmonar fetal por ultrasonido | 7 |
| 1.4. Ultrasonido Cuantitativo | 10 |
| 1.5. Hipótesis y justificación | 12 |
| 1.5.1. Hipótesis | 12 |
| 1.5.2. Justificación | 12 |
| 1.6. Objetivos y Metas | 13 |
| 1.7. Estructura del trabajo | 14 |
| 2. Retrodispersión acústica | 15 |
| 2.1. Dispersión | 16 |
| 2.1.1. Coeficiente de retrodispersión | 17 |
| 2.1.2. Solución al problema de dispersión | 20 |
| 2.2. Atenuación | 24 |
| 2.3. Campo de presión incidente. Efectos de difracción. | 25 |
| 3. Maniquí de estudio | 31 |
| 3.1. Maniquí de esponja | 31 |
| 3.2. Método de referencia | 33 |
| 3.3. Valor de referencia | 34 |
| 3.3.1. Pruebas de hipótesis | 35 |
| 3.3.2. Intervalos de confianza | 37 |

| | |
|--|-----------|
| 4. Caracterización ultrasónica | 39 |
| 4.1. Adquisición de los datos | 39 |
| 4.2. Procesamiento de las señales de RF | 41 |
| 4.2.1. Espectro de potencia | 42 |
| 4.2.2. Método del maniquí de referencia. Espectro de potencia normalizado | 43 |
| 4.2.3. Determinación ancho de banda | 44 |
| 4.2.4. Cálculo de coeficiente de retrodispersión y corrección por atenuación | 45 |
| 4.2.5. Estimación del tamaño de dispersor | 48 |
| 4.3. Análisis de sesgo | 52 |
| 5. Resultados y Discusión | 55 |
| 5.1. Microscopía electrónica | 55 |
| 5.2. Ultrasonido | 58 |
| 6. Conclusiones | 77 |
| A. Apéndice | 79 |
| A.1. Tejido biológico | 79 |
| A.2. Volumen de dispersión | 82 |
| A.3. Imágenes SEM | 85 |
| A.4. Relación ka | 88 |

Introducción y Antecedentes

Las enfermedades pulmonares a menudo ponen en riesgo la vida y la salud pulmonar a corto y largo plazo de recién nacidos a término y prematuros [1, 2]. La Morbilidad Respiratoria Neonatal (MRN) se refiere a un conjunto de problemas respiratorios que afectan a los recién nacidos poco después de su nacimiento [3], estos pueden variar desde leves hasta graves y conllevar la necesidad de atención médica especializada, estancias hospitalarias prolongadas, así como daños irreversibles en la salud del paciente [3, 4].

Las causas de la morbilidad respiratoria neonatal son diversas y pueden estar relacionadas con factores maternos, factores relacionados con el parto o condiciones propias del desarrollo fetal. Algunos de los problemas respiratorios más comunes que se presentan son:

- Síndrome de dificultad respiratoria (SDR): Es una afección caracterizada por el déficit de surfactante, secundario a inmadurez pulmonar y/o prematuridad. El factor surfactante¹ es fundamental para prevenir el colapso alveolar [5, 7]. Este se encuentra constituido por una mezcla de fosfolípidos, lípidos neutros y proteínas [5] que son producidos por las células alveolares tipo 2 a partir de la semana 20 de gestación [6, 8].
- Infecciones respiratorias: Los recién nacidos son más susceptibles a infecciones respiratorias, especialmente aquellos que son prematuros. De igual forma, se ha identificado que los fetos que tienen antecedentes de infecciones maternas recurrentes o ruptura prematura de membranas, pueden llegar a presentar alguna afectación en su función pulmonar durante la etapa neonatal [9].
- Aspiración de meconio² [11]: El meconio representa un dato de madurez fetal, sin embargo, también se ha relacionado con desenlaces perinatales adversos. Existen varios mecanismos fisiopatológicos descritos por la aspiración del meconio, entre ellos, se encuentran las citocinas proinflamatorias del meconio, las cuales pueden producir un daño pulmonar. Asimismo, esto se ha asociado con una afectación de las propiedades tensoactivas del surfactante y se ha reportado que puede obstruir las vías respiratorias.
- Malformaciones congénitas: Algunas malformaciones congénitas producen cambios estruc-

¹El surfactante pulmonar es una sustancia tensoactiva, cuya función es disminuir la tensión superficial en el alvéolo evitando su colapso y facilitando la expansión pulmonar del recién nacido [5, 6].

²El meconio corresponde a la primera materia fecal del recién nacido [10].

turales pulmonares y bioquímicos como la hipoplasia pulmonar, el deficiencia de factor surfactante, la disminución del área arterial pulmonar e incluso hipertensión arterial pulmonar, lo que dificulta la respiración neonatal [12].

- Hipertensión pulmonar persistente del recién nacido (HPPRN): Es una condición en la que existe vasoconstricción pulmonar (no se relajan adecuadamente los vasos sanguíneos de los pulmones), lo que dificulta el flujo sanguíneo y la oxigenación [11].

Los síntomas de la morbilidad respiratoria neonatal pueden incluir dificultad para respirar, respiración rápida, cianosis (coloración azulada de la piel debido a la falta de oxígeno), sibilancias, apneas (pausas en la respiración), asfixia perinatal y hasta la muerte del neonato [13]. El tratamiento para estas afecciones dependerá de la causa subyacente y la gravedad del problema. Algunos recién nacidos llegan a necesitar asistencia respiratoria, como oxígeno y/o ventilación mecánica, mientras que otros requieren medicamentos específicos, por ejemplo, esteroides prenatales, antibióticos para tratar infecciones o surfactante pulmonar al nacimiento con la finalidad de mejorar la función pulmonar.

Uno de los desafíos de la morbilidad respiratoria neonatal es que los recién nacidos afectados reciban atención médica oportuna y adecuada, ya que una intervención temprana puede mejorar el pronóstico y prevenir los efectos adversos de estas enfermedades a corto y largo plazo.

Como se ha mencionado, estas enfermedades respiratorias dependen de muchos factores, siendo uno de ellos la inmadurez pulmonar fetal. En el caso de un bebé prematuro, su supervivencia estará estrechamente relacionada con la fase del desarrollo que hayan alcanzado sus vías respiratorias al momento del nacimiento [14], por lo que la edad gestacional es uno de los principales factores que permiten evaluar el estado de madurez. Es justo en la evaluación de la madurez pulmonar fetal, que se basa la investigación realizada en este trabajo, con miras a que una determinación adecuada del grado de madurez ayude a disminuir la presencia de algunas de las enfermedades relacionadas con la MRN.

1.1. Desarrollo pulmonar

Los pulmones son órganos localizados en la cavidad torácica, que se conforman por dos secciones, conductora y respiratoria. La primera de ellas incluye desde los bronquios hasta los bronquiolos terminales; mientras que la otra, está formada por los bronquiolos respiratorios, los conductos y sacos alveolares y los alvéolos [15], Fig.1.1.

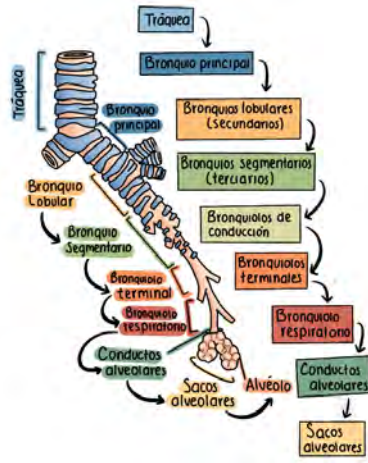


Fig. 1.1: Estructura conductora y respiratoria del pulmón. Tomado de [16].

El proceso de maduración de los pulmones involucra diferentes aspectos, entre ellos, los cambios bioquímicos, funcionales y morfológicos [17-19]. Por ello, el desarrollo prenatal del pulmón es un proceso complejo, coordinado y secuencial, cuyo objetivo es la formación de una estructura altamente organizada, especializada y capacitada funcionalmente para la vida postnatal [15].

El desarrollo del pulmón comienza a partir de la quinta semana de gestación, con la formación del botón embrionario, el cual es una especie de yema que surge desde lo que se conoce como intestino primitivo, y que posteriormente, crecerá y se dividirá de forma dicotómica dando lugar a los bronquios y sus ramificaciones [20]. En total un pulmón maduro está constituido por 24 generaciones (ramificaciones) [21].

En general, el desarrollo del pulmón se divide en cinco etapas, estas se caracterizan por su variabilidad en la duración y superposición, debido a que los tiempos difieren de individuo a individuo [14, 15, 20, 22], Fig.1.2:

- Embrionaria (hasta la sexta SDG³): Se caracteriza por la aparición y desarrollo de la yema pulmonar que dará origen a la laringe, los bronquios principales, lobulares y segmentarios.
- Pseudoglandular (5 - 17 SDG): Se caracteriza por la continuación de la ramificación de la sección conductora. Al final de esta fase, se habrá formado el árbol traqueobronquial preacinar, que comprende todas las vías de conducción, desde la tráquea hasta los bronquiolos terminales. Debido a que en dicha etapa aún no se han desarrollado los bronquiolos respiratorios, los bebés nacidos en este periodo no podrán realizar un intercambio gaseoso durante el proceso de respiración, por lo que no conseguirán sobrevivir.
- Canicular (16 - 26 SDG): Durante este período, se presenta el desarrollo inicial y parcial de los acinos⁴, así como la diferenciación de los neumocitos tipo I y II. Lo anterior está relacionado con el inicio de la síntesis del surfactante pulmonar, el cual le permitirá a

³SDG: semana de gestación

⁴El acino es la porción de parénquima pulmonar distal al bronquiolo terminal y compuesto de bronquiolos respiratorios, conductos y sacos alveolares y los alvéolos [23].

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

algunos recién nacidos a partir de las 24 SDG sobrevivir. Sin embargo, esto estará sujeto a la superficie disponible para el intercambio gaseoso y la cantidad de surfactante producido por los neumocitos tipo II. Otro desarrollo que se genera durante esta fase es el adelgazamiento de la membrana alveolocapilar y el incremento de la vascularización.

- Sacular (26 - 36 SDG): Esta fase comienza con la formación de sáculos⁵ terminales y continúa la expansión y la proliferación de los túbulos acinares, así como el aumento de la superficie de intercambio gaseoso. Los neumocitos tipo I y II continúan aumentando en número y maduran progresivamente, lo que implica un incremento en la síntesis y secreción de líquido surfactante. Finalmente, el intersticio se adelgaza aún más y la red capilar se expande, ampliando la superficie y el volumen de difusión.
- Alveolar (36 SDG - 8 años de edad): Se caracteriza por el aumento del número de alvéolos y la maduración de los elementos vasculares y microvasculares. Además, durante esta fase, comienza el proceso de intercambio gaseoso. En el caso de un recién nacido a término, al momento del nacimiento este cuenta con aproximadamente 50 millones de alvéolos que representan entre un 20 % - 30 % del total de los 200 - 600 millones que tiene el adulto. Lo anterior origina que dicha etapa se prolongue hasta los primeros años de vida en los cuales los pulmones llegan a su completa funcionalidad y madurez.

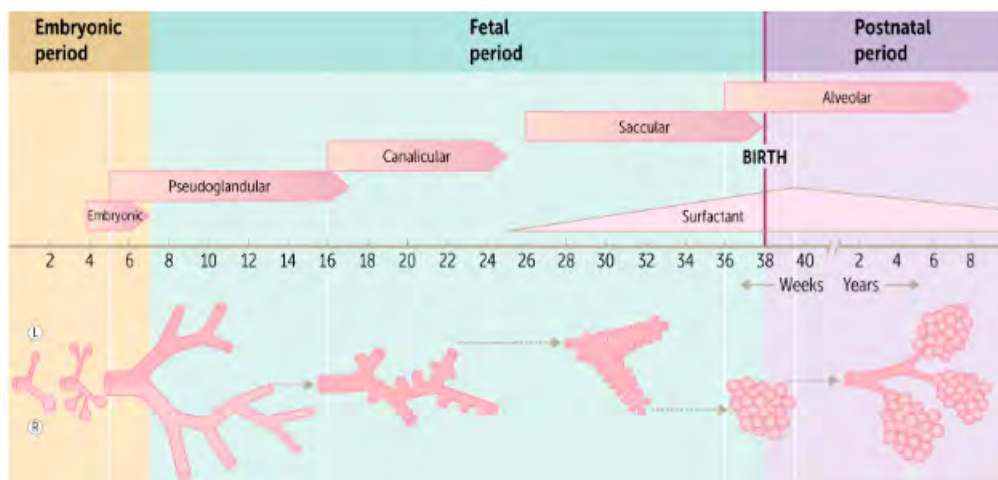


Fig. 1.2: Etapas del desarrollo pulmonar. Tomado de [24].

1.2. Evaluación de la madurez pulmonar fetal

Las morbilidades respiratorias están íntimamente relacionadas con la edad gestacional, por lo que una de las principales formas de disminuir el riesgo de que se presente un cuadro respiratorio, es evitar el nacimiento prematuro. No obstante, existen otros factores que aumentan el riesgo de que el recién nacido presente alguna morbilidad respiratoria, por lo que al ser un problema multifactorial, es primordial contar con herramientas diagnósticas que permitan determinar de

⁵Los sáculos son grupos de espacios aéreos [14].

manera directa algún parámetro que indique la probabilidad de alguna enfermedad respiratoria en el recién nacido. Actualmente, se tienen técnicas invasivas y no invasivas para la evaluación de la madurez pulmonar fetal.

La evaluación de la madurez pulmonar fetal se ha realizado mediante el empleo de una técnica invasiva que conlleva el uso de la amniocentesis. Dicha técnica consiste en la introducción de una aguja a través de la pared abdominal, la uterina y la cavidad amniótica, principalmente empleando una guía ecográfica (Fig.1.3) con la finalidad de extraer una muestra del líquido amniótico que envuelve al feto [25].

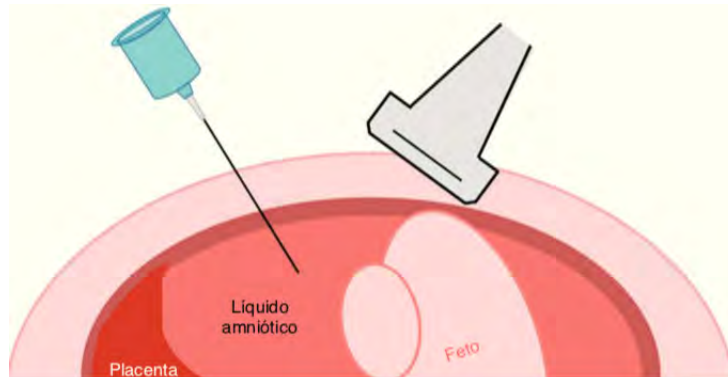


Fig. 1.3: Proceso de amniocentesis. Tomado de [25].

De la muestra obtenida, se busca determinar la madurez pulmonar fetal, a través de evaluar la relación entre los componentes del surfactante y los del líquido amniótico [7]. Esto es posible ya que el líquido pulmonar mantiene un flujo hacia la cavidad amniótica, aportando surfactante y modificando los niveles de los fosfolípidos en el líquido amniótico. Por lo tanto, la presencia de ciertos fosfolípidos (lecitina, fosfatidilglicerol, esfingomiélin, entre otros) es un indicador de la fase del desarrollo en la que se encuentran los pulmones del feto [6]. Este es un proceso que se lleva a cabo desde la semana 16 de gestación [25].

La prueba estándar de referencia es la evaluación de la relación lecitina⁶/esfingomiélin o (L/E), esto debido a las diferencias en los tiempos de producción de cada uno de estos fosfolípidos. En general, la concentración de lecitina es menor que la de esfingomiélin hasta la semana 30; mientras que entre las semanas 30 y 32 la cantidad de ambos fosfolípidos se iguala. Finalmente, después de la semana 32 la producción de lecitina continúa aumentando y la de esfingomiélin disminuye [6].

Por lo tanto, un índice $(L/E) \geq 2$ indica que la madurez pulmonar es satisfactoria y por consiguiente, el recién nacido no tendrá déficit de surfactante [26]. Mientras que, una relación $L/E \leq 1.5$ es un indicador de inmadurez. Por otra parte, un cociente L/E entre 1.5 y 1.9 indica una condición transicional [6]. Sin embargo, la relación L/E puede dar falsos positivos, particularmente en madres con diabetes gestacional y con diabetes mellitus tipo 2 [6].

Otra prueba es la de Clements o también conocida como prueba de agitación o de estabilidad

⁶La producción de lecitina es máxima en la semana 35 de gestación.

de la espuma, la cual se basa en el hecho de que los compuestos tensoactivos del surfactante poseen la capacidad de formar burbujas al agitarse en presencia de etanol. Para realizarla, se hacen diluciones sucesivas de líquido amniótico en etanol al 95 % que se mezclan en diferentes proporciones, se agitan y se dejan en reposo; transcurrido cierto tiempo se observa la formación de burbujas en la interfase líquido-aire. Cuando hay un anillo completo y estable de burbujas en los tubos que tienen diluciones 1:2 o mayores de líquido amniótico se establece que hay madurez pulmonar fetal [6].

También se tiene la prueba de determinación de fosfatidilglicerol, en la cual se evalúa su presencia en el líquido amniótico. Este fosfolípido aparece normalmente en las últimas semanas del desarrollo pulmonar [5, 6]. Además de las ya mencionadas, existen otras técnicas como la absorbancia del líquido amniótico a 650 nanómetros, la fluorescencia polarizada, microviscosidad del líquido amniótico, determinación de fosfolípidos que contienen colina y recuento de cuerpos lamelares [6, 7]. En la Tabla.1.1 se presenta un comparativa de la fiabilidad de algunas de las pruebas mencionadas.

1.3. Ultrasonido médico

Además de la técnica de amniocentesis mencionada anteriormente, a lo largo de los años se ha buscado desarrollar métodos no invasivos que permitan evaluar el estado de madurez del sistema pulmonar. Uno de los métodos estudiados ha sido el ultrasonido.

El ultrasonido se refiere a ondas sonoras con frecuencias superiores a los 20 kHz [27]. En medicina, el uso de este tipo de ondas puede clasificarse en dos categorías: el diagnóstico y el terapéutico. El ultrasonido diagnóstico, es una de las técnicas más utilizadas para la obtención de imágenes de la anatomía humana y emplea un intervalo de frecuencias de 1 a 20 MHz. El ultrasonido terapéutico utiliza frecuencias entre 0.5 a 1 MHz [28].

El origen del uso del ultrasonido como una herramienta de diagnóstico, viene del principio de ecolocalización que utilizan algunos animales para poder conocer su entorno, esto a través de la emisión de ondas de sonido y la interpretación de los ecos producidos por los objetos que los rodean [29]. Este principio aplicado al ultrasonido diagnóstico se conoce como técnica de pulso-eco. Esta consiste en enviar un pulso de ondas de ultrasonido mediante un transductor que se encuentra en contacto con alguna parte del cuerpo. Dicho pulso se propaga en el interior del cuerpo siguiendo una trayectoria definida, a lo largo de la cual el pulso de ultrasonido se encontrará con cambios de impedancia acústica, que modificarán su trayectoria, generando un fenómeno de dispersión donde cada onda dispersada guardará información acerca del medio con el que interactuó.

Algunos de estos ecos son captados por el transductor, y al analizarlos proporcionan información sobre los elementos con los que interactuaron [30]. El eco recibido depende de tres factores principales: las propiedades de impedancia en la interfaz, la amplitud del pulso cuando alcanza la interfaz y la energía perdida por el eco en su camino de regreso al detector [27].

La impedancia acústica es una medida de la capacidad de una onda de transmitir la energía a un medio. Los cambios en esta propiedad están relacionados con la densidad y la rigidez del

medio de propagación; por consiguiente, tendrán una repercusión en la velocidad a la cual se propaga el pulso. La velocidad media de propagación en tejidos blandos es de 1540 m/s [27]. En la práctica, las variaciones en la atenuación, dispersión, impedancia y velocidad de propagación proporcionan información sobre la estructura del tejido.

Entre las aplicaciones del ultrasonido en estudios prenatales se encuentra su uso para determinar el tamaño del feto, la edad gestacional y el estado de la placenta; debido a esta serie de aplicaciones es que se ha pensado en el ultrasonido diagnóstico como una herramienta para la evaluación de la madurez pulmonar fetal. Sin embargo, la ecografía no permite medir ninguno de los parámetros bioquímicos asociados con dicho proceso como en el caso de las técnicas desarrolladas a partir del líquido amniótico, y tampoco proporciona información histológica o fisiológica directa sobre el desarrollo pulmonar [31, 32].

A pesar de estas limitaciones, es posible realizar un análisis cuantitativo de la información obtenida a partir de las ondas retrodispersadas por las estructuras en el parénquima pulmonar, las cuales cambian durante el desarrollo fetal, lo que genera que los valores de las propiedades acústicas se modifiquen, permitiendo de esta forma tener un posible indicador sobre la madurez pulmonar fetal a través de una evaluación morfológica. Por ejemplo, en pulmones cambios en la cantidad de líquido retenido en el pulmón, en la proporción de colágeno o grasa, del tamaño de las estructuras, resultarían en variaciones del fenómeno de dispersión de las ondas de ultrasonido, lo cual puede ser detectado mediante la ecografía [32].

Por ello, es razonable suponer que tanto los cambios morfológicos como los bioquímicos alteran la dispersión y otras propiedades de la propagación de las ondas en el pulmón fetal [31]. Lo anterior, ha llevado a plantear el desarrollo de técnicas no invasivas que faciliten la evaluación de la madurez pulmonar fetal sin los efectos secundarios y complicaciones materno fetales de una prueba invasiva, como en el caso de la amniocentesis [7]. Para este fin, se han estudiado diversas técnicas ecográficas con distintos grados de éxito [33], a continuación, se mencionarán algunas de ellas.

1.3.1. Evaluación de la madurez pulmonar fetal por ultrasonido

El ultrasonido Doppler ha sido una herramienta que ha demostrado ser de utilidad para evaluar la hemodinámica fetal [5, 34], y como un posible método para estimar la madurez pulmonar. Esto es posible a partir de la evaluación de los cambios en las velocidades de los flujos de las arterias pulmonares, conforme se incrementa la edad gestacional [35]. Este indicador se denomina índice TA/TE, donde TA corresponde al tiempo de aceleración, el cual inicia con la sístole y concluye con el pico máximo de la misma; TE se refiere al tiempo de eyección, que es el periodo que dura el flujo en la arteria mientras la válvula sigmoidea permanece abierta. Dicho índice se ha empleado para evaluar la impedancia del lecho vascular del pulmón y correlacionarlo con eventos tales como la presencia de surfactante [34].

Ortega et al. [35], observaron que el índice aumenta proporcionalmente con la edad gestacional, lo cual está relacionado con el desarrollo embrionario del sistema vascular pulmonar, por lo que se debe considerar que existe un cambio progresivo en la resistencia del mismo conforme transcurren las semanas de gestación. Guerrero et al. [34] obtuvieron que el valor de dicho

parámetro para el caso de 37 o más SDG es de $TA/TE \geq 0.320$, mientras que antes de las 37 SDG el valor de $TA/TE < 0.320$. De lo anterior, concluyeron que la variación entre los valores de TA/TE coincide con el desarrollo de los alvéolos, por lo que lo proponen al índice TA/TE como un indicador del desarrollo pulmonar, complementario a la determinación por amniocentesis.

La Torre et al. [36] correlacionaron con precisión varios patrones de movimientos respiratorios fetales con pruebas de madurez pulmonar. El término movimientos respiratorios fetales está relacionado a movimientos de la pared abdominal y torácica que se presentan en el feto y que corresponden a un símil de lo que ocurre cuando se lleva a cabo el proceso de respiración [36]. Además, Tekesin et al. [37] evaluaron el valor medio de gris de los pulmones fetales y observaron un patrón cambiante con el desarrollo de los mismos; sin embargo, no apreciaron diferencias significativas más allá de las 32 semanas de gestación [13]. También se han realizado estudios donde se evalúa la compresibilidad del tejido con el objetivo de poder estimar el desarrollo pulmonar fetal, el cual está relacionado con cambios en las propiedades mecánicas y no con la producción de surfactante [38].

Otro parámetro que se ha estudiado para determinar la madurez pulmonar es la textura de las imágenes ecográficas. Hay que recordar que cuando los ecos llegan al transductor estos son procesados y a la intensidad de la señal recibida se le asocia una tonalidad de gris, la cual guarda relación con el fenómeno de dispersión que se originó en el tejido de interés y adyacentes. El análisis cuantitativo de la textura, caracteriza las variaciones en la distribución de las tonalidades de grises en las imágenes y a partir de ello, identifica alteraciones en los tejidos debido a la presencia de una patología [39].

El enfoque en el análisis de textura conlleva el desarrollo de métodos computacionales que permitan analizar imágenes médicas y a partir de ellas identificar cambios sutiles en su aspecto o textura, que no son visibles al ojo humano [13]. Sin embargo, no todas las características del moteado que se observan en una imagen se deben solo al tejido, sino que también dependen del sistema de adquisición (equipo y forma del haz), y de los parámetros que el operador seleccione para la obtención de las imágenes [39, 40].

Entre los estudios que se han realizado para la evaluación de la textura de las imágenes ecográficas, se encuentra el de Prakash et al. [31] en el cual se comparó la relación entre los valores de textura de las imágenes de pulmón fetal y de hígado, para determinar la madurez del primer tejido, de donde obtuvieron precisiones que oscilaban alrededor del 73 % y el 96 %. Ghorayed et al., [33], buscaron diferenciar los pulmones fetales prematuros de los de término mediante un análisis cuantitativo de la textura de las imágenes. Para ello, evaluaron el porcentaje de píxeles blancos con respecto al número total de ellos en una ROI (región de interés) para cada imagen ecográfica, y promediaron los índices de heterogeneidad de los pulmones derecho e izquierdo [33]. De los datos que recabaron observaron una disminución de la heterogeneidad pulmonar fetal en las imágenes asociadas con fetos prematuros, mientras que detectaron un aumento de la heterogeneidad tisular en pulmones fetales a término [33, 38].

Por otro lado, Bonet et al. [13], presentaron un software denominado quatusFLM[®] (Transmural Biotech, SL, Barcelona, España), que analiza de manera cuantitativa la textura del pulmón fetal, para predecir la MRN. Este software se basa en el entrenamiento de ciertos algoritmos, a través de imágenes ecográficas pertenecientes a casos de MRN. Dichos algoritmos analizan los patrones de textura de un área delimitada en la imagen [41] y utilizan diferentes

secuencias de características de textura, adaptadas a ciertos rangos de edad gestacional. Por lo que no emplea las SDG para calcular ningún riesgo a priori de MRN, sino para decidir el algoritmo específico a utilizar para el cálculo de la probabilidad de dicho padecimiento [41].

El software *quatusFLM*[®] se compone de dos fases consecutivas [7, 13]:

1. Obtención de una ecografía del pulmón fetal (en un plano axial que permita la visualización de las cuatro cámaras cardíacas), la cual se almacena en formato DICOM (Digital Imaging and Communication In Medicine), lo que permite obtener la información clínica de la paciente y con ello la edad gestacional.
2. La información recabada es enviada a una aplicación web que consta de dos módulos. Uno extrae la información de la imagen y la combina para seleccionar las características de la textura pulmonar fetal. El segundo módulo, es un algoritmo de clasificación que junta las características anteriores con la edad gestacional y estima el riesgo de morbilidad respiratoria neonatal.

Cabe destacar, que este software no determina como tal la madurez pulmonar fetal de manera directa, sino que estima la probabilidad de MRN. Aunado a esto, la MRN no se limita solo a partos muy prematuros, ya que su probabilidad sigue siendo alta entre los prematuros tardíos y los nacidos antes de las 39 semanas de gestación [13, 42]. Por lo que, si bien el estado de madurez es un fuerte indicador de MRN, existen casos en los que los recién nacidos presentan una madurez pulmonar normal in útero, pero aun así sufren trastornos respiratorios [41].

En la Tabla.1.1⁷ se presenta una tabla comparativa de la fiabilidad de las pruebas que existen actualmente para la evaluación de la madurez pulmonar fetal, tanto en lo que respecta a técnicas invasivas como no invasivas.

| | Sensibilidad | Especificidad | PPV | NPV |
|----------------|--------------|---------------|--------|--------|
| Relación L/S | 74.6 % | 82.5 % | 34.1 % | 94.4 % |
| FG | 82.7 % | 54.4 % | 18.0 % | 96.3 % |
| Cuerpo lamelar | 84.2 % | 74.4 % | 27.9 % | 97.6 % |
| Quantus FLM | 71.0 % | 94.7 % | 67.9 % | 95.4 % |

Tabla 1.1: Tabla comparativa de las técnicas actuales para la evaluación de madurez pulmonar fetal, [46]. L/S : Lecitina/Esfingomielina, FG: Fosfatidilglicerol. PPV: Valores predictivos positivos, NPV: valores predictivos negativos.

⁷Sensibilidad [43]: Probabilidad de que un enfermo sea identificado correctamente por la prueba, es decir, que tenga una prueba positiva. Especificidad [44]: Indica la capacidad de la prueba para identificar como sanos (enfermos) a los que efectivamente lo son. PPV (valores predictivos positivos) [45]: Es la proporción de pacientes realmente diagnosticados como positivos con respecto a todos los que obtuvieron resultados positivos en las pruebas (incluidos los sujetos sanos que fueron diagnosticados incorrectamente como pacientes). Esta característica puede predecir la probabilidad de que alguien sea realmente paciente, en caso de que el resultado de la prueba sea positivo. NPV (valores predictivos negativos) [45]: Es la proporción de sujetos realmente diagnosticados como negativos con respecto a todos los que obtuvieron resultados negativos en las pruebas (incluidos los pacientes que fueron diagnosticados incorrectamente como sanos). Esta característica puede predecir la probabilidad de que alguien esté realmente sano, en caso de que el resultado de la prueba sea negativa.

1.4. Ultrasonido Cuantitativo

El ultrasonido cuantitativo tiene como objetivo complementar las evaluaciones realizadas con las imágenes en modo B, proporcionando estimaciones cuantitativas de parámetros acústicos [47].

Las imágenes en modo B se construyen a partir de los ecos detectados, generando una imagen de brillo en la cual cada punto de la imagen está asociado con la posición relativa de donde se originó el eco. Por otro lado, el brillo de la imagen se encuentra relacionado con la amplitud del eco recibido, es decir, a mayor amplitud, más brillante será la sección de la imagen [48].

A diferencia de las imágenes en modo B que proveen información cualitativa de la anatomía, el ultrasonido cuantitativo extrae las propiedades intrínsecas del tejido a partir de las interacciones de las ondas de ultrasonido que se propagan con la microestructura del tejido [49].

La técnica de ultrasonido cuantitativo proporciona información sobre propiedades que no son visibles en las imágenes de diagnóstico, a través de la estimación de propiedades acústicas las cuales pueden ser afectadas por aquellos procesos que modifican la estructura del tejido, ya sea debido a una patología o por el desarrollo intrínseco del tejido [49]. Con esto se busca aumentar la especificidad de los hallazgos obtenidos mediante las imágenes y mejorar el diagnóstico por ultrasonido [47, 50]. Por lo anterior, la evaluación de la madurez pulmonar fetal representa una opción relevante para el uso de esta técnica, dado que el desarrollo pulmonar conlleva una serie de cambios evolutivos de las estructuras y de la concentración de surfactante.

El ultrasonido cuantitativo ha permitido a lo largo de los últimos 50 años, realizar investigaciones con la finalidad de extraer información cuantitativa de las características del tejido [51], empleando una técnica no invasiva. Como ya se ha mencionado, esta se basa en la obtención de parámetros acústicos, los cuales se obtienen a partir de un análisis de las señales de radiofrecuencia (RF) retrodispersadas, que provienen de la interacción de la onda de ultrasonido con los dispersores del medio [52].

Las propiedades acústicas que se suelen determinar son: el coeficiente de atenuación, el coeficiente de retrodispersión (BSC o σ_b) y el diámetro efectivo del dispersor, entre otras. En el Capítulo 2, se presentarán las definiciones correspondientes para estas propiedades acústicas.

El ultrasonido cuantitativo se ha utilizado para diversos estudios, entre ellos se encuentran, la caracterización de tumores de mama, en donde se buscó conocer la atenuación específica, los coeficientes promedio de retrodispersión y el índice de heterogeneidad del diámetro efectivo del dispersor [53]. También se ha empleado para la cuantificación y detección del hígado graso y padecimientos renales [47]. En lo que respecta a madurez fetal se ha utilizado para evaluar la madurez fetal del hígado humano in vivo, en función de la edad gestacional, donde se observó un aparente aumento del coeficiente de atenuación con respecto a la edad gestacional [54].

En cuanto a estudios realizados para pulmón, en 1984 Meyer et al. [32], estimaron el coeficiente de atenuación y el tamaño promedio del dispersor en pulmones fetales de oveja in vivo, pero no lograron extraer conclusiones significativas, debido a que sólo analizaron datos

provenientes de ocho ovejas. Sin embargo, la tendencia de los datos que obtuvieron para la atenuación indicaban que existía una cierta probabilidad de una correlación entre la madurez funcional del pulmón y la atenuación. En 1990 Adler et al. [55], sugirieron un análisis cuantitativo del movimiento cardíaco transmitido al pulmón, pero concluyeron que la elasticidad pulmonar podría no ser lo suficientemente sensible como para permitir distinguir entre el pulmón maduro del inmaduro.

Por último, en 2001 Ossant et al. [21], buscaron evaluar si la maduración pulmonar en cordero podía predecirse mediante mediciones de parámetros acústicos sensibles a la microestructura del tejido, este estudio en comparación con el realizado por Meyer et al. fue ex vivo. En este estudio estimaron dos parámetros acústicos, los cuales fueron el coeficiente de retrodispersión y el tamaño del dispersor. Debido al número limitado de sujetos y de ROIs, no lograron llegar a una conclusión definitiva, sin embargo, determinaron varias características de la dispersión de las ondas de ultrasonido en el pulmón fetal, lo cual podría contribuir al uso de esta técnica como prueba clínica de la madurez del pulmón fetal.

La modalidad del ultrasonido cuantitativo abarca una amplia variedad de técnicas para obtener los parámetros acústicos del tejido, entre ellas se encuentran la parametrización basada en el espectro de las señales de ultrasonido, la técnica de elastografía tisular, la estimación del flujo mediante Doppler y la estadística de la envolvente⁸ de la señal de radiofrecuencia. Uno de los objetivos principales de estas técnicas es proporcionar parámetros que sean independientes del sistema y del operador [50]. Además de estas técnicas que proveen información cuantitativa del tejido a través de la evaluación de parámetros acústicos, también se tienen técnicas que analizan de manera cuantitativa la textura de las imágenes en modo B, como lo que plantea el software de quatusFLM[®].

Este trabajo se enfoca en la técnica basada en la parametrización del espectro o también denominada *Espectroscopía por Retrodispersión Ultrasónica* o ERU. Esta técnica permite cuantificar el coeficiente de atenuación y de retrodispersión, así como estimar las propiedades del dispersor (longitud efectiva y la densidad numérica de dispersores), esto a partir de la descomposición espectral de las señales de los ecos recibidos [50, 57].

⁸La envolvente corresponde a una curva que se emplea para representar los cambios en los valores máximos o mínimos de la señal con respecto al tiempo, [56].

1.5. Hipótesis y justificación

1.5.1. Hipótesis

Existe una correlación entre el coeficiente de retrodispersión y el tamaño de los dispersores con los que interactúa la onda de ultrasonido.

1.5.2. Justificación

La prematuridad y sus consecuencias son responsables de la mayoría de las muertes neonatales y de la morbilidad postnatal. En general, las complicaciones y las elevadas tasas de mortalidad se deben en parte a las dificultades respiratorias del recién nacido, por lo que poder realizar una evaluación precisa y específica de la madurez pulmonar del feto es esencial en los casos de complicaciones maternas o fetales.

Aunque actualmente ya existe una herramienta de detección no invasiva que utiliza el ultrasonido para evaluar la probabilidad MRN y de esta forma estimar la madurez pulmonar fetal, esta prueba no permite identificar el contenido específico de los tejidos, es decir, no brinda información acerca de la microestructura y composición del mismo. Aunado a esto, es necesario especificar la SDG para que el software elija que algoritmo utilizar. Además, esta prueba no estima de manera directa la madurez pulmonar sino que determina la posibilidad de MRN, el cual es un padecimiento que se puede presentar aun cuando el desarrollo del sistema respiratorio fue adecuado. Asimismo, al emplear imágenes en modo B, estas contienen una componente de post - procesamiento debido a los parámetros que selecciona el operador para la adquisición de las mismas. De igual forma, el patrón de moteado dependen del sistema que se emplea para la adquisición de los ecos. Por lo que una imagen en modo B es dependiente tanto del operador como del equipo.

Por lo anterior, en este proyecto se propone el desarrollo de una técnica que permita determinar de manera directa la madurez pulmonar fetal, y no de forma indirecta como puede realizarse con *quantusFLM*[®], esto a través de la evaluación de los cambios morfológicos que sufre el tejido pulmonar. Además, se plantea que dicha técnica no se base en el análisis de la textura de una imagen, sino en el análisis de las señales retrodispersadas (ERU) obtenidas directamente del equipo de ultrasonido. Dichas señales tienen la ventaja de proporcionar información directa acerca de la microestructura con la cual las ondas de ultrasonido interactuaron.

Para demostrar el valor clínico de la técnica de ERU para la cuantificación de las propiedades microestructurales de interés, que en nuestro caso son el tamaño, la densidad numérica de los sacos alveolares y el espesor de la pared alveolar de forma exacta y precisa, es necesario contar con un estándar de referencia de las características morfológicas del pulmón fetal. Por ello, el estudio que se propone consiste en validar la técnica de ERU ex vivo a través de la comparación de los valores estimados de las características morfológicas del pulmón con los obtenidos mediante un análisis histomorfológico por microscopía. Si bien, el planteamiento original era el estudio de esta técnica en tejido biológico, en este trabajo solo se abarcó el caso de un sistema con propiedades morfológicas similares al tejido pulmonar.

1.6. Objetivos y Metas

El objetivo general de este proyecto es validar que la técnica de ERU es capaz de cuantificar las propiedades microestructurales de interés para el pulmón fetal, es decir, el tamaño y la densidad numérica de los sacos alveolares, así como el espesor de la pared alveolar, de forma exacta y precisa. Para llevar a acabo el objetivo general se plantean los siguientes objetivos específicos:

- 1.- Estimar el espectro de potencia de las señales recibidas por el transductor, empleando un método multitaper [58], con la finalidad de disminuir los componentes de ruido en la señal.
- 2.- Emplear el método de maniquí de referencia [59] (Sección. 4.2.2) para calcular el espectro de potencia normalizado y con en base en él, estimar parámetros acústicos que sean independientes del sistema de adquisición.
- 3.- Utilizar el software ALGEBRA [60] (Sección. 4.2.4), para estimar el espectro del coeficiente de retrodispersión, corregido por efectos de atenuación.
- 4.- Aplicar el método de Lizzi et al.[61] (Sección. 4.2.5) para la estimación del tamaño de los dispersores, a partir del espectro del coeficiente de retrodispersión.
- 5.- Diseñar un estándar de referencia del las características estructurales (tamaño) estimadas por ultrasonido, empleando una técnica independiente como la de microscopía.
- 6.- Evaluar el sesgo de las estimaciones realizadas con ultrasonido, mediante la comparación con los resultados obtenidos con la técnica de microscopía electrónica.

Este estudio parte del análisis de las características de un maniquí con morfología similar al pulmón, previok a la implementación de las técnicas en un tejido biológico. Esto con la finalidad de verificar que el procedimiento a seguir para el análisis de las señales de radiofrecuencia permite obtener información sobre el coeficiente de atenuación, retrodispersión, el tamaño y la densidad numérica de los dispersores. En lo que respecta a las muestras biológicas su análisis está incluido en el protocolo de investigación: *Caracterización cuantitativa de la microestructura pulmonar fetal a través de la espectroscopía por retrodispersión ultrasónica: Estudio piloto*", aprobado por el comité de ética e investigación del Instituto Nacional de Perinatología (INPer) con número de registro 2022-1-31.

1.7. Estructura del trabajo

En este trabajo se presentan las bases para el desarrollo de una nueva técnica basada en ultrasonido cuantitativo que permita determinar la madurez pulmonar fetal, mediante la evaluación de los cambios morfológicos que sufre el tejido a lo largo de su desarrollo prenatal, lo cual forma parte de una prueba de concepto.

El desarrollo de esta técnica involucra diferentes etapas, así como la evaluación de distintas características morfológicas del tejido. En lo que respecta a las etapas: la primera fase consiste en el análisis de un maniquí con una morfología similar al tejido pulmonar, seguido de la caracterización del tejido pulmonar en un modelo animal, para finalmente, realizar una caracterización de tejido pulmonar fetal. Por otro lado, los elementos morfológicos que se desean determinar son el tamaño de los alvéolos, su densidad numérica y espesor de la pared alveolar.

De todo lo mencionado anteriormente, en este trabajo solo se abarca la primera fase, relacionada con la caracterización de un maniquí con morfología similar al pulmón, aunado a esto, únicamente se presenta el procedimiento que se debe seguir para la estimación del tamaño de las estructuras.

Con base en lo anterior, esta tesis se compone de los siguientes capítulos. En el Capítulo 2 se presentan los conceptos básicos relacionados con el fenómeno de dispersión y la estimación del coeficiente de retrodispersión. En el Capítulo 3 se presentan las características del maniquí tejido equivalente seleccionado. De igual forma, en dicho capítulo se presenta el procedimiento que se siguió para el análisis del maniquí mediante la técnica de microscopía. En el Capítulo 4 se plantea el procedimiento realizado para la caracterización ultrasónica del maniquí con morfología similar al pulmón. Finalmente, en el Capítulo 5 se plasman los resultados y la discusión de los datos obtenidos.

Retrodispersión acústica

En ultrasonido, las imágenes en modo B se obtienen a partir del análisis de la envolvente de las señales de radiofrecuencia, que son los ecos detectados [62]. Mientras que los ecos se producen debido a la interacción de las ondas de ultrasonido con el medio de interés, lo que da pie a que ocurran fenómenos de atenuación y dispersión, que dependen de las propiedades mecánicas de los diferentes tejidos con los que interactuó la onda incidente.

Un aspecto relevante acerca de los ecos que son detectados es su dependencia con la frecuencia [62, 63], la cual guarda una estrecha relación con los dispersores con los que interactuó la onda en el medio. Sin embargo, la información sobre esta relación se elimina durante el procesamiento para el despliegue de las imágenes en modo B [62]. En cambio, si se obtiene la transformada de Fourier de las señales de RF previo a la generación de imágenes diagnósticas, es posible relacionar la dependencia con la frecuencia con las propiedades estructurales del tejido [63]. A las señales de RF que no se han procesado se les conoce como señales crudas y estas serán con las que se trabajará a lo largo de este proyecto, Fig.2.1.

Actualmente, existen técnicas que permiten caracterizar los tejidos biológicos mediante el análisis espectral de las señales de RF. Sin embargo, para utilizar estas señales es necesario realizar una corrección debido a las interacciones de las ondas de ultrasonido con el transductor, ya que esto genera una contribución de ruido en los ecos recibidos. El ruido corresponde a variaciones aleatorias en las señales debido a varios mecanismos, por ejemplo, el ruido electrónico. A partir del análisis de la dependencia con la frecuencia, es posible conocer dos de las principales propiedades acústicas del tejido, la primera de ellas es la atenuación de las ondas en el medio y la segunda es la retrodispersión, ambos conceptos se definirán más adelante. Esta última característica permite estimar el tamaño efectivo de los dispersores [64].

La estimación del tamaño efectivo de los dispersores a partir de la información de las señales retrodispersadas, se ha estudiado para caracterizar diferentes patologías, por ejemplo, Lizzi et al. 1983 [65]; 1997 [66] estimaron las características de tumores oculares, mientras que Insana et al. 1995 [67] caracterizaron los cambios estructurales en el riñón.

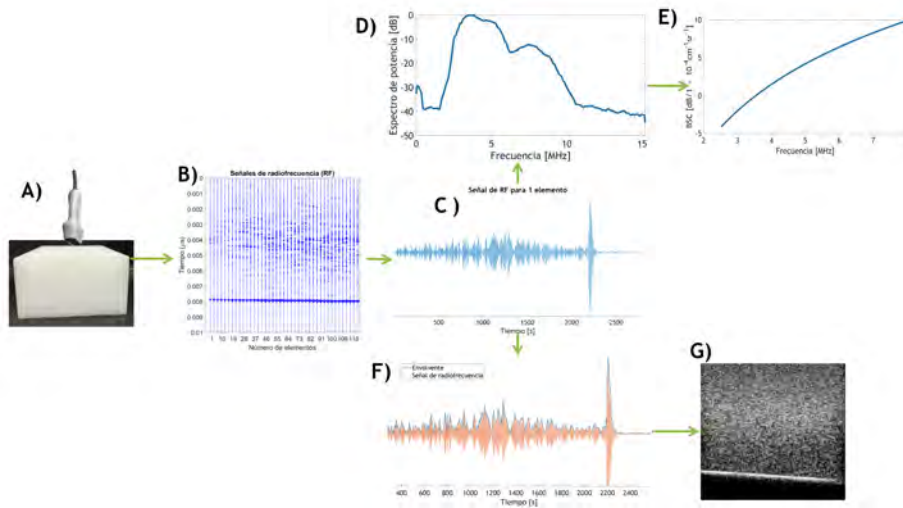


Fig. 2.1: **A)** Adquisición de los ecos generados por la interacción de las ondas de ultrasonido con un medio de interés (esponja). **B)** Ecos, señales de radiofrecuencia (RF) o señales crudas adquiridas por cada uno de los elementos piezoeléctricos del transductor utilizado. **C)** Señal de RF recibida por uno de los elementos piezoeléctricos. Al obtener el espectro de potencia de las señales de RF **D)** (transformada de Fourier) es posible caracterizar las propiedades estructurales del tejido, esto a través de la estimación de las propiedades acústica del medio, por ejemplo, el coeficiente de retrodispersión **E)**. Por otro lado, al analizar la envolvente **F)** de las señales de RF se construyen las imágenes en modo B **G)**.

2.1. Dispersión

Cuando una onda se propaga en un medio no homogéneo como en el caso de los tejidos biológicos, se presentan dos fenómenos importantes, absorción y dispersión, los cuales se asocian con la pérdida de energía acústica de la onda, la combinación de ambos se denomina atenuación.

La absorción consiste en la transformación de la energía acústica en otro tipo de energía como puede ser calor, energía química o luz [28]. La dispersión consiste en un cambio en la dirección de la energía. La cantidad de energía que se dispersa en una dirección en particular va a depender tanto de las características del dispersor como de la onda incidente, entre ellos se encuentran: la forma, el tamaño y la orientación del dispersor, la longitud de onda y la dirección de propagación inicial [62].

Este fenómeno se puede clasificar a partir de la relación que existe entre la dimensión más grande del dispersor (b) y la longitud de la onda incidente (λ), de donde se obtiene la siguiente clasificación:

- Si $b \ll \lambda$, se tiene dispersión de Rayleigh, en dicho caso, la energía acústica incidente se dispersará en todas las direcciones, y presenta una dependencia con la frecuencia, f^4 [68].
- Si $b \approx \lambda$, se observan efectos tanto de refracción como de difracción [69].
- Si $b \gtrsim \lambda$, se tiene dispersión de Mie, por lo que la energía acústica se dispersa preferentemente en la dirección de la onda incidente.

- Si $b \gg \lambda$, se presenta un efecto de reflexión especular, de modo que la energía se dispersa preferentemente en dirección contraria a la de la onda incidente, y se tiene que la dispersión es independiente de la frecuencia [68, 69].

2.1.1. Coeficiente de retrodispersión

Cuando se habla del fenómeno de dispersión es útil definir ciertos parámetros, esto bajo la suposición de que la onda incidente es armónica y plana, los cuales son: la sección eficaz total (σ_t), la sección eficaz de dispersión σ_s y la sección eficaz diferencial de dispersión σ_d . Estas se definen de la siguiente forma [70],

$$\sigma_t = \frac{\overline{W}_t}{\overline{I}} \quad [\text{cm}^2], \quad (2.1)$$

donde \overline{W}_t , es la potencia total (absorbida más dispersada), mientras que \overline{I} , es la intensidad incidente. La barra en la parte superior de los términos de potencia e intensidad representa que son cantidades promediadas en el tiempo, esta notación se utilizará en las subsecuentes definiciones.

Siguiendo el mismo principio, la sección eficaz de dispersión, se define como [70, 71],

$$\sigma_s = \frac{\overline{W}_s}{\overline{I}} \quad [\text{cm}^2], \quad (2.2)$$

donde \overline{W}_s es la potencia total dispersada.

La sección eficaz diferencial de dispersión, se refiere a la potencia dispersada en una cierta dirección angular [70],

$$\sigma_d(\theta, \phi) = \frac{d\overline{W}_s(\theta, \phi)}{d\Omega} \frac{1}{\overline{I}} = \frac{d\sigma_s}{d\Omega} \quad [\text{cm}^2 \text{sr}^{-1}] \quad (2.3)$$

donde $\frac{d\overline{W}_s}{d\Omega}$ es la potencia dispersada en la dirección (θ, ϕ) por unidad de ángulo sólido, Fig.2.2.

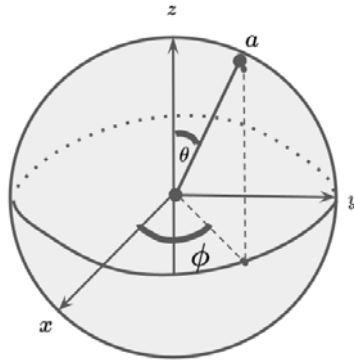


Fig. 2.2: Dado un dispersión situado en el origen de coordenadas, a corresponde al punto donde se desea conocer la sección eficaz diferencia de dispersión, es decir, $\sigma_d(\theta, \phi)$.

2. RETRODISPERSIÓN ACÚSTICA

A partir de la sección eficaz diferencial de dispersión, se obtiene uno de los parámetros más relevantes para caracterizar a los tejidos, el coeficiente de retrodispersión o por sus siglas en inglés BSC, el cual corresponde a,

$$\sigma_b = \sigma_d(\pi, 0), \quad (2.4)$$

es decir, se define como la sección eficaz diferencial de dispersión medida a 180° respecto de la dirección de la onda incidente y cuyas unidades son $\text{cm}^2\text{sr}^{-1}$ ¹, aunque también se puede expresar por unidad de volumen de dispersión² obteniendo en dicho caso las siguientes unidades $\text{cm}^{-1}\text{sr}^{-1}$ [72]. Esta propiedad acústica permite cuantificar la señal retrodispersada.

El coeficiente de retrodispersión se puede expresar en términos de la presión incidente y dispersada de la siguiente forma:

$$\sigma_b = \frac{|P_s(\pi)|^2}{|P_{inc}|^2} r^2 \quad [\text{cm}^2 \text{sr}^{-1}], \quad (2.5)$$

donde r es la distancia al punto de observación en el cual se busca conocer la presión retrodispersada. Lo anterior es válido si se considera que la intensidad es constante sobre el área de integración por lo que la potencia se puede definir como [73],

$$W = IA \longrightarrow dW = IdA, \quad (2.6)$$

donde dA es el diferencial de área en el cual se busca estimar la potencia. Al sustituir en (2.3) el diferencial de área en coordenadas esféricas $dA = r^2 \sin \theta d\theta d\phi$ y el diferencial de ángulo sólido $d\Omega = \sin \theta d\theta d\phi$, se obtiene que,

$$\sigma_d = \frac{\bar{I}_s r^2 \sin \theta d\theta d\phi}{\bar{I} \sin \theta d\theta d\phi}. \quad (2.7)$$

Finalmente, la intensidad promediada en el tiempo guarda la siguiente relación con la presión [28, 74],

$$\bar{I} = \frac{1}{2} \frac{|P|^2}{\rho c}, \quad (2.8)$$

por lo que al sustituir (2.8) en (2.7), se obtiene la expresión (2.5).

El coeficiente de retrodispersión es fundamental en el ámbito del ultrasonido cuantitativo, ya que ha permitido caracterizar con éxito aspectos relacionados con la microestructura de los tejidos. Este parámetro ha sido calculado para diferentes órganos y tejidos como el ocular [63], el hígado [75], el páncreas [76], el bazo [76], el tejido renal [77] y los ganglios linfáticos [78]. La estimación del coeficiente de retrodispersión en algunos casos ha brindado la posibilidad de distinguir entre tejidos neoplásicos y sanos debido a su dependencia con la frecuencia [79]. Lo anterior se ha logrado debido a que el BSC tiene una dependencia con la frecuencia que permite

¹sr = estereorradián

²La definición del volumen de dispersión se presenta en la Sección. 4.2.5.

2.1 Dispersión

caracterizar a los dispersores (densidad numérica, forma y tamaño) [63]. En la Fig.2.3, se plasma cómo el coeficiente de retrodispersión varía con la frecuencia para el caso de un dispersor esférico.

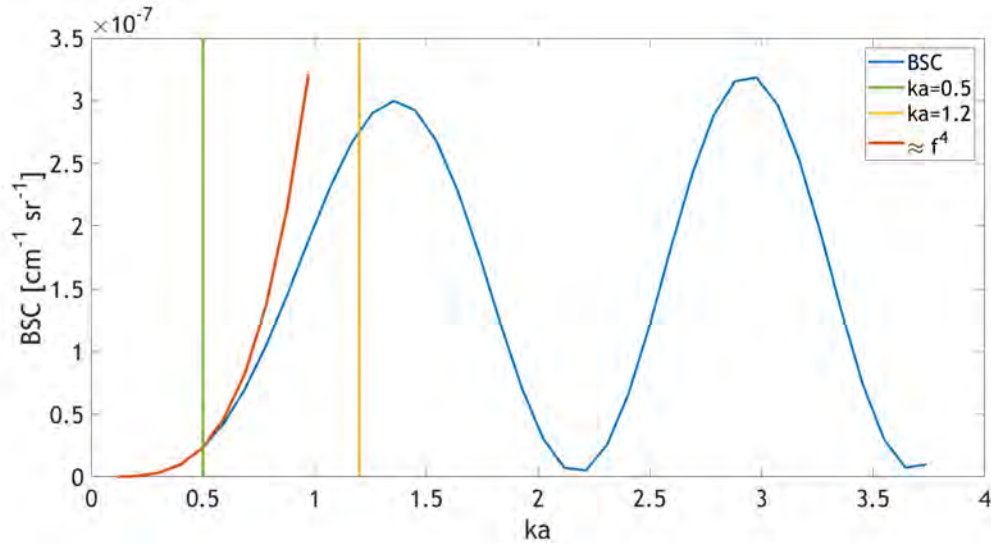


Fig. 2.3: Coeficiente de retrodispersión (BSC) para un dispersor esférico de agua inmerso en placenta con un radio de $46.79 \mu\text{m}$ para frecuencias entre 0.6 MHz y 20 MHz. ka se conoce como frecuencia adimensional y es el producto del número de onda de la onda incidente ($k = 2\pi f/c$) por el radio del dispersor (a).

La dependencia con la frecuencia toma relevancia cuando se desea estimar el tamaño de dispersores esféricos a partir del BSC. En un estudio realizado por Insana et al. [80], se determinaron los siguientes intervalos para la estimación del tamaño de los dispersores esféricos (Fig.2.3).

- Si $ka < 0.5$, se tiene el régimen de dispersión de Rayleigh. En el cual, no es posible relacionar los cambios en la estimación espectral con la estructura del dispersor [80]. Esto debido a que sin importar el tamaño del dispersor la dependencia en frecuencia va como f^4 .
- Si $0.5 < ka < 1.2$, se obtienen las mediciones más exactas del tamaño del dispersor. Debido a que en este rango, dicho parámetro es el principal factor que determina la dependencia de la frecuencia con el coeficiente de retrodispersión [80, 81].
- Si $1.2 < ka$, se tiene el régimen de dispersión de Mie. En este rango, las propiedades del medio distintas del tamaño del dispersor, son las que modifican el espectro de retrodispersión, por lo que no es conveniente determinar el tamaño de los dispersores para estos valores de ka , ya que sería necesario tener bien caracterizado el medio, lo cual no es posible en muchos tejidos biológicos [80].

Para estimar el coeficiente de retrodispersión a partir de las señales de radiofrecuencia, la señal registrada debe corregirse por el patrón de difracción del transductor [82] y la función de transferencia del sistema, esto con la finalidad de obtener un parámetro que sea independiente del sistema de adquisición y que por lo tanto, solo contenga información del medio que se está

2. RETRODISPERSIÓN ACÚSTICA

analizando [63]. Aunado a esto, es necesario compensar por la pérdida de energía del pulso al viajar por el medio de interés, es decir, por la atenuación [83].

Los pasos más comunes que se siguen para la estimación del BSC (Fig. 2.4), son [63]:

- 1.- Adquirir las señales de RF del medio de interés,
- 2.- Calcular el espectro de potencia de la señal recibida empleando la transformada de Fourier,
- 3.- Estimar el espectro de potencia normalizado,
- 4.- Compensar por los efectos de atenuación y difracción.

Cada uno de los pasos previamente presentados se explicarán a mayor detalle en el Capítulo 4.

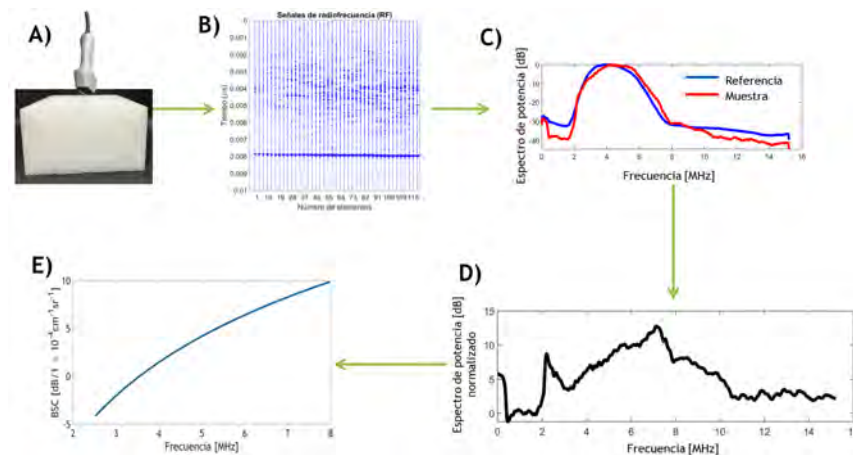


Fig. 2.4: Metodología para la estimación del BSC. **A)** Adquisición de los ecos generados por la interacción de las ondas de ultrasonido con un medio de interés (esponja). **B)** Señales de radiofrecuencia (RF) adquiridas por cada uno de los elementos piezoeléctricos del transductor utilizado. **C)** Espectro de potencia de la muestra (rojo) y del maniquí de referencia (azul). **D)** Espectro de potencia normalizado. **E)** Espectro del coeficiente de retrodispersión de la muestra compensado por efectos de atenuación.

2.1.2. Solución al problema de dispersión

Conocer el campo de presión dispersada por un medio biológico es un problema complejo, debido a que la estructura de éste también lo es. Una primera aproximación para estudiar la dispersión de ondas de ultrasonido en medios biológicos, es simular las estructuras de interés dentro del tejido mediante figuras geométricas simples, por ejemplo, cilindros y esferas. Otra consideración que se realiza para simplificar el problema es considerar que las ondas que inciden sobre los dispersores son armónicas y planas [70], con esta suposición se ignoran cualquier modificación que pueda tener la forma de la onda debido al fenómeno de difracción, generado por la geometría del transductor. Aunado a esto, otra de las principales simplificaciones que se consideran al modelar el fenómeno de dispersión es que la distribución espacial de dispersores es aleatoria, por lo que se tiene una dispersión incoherente, así como la aproximación de Born o de dispersión leve, en la cual se considera que la dispersión múltiple es despreciable [62].

Existen principalmente dos métodos, que permiten determinar la presión dispersada debido a la falta de homogeneidad en el medio, estos son, el método de Green [73] y el método de condiciones a la frontera [70], siendo este último el que se utilizó para este trabajo y el que se describe a continuación.

El método de condiciones a la frontera, parte de la suposición de que la ecuación de onda para un medio homogéneo es válida dentro y fuera del dispersor. Por lo que se busca encontrar la solución para esta ecuación a partir de las condiciones a la frontera para la superficie del dispersor. Este método es de utilidad cuando se conocen las características del dispersor y éste tiene una geometría simple.

En la Fig.2.5 se muestra el sistema para el cual se busca determinar el campo de presión dispersada, donde se tiene que la onda incidente es una onda armónica y plana, y \vec{r} indica el punto de observación en que se desea conocer el campo.

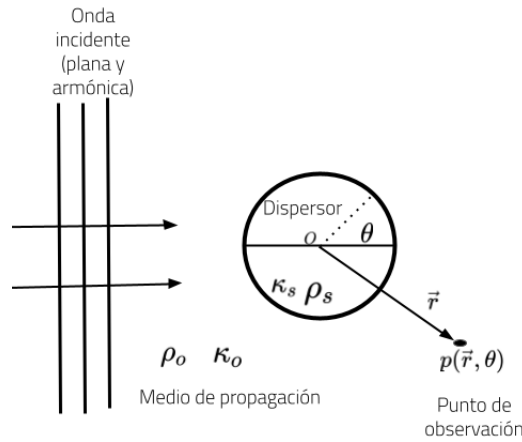


Fig. 2.5: Sistema de dispersión, donde ρ_o y κ_o corresponden a la densidad y compresibilidad del medio de propagación y ρ_s y κ_s , son la densidad y compresibilidad del dispersor.

Esfera fluida en un medio fluido

Para comenzar con la deducción de la solución al problema de dispersión primero es necesario definir qué es un fluido. Un fluido es aquel material que en su estado de reposo no presenta resistencia alguna ante esfuerzos cortantes, debido a ello su módulo de corte es cero, $G = 0$. Entre los fluidos se encuentran los líquidos, gases y plasmas, y la diferencia principal entre ellos radica en el valor de compresibilidad que presentan [28, 84].

El sistema que nos interesa resolver para este proyecto es el de una esfera fluida en un medio fluido. La geometría de dicho sistema se seleccionó con base en la suposición de que la forma de los alvéolos puede aproximarse a una geometría esférica. En cuanto a la elección de que la esfera sea fluida, esto se debe a que durante la etapa fetal, los alvéolos se encuentran llenos de líquido. Por otro lado, la razón por la cual se considera que el medio circundante también es un fluido se debe a que los tejidos blandos como el pulmón, se pueden modelar como fluidos para las frecuencias empleadas en ultrasonido diagnóstico [29, 73]. Lo anterior está relacionado con el hecho de que los tejidos tienen un alto contenido de agua, por lo que se realiza la aproximación

2. RETRODISPERSIÓN ACÚSTICA

de que las ondas que se propagan en ellos son las mismas que se transmiten en los fluidos, es decir, ondas longitudinales [29, 85].

Dado que el tejido blando se puede simular como un fluido, estos tiene la característica de solo propagar ondas de tipo longitudinal. Esto se debe a que las ondas de corte se propagan de forma lenta en los tejidos blandos aproximadamente entre 1 - 10 m/s, por lo que estas se atenúan rápidamente, y su distancia de propagación es menor a decenas de milímetros [86]. Sin embargo, en tejidos biológicos de mayor densidad, por ejemplo, el hueso [85], es necesario considerar la contribución de las ondas de corte.

Otra suposición relevante que se debe realizar para calcular la presión dispersada, es que la contribución de la dispersión múltiple es despreciable, por lo que se puede considerar a los tejidos blandos como un medio de dispersión débil [73], lo cual permite utilizar la aproximación de Born. En el caso del pulmón fetal, se espera que se cumpla la aproximación de Born, dado que las impedancias acústicas del tejido pulmonar y el agua son similares, 1.53 MRayl³ y 1.48 MRayl, respectivamente. La impedancia acústica se refiere a la resistencia que pone el medio a que una onda se propague. Puesto que las impedancias son cercanas, el fenómeno de dispersión será débil, dado que la mayor parte de la onda se transmitirá y no será redirigida en otras direcciones.

Cuando se tiene un fluido homogéneo, isotrópico y no viscoso, la ecuación de onda que permite modelar el fenómeno de propagación de una perturbación acústica en este tipo de medio, está descrita por la siguiente expresión:

$$\nabla^2 P = \frac{1}{c_0^2} \frac{\partial^2 P}{\partial t^2}, \quad (2.9)$$

donde P es la presión y c_0 es la velocidad de propagación del sonido en el fluido. Esta ecuación es válida dentro de una aproximación lineal.

El campo de presión en una cierta posición \vec{r} , es la suma tanto de la presión incidente P_{inc} como de la dispersada P_s , es decir [70],

$$P(\vec{r}, t) = P_{\text{inc}}(\vec{r}, t) + P_s(\vec{r}, t). \quad (2.10)$$

En lo que respecta a la onda incidente, ésta debe cumplir con ser armónica y plana. Por la simetría del problema conviene expresar esta onda en coordenadas esféricas, suponiendo simetría azimutal ⁴:

$$P_{\text{inc}}(\vec{r}, t) = e^{i\vec{k}_o \cdot \vec{r}} = P_o \sum_{n=0}^{\infty} (2n+1) i^n P_n(\cos \theta) j_n(k_o r), \quad (2.11)$$

donde P_o es la magnitud de la presión incidente, j_n es la función esférica de Bessel de primera

³Este valor se obtuvo considerando que el tejido pulmonar tiene características similares a la placenta. Los valores de densidad y velocidad del sonido utilizados para estimar la impedancia del tejido y del agua se encuentran en la Tabla. 4.2.

⁴En el siguiente desarrollo se omitirá la parte temporal, sin embargo, esta forma parte de la solución, $e^{-2i\pi\omega t}$.

especie y orden n , k_o es el número de onda para la onda que se propaga en el medio circundante a la esfera y $P_n(\cos \theta)$, es el polinomio de Legendre para $\cos \theta$.

Para obtener la expresión para la presión dispersada se debe resolver la ecuación de onda (2.9) en coordenadas esféricas, debido a la geometría del sistema. Sin embargo, se deben realizar algunas consideraciones adicionales:

- 1.- El centro del sistema de coordenadas se encuentra en el centro de la esfera,
- 2.- Debido a la simetría del problema el campo de presión en cualquier punto del espacio es independiente de la componente azimutal ϕ .

A partir de las consideraciones anteriores, se obtiene la siguiente expresión para la presión dispersada:

$$P_s(\vec{r}) = \sum_{n=0}^{\infty} A_n (2n+1) i^n h_n^{(1)}(k_o r) P_n(\cos \theta), \quad (2.12)$$

donde A_n es un coeficiente cuyo valor se determina mediante el método de condiciones a la frontera; $h_n^{(1)}$ corresponde a la función esférica de Hankel de primera especie y orden n .

Para emplear el método de condiciones a la frontera, también es necesario conocer cómo es la presión dentro del dispersor, P_t , la cual se obtiene de forma análoga a la presión dispersada. Sin embargo, en este caso no se usa la función de Hankel, sino solo la función esférica de Bessel de primera especie, puesto que la función de Bessel de segunda especie, $Y_n(kr)$, no está definida en el centro del sistema. Por ello, la solución tiene la siguiente forma:

$$P_t(\vec{r}) = \sum_{n=0}^{\infty} B_n (2n+1) i^n j_n(kr) P_n(\cos \theta), \quad (2.13)$$

donde B_n es un coeficiente que se obtiene por medio del método de condiciones a la frontera, y k es el número de onda para la onda que se propaga en el material de la esfera.

Las condiciones a la frontera que se deben cumplir para determinar los coeficientes A_n y B_n , son las siguientes:

- a) Continuidad de la presión, la cual asegura que no se tiene fuentes en la frontera de los medios,

$$P_{inc}(k_o a) + P_s(k_o a) = P_t(ka), \quad (2.14)$$

donde a es el radio del dispersor.

- b) Continuidad en las componentes de la velocidad⁵ a ambos lados de la interfaz, con lo

⁵La componente de velocidad se puede expresar en términos de la presión a partir de la siguiente expresión $v_r = (i\rho/\omega)\partial p/\partial r$, [70].

cual se asegura que existe contacto entre el medio y la esfera,

$$v_{r,\text{inc}}(k_o a) + v_{r,s}(k_o a) = v_{r,t}(ka). \quad (2.15)$$

Solo se considera la componente radial del vector de velocidad, debido a que las ondas en un fluido no tienen componente transversal, puesto que solo se propagan ondas longitudinales.

Al resolver el sistema de ecuaciones planteado por (2.14) y (2.15), se obtiene que [70],

$$A_n = \frac{\rho c j_n(ka) j_n'(k_o a) - \rho_o c_o j_n(k_o a) j_n'(ka)}{\rho_o c_o h_n^{(1)}(k_o a) j_n'(ka) - \rho c j_n(ka) h_n^{(1)'}(k_o a)}, \quad (2.16)$$

donde ρ y c , son la densidad y velocidad del sonido en la esfera, mientras que ρ_o y c_o son la densidad y velocidad del sonido en el medio circundante al dispersor. Mientras que, j_n' y $h_n^{(1)'}$, indican la primera derivada de la función esférica de Bessel y de Hankel, respectivamente.

Cuando el punto de observación cumple con la siguiente relación $kr \gg 1$, es decir, cuando se busca determinar la presión dispersada en campo lejano, la expresión (2.12), puede simplificarse de la siguiente forma ⁶:

$$P_s(r, \theta) \approx \frac{1}{k_o r} \sum_{n=0}^{\infty} A_n (2n+1) P_n(\cos \theta), \quad (2.17)$$

Es de interés realizar la aproximación a campo lejano, ya que en esta región del campo, las ondas se comportan como ondas planas, lo cual permite hacer uso de la expresión (2.8) [70], y finalmente, emplear (2.5) para el cálculo del coeficiente de retrodispersión.

Hasta aquí se ha planteado el camino que se debe seguir para estimar el coeficiente de retrodispersión cuando se conocen las características del medio donde se propagan las ondas de ultrasonido. Sin embargo, en la práctica lo que se busca es poder caracterizar al medio de interés a partir de conocer el coeficiente de retrodispersión, por ello, en el Capítulo 4 se presenta el método que se sigue para realizar dicha estimación.

2.2. Atenuación

De acuerdo con lo antes mencionado, uno de los principales factores que se deben tomar en consideración para una correcta estimación del BSC es la atenuación. La cual se define como la pérdida de energía acústica que el pulso experimenta conforme viaja en el medio [88], ya sea por fenómenos de absorción o dispersión.

Una de las razones por las cuales la técnica de ultrasonido cuantitativo que se basa en el coeficiente de retrodispersión ha tenido un uso limitado, es debido a que la atenuación es función

⁶Para obtener la expresión (2.17) se empleó una aproximación para la función de Hankel de acuerdo con (11.160a) de [87].

de la frecuencia a lo largo de la trayectoria, lo que no permite conocer de manera precisa la dependencia de la frecuencia con el coeficiente de retrodispersión [89].

El parámetro que permite cuantificar la pérdida de energía de la onda al recorrer cierta distancia dentro de un medio, se conoce como el coeficiente de atenuación α [88]. El cual corresponde a la fracción de amplitud que pierde el pulso de ultrasonido cuando atraviesa el medio y sus unidades son Nepers por centímetro (Np/cm) o también se puede expresar en decibeles por centímetro (dB/cm) [90]. Este factor es dependiente tanto de la frecuencia, como de la temperatura y se encuentra relacionado con la penetración del pulso en el medio [88].

En el caso de los tejidos biológicos, se ha encontrado que la dependencia con la frecuencia se aproxima como $\alpha(f,z) \approx \alpha_o f^m$, donde α_o se denomina atenuación específica y los valores que m puede tomar se encuentran entre 1 y 2 [70].

En general, se pueden tener tres tipos de coeficientes de atenuación, los cuales son: local (α_L), promedio (α_P) y total (α). El primero de ellos permite conocer la atenuación dentro de una región de interés [63] a una profundidad z . En el contexto de este trabajo, esta región se denominará región de estimación de parámetro o PER por sus siglas en inglés. Por otro lado, α_P se obtiene a partir del promedio de los valores de α_L de todos los tejidos que se encuentran entre el transductor y la PER en cuestión, a una profundidad z [52]. Finalmente, α se define como la atenuación promedio más la atenuación del eco en su trayecto de regreso al transductor [52].

2.3. Campo de presión incidente. Efectos de difracción.

Aunque en la solución teórica para el problema de dispersión, se realiza la suposición de incidir al medio con una onda plana, en la realidad esta no conserva esa forma. Debido a que las características del campo de presión incidente dependen tanto de las especificaciones del transductor que se emplee para su generación, como del medio en el cual se busca propagar las ondas acústicas. En lo que respecta al transductor, el campo de presión va a depender de la geometría de éste y de los parámetros de operación del equipo.

El campo de presión incidente, se calcula principalmente mediante dos métodos: el método analítico [70] y el del espectro angular [70]. En lo que respecta al primero de ellos, este consiste en resolver la ecuación de onda para las condiciones de frontera de la fuente, empleando la función de Green. Mientras que, el método del espectro angular se desarrolla en el espacio de Fourier, donde se busca conocer la función de transferencia de frecuencia espacial y a partir de ella, determinar el campo de presión incidente.

El campo de presión para un transductor enfocado se puede dividir en tres regiones de interés, el campo cercano o de Fresnel, la zona focal y el campo lejano o de Fraunhofer, Fig.2.6.

En la región de Fresnel, la amplitud del campo de presión no es constante, esto debido al fenómeno de difracción [48]. Esta región tiene la característica de tener un perfil de haz convergente y en la región de convergencia se produce el máximo de la presión de ultrasonido [30].

En lo que respecta a la zona de Fraunhofer, el campo de presión en el eje axial presenta

2. RETRODISPERSIÓN ACÚSTICA

un máximo, y posteriormente, disminuye conforme aumenta la distancia [48]. En esta región, contrario a lo que se aprecia en la zona de Fresnel, se tiene un perfil de haz divergente [30].

Finalmente, en la zona focal, es donde se tiene el menor volumen del campo de presión y la mayor intensidad de este. La razón de emplear un haz enfocado es que esto permite aumentar la resolución lateral de las estructuras que se pueden estudiar [30]. Es decir, una mayor resolución lateral, permitirá distinguir como dos objetos independientes a dos estructuras en la dirección lateral, cuya distancia sea igual o mayor al valor de la resolución.

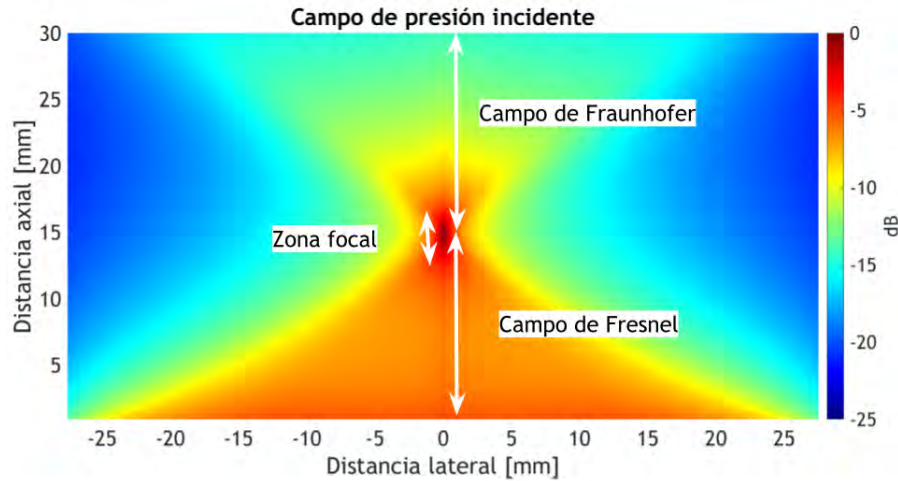


Fig. 2.6: Simulación del campo de presión incidente para un arreglo lineal de 192 elementos, a una frecuencia central de 6 MHz, y un foco de 15 mm.

Dado el campo de presión incidente, es posible determinar las dimensiones del volumen que cumplen con tener el campo de presión máximo y aproximadamente constante. Este se ubica en la zona focal, Fig.2.7, y puede calcularse a partir de conocer tres características del sistema, las cuales son:

- 1.- El ancho del haz en la dirección lateral (azimutal),
- 2.- La profundidad de foco (depth of focus),
 - La altura de los elementos piezoeléctricos.

2.3 Campo de presión incidente. Efectos de difracción.

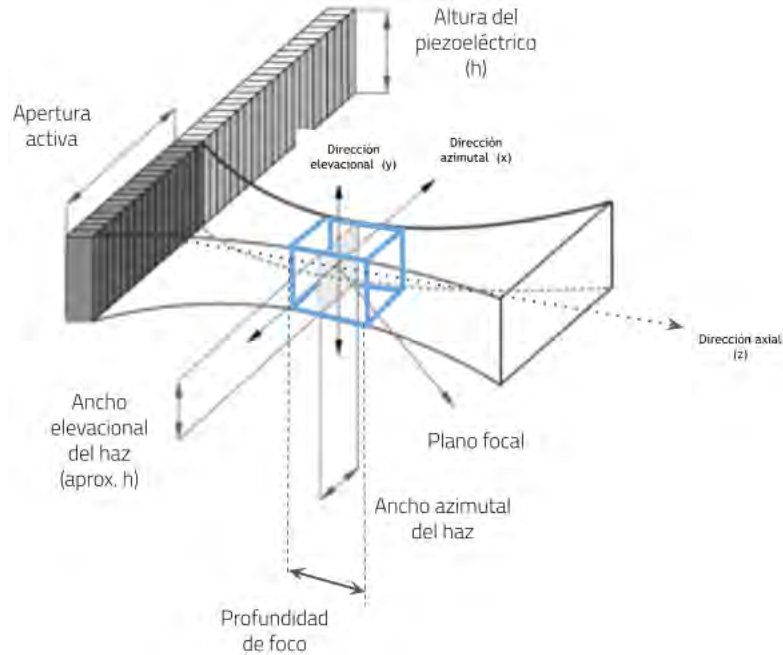


Fig. 2.7: Esquema de un haz generado por un transductor lineal, modificado de [91]. En azul se encuentra señalado el volumen donde el campo de presión es máximo y aproximadamente constante.

Ancho del haz en la dirección lateral. Se determina a partir de calcular el perfil del haz de ultrasonido a la profundidad en la cual se desea conocer este parámetro, esto debido a que la forma del haz cambia como función de la profundidad. Una vez que se conoce el perfil del haz, se debe estimar la anchura a media altura (FWHM) del lóbulo principal, dicho valor corresponderá al ancho del haz, Fig.2.8.

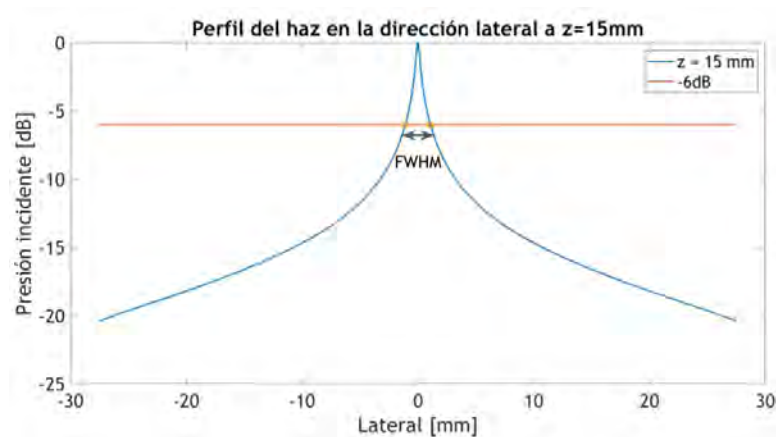


Fig. 2.8: Perfil del haz de ultrasonido en la dirección lateral, para un transductor lineal de 192 elementos, una frecuencia central de 6 MHz y un foco a 15 mm.

Este parámetro está relacionado con la apertura activa del transductor, por lo que a menor apertura más estrecho es el haz cerca de la superficie del transductor [92]. La apertura activa (AP) se define como la distancia en la dirección azimutal (lateral) que abarcan los elementos

2. RETRODISPERSIÓN ACÚSTICA

piezoeléctricos que se encuentran activos mientras se envía o se recibe un pulso de ultrasonido, la apertura activa de emisión y recepción pueden ser iguales o diferir. Esta se puede calcular a partir de la siguiente expresión:

$$AP = \text{pitch} \cdot (n - 1) \quad (2.18)$$

donde el 'pitch' se refiere a la distancia que hay entre los centros de dos cristales piezoeléctricos adyacentes, y n es el número de cristales piezoeléctricos que están activos.

La profundidad de foco es una medida de la distancia axial sobre la cual el haz de ultrasonido mantiene aproximadamente el mismo ancho que en el punto focal. Además, este parámetro está relacionado con la apertura activa del transductor, ya que a mayor apertura, conservando el mismo punto focal, menor será la profundidad de foco [28].

2.3 Campo de presión incidente. Efectos de difracción.

En este capítulo se plantearon los conceptos básicos para entender el fenómeno de dispersión. En los capítulos siguientes se describirán los pasos que se deben seguir para poder realizar una caracterización del medio de interés, que como primera fase del proyecto corresponde al análisis de un maniquí con una morfología similar al pulmón, que estará conformado por una esponja de melamina.

En la Fig.2.9 se presenta un esquema del rendimiento técnico que se plantea para la evaluación del tamaño de dispersores esféricos mediante ultrasonido utilizando un maniquí con morfología similar al tejido pulmonar (esponja), con miras a su implementación para la estimación del tamaño de los alvéolos. El método de referencia (Fig.2.9 ruta 1 [rosa]) que se utilizará será la técnica de microscopía electrónica, la cual permitirá obtener imágenes de la estructura de la esponja mediante un microscopio de barrido electrónico o SEM por sus siglas en inglés. A partir de las imágenes adquiridas, se analizará el tamaño de los poros para establecer el valor de referencia.

El proceso de caracterización por ultrasonido (Fig.2.9 ruta 2 [azul]) consistirá en la adquisición de las señales de radiofrecuencia provenientes de los ecos generados en la esponja. Estas señales serán procesadas, comenzando por el cálculo del espectro de potencia, seguido de la estimación del coeficiente de retrodispersión (BSC). Posteriormente, empleando el BSC se estimará el tamaño promedio de los dispersores en la esponja. Finalmente, se evaluará el sesgo de las estimaciones realizadas mediante la técnica de ultrasonido.

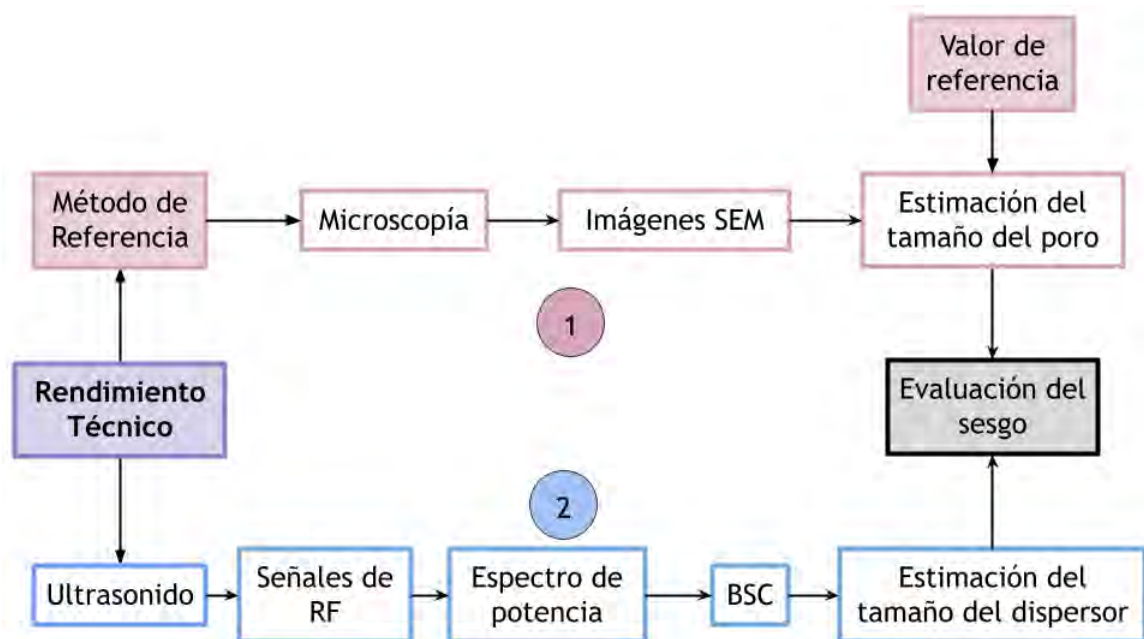


Fig. 2.9: Esquema del rendimiento técnico para la estimación del tamaño de los dispersores en un maniquí con morfología similar al tejido pulmonar (esponja) empleando la técnica de ultrasonido.

Maniquí de estudio

Como se ha mencionado anteriormente, el proyecto con el INPer abarca el análisis de tres distintos medios, en el siguiente orden:

- 1.- Maniquí con morfología similar al pulmón.
- 2.- Tejido pulmonar de modelo animal.
- 3.- Tejido pulmonar fetal.

En este capítulo se presentan las características del primero de ellos, así como el proceso que se siguió para su estudio mediante la técnica de microscopía. En el Apéndice. [A.1](#) se describen los avances que se llevan respecto al modelo animal.

3.1. Maniquí de esponja

Un maniquí es un objeto diseñado con la finalidad de imitar las propiedades del tejido, éstas pueden ser propiedades física (estructurales), así como propiedades acústicas [93]. Como maniquí se decidió utilizar esponjas de melamina (melamina-formaldehído) comerciales marca Hakoo, con dimensiones de 10 cm × 6.5 cm × 3.5 cm y una densidad aparente de 8.79 kg/m³. Este material se seleccionó debido a que en otras investigaciones estas han permitido emular las características morfológicas del tejido pulmonar. Entre los estudios que han empleado esponjas para replicar las características morfológicas del pulmón se encuentra el de Zhou et al. (2018) [94], en el cual utilizaron esponjas con distintas cantidades de agua para simular las características del tejido pulmonar ante un caso de edema. Blüthgen et al. (2017) [95] emplearon maniqués a base de esponjas para enseñar y estudiar las líneas A y B que constituyen artefactos de reverberación presentes en las ecografías pulmonares.

En la Fig.3.1, se presenta una imagen de tejido pulmonar de adulto obtenida mediante microscopía óptica, así como una imagen de la esponja de melamina empleando microscopía electrónica. A través de flechas de color blanco se señalan algunos alvéolos (Fig.3.1a)), que corresponden a las estructuras de interés. Mientras que con flechas de color amarillo se señalan los poros de la esponja (Fig.3.1b)) con los cuales se busca emular la morfología de los alvéolos. A partir

3. MANIQUÍ DE ESTUDIO

de las imágenes mencionadas se puede apreciar que la estructura de la esponja permite replicar la estructura alveolar, por ello, dicho material nos permitió realizar una primera aproximación para su caracterización.

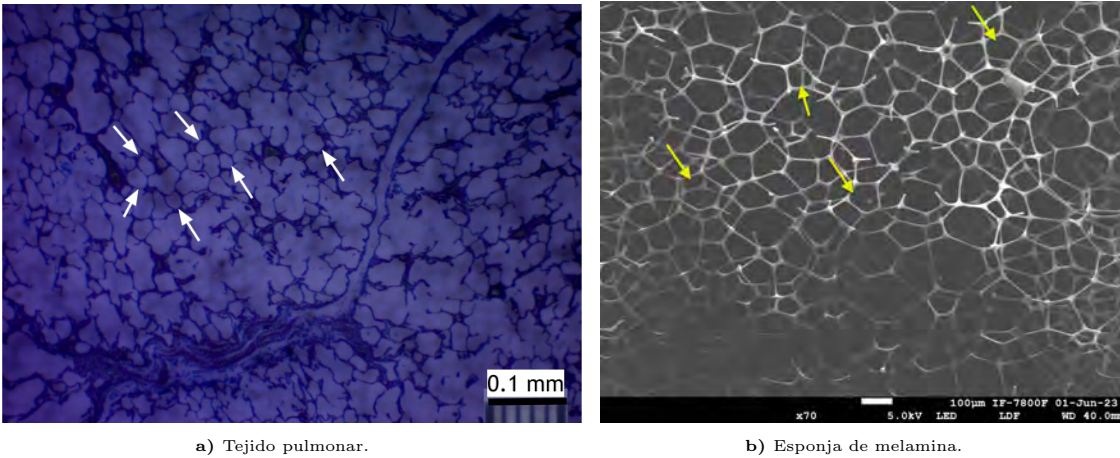


Fig. 3.1: Comparación de la estructura del tejido pulmonar y el maniquí de esponja. La imagen a) se adquirió mediante un microscopio óptico, su coloración morada se debe a la tincura que se emplea para la preparación de muestra biológicas. Las zonas con una mayor tinción corresponden a regiones donde había tejido biológico. Las flechas blancas señalan estructuras alveolares. En b) los poros se señalan con flechas amarillas. Para la adquisición de esta imagen se utilizó un microscopio de barrido electrónico (SEM), la preparación de esta muestra consistió en evaporar sobre ellas carbono. Las zonas donde se depositó el carbono se observan como regiones blancas en la imágenes y corresponden a la retícula de la esponja que forma los poros.

En el caso de este proyecto se emplearon esponjas de melamina inmersas completamente en agua desionizada (Fig.3.2) con la finalidad de replicar la estructura alveolar fetal, la cual se encuentra llena de líquido amniótico y no de aire, como ocurre después del nacimiento. En la Tabla.3.1, se presentan los valores de la densidad y la velocidad del sonido para el agua y el líquido amniótico, con lo cual se muestra que existe una buena aproximación a las propiedades acústicas y físicas del fluido en el tejido pulmonar al llenar los poros de la esponjas con agua. Adicionalmente, en la base del recipiente donde se colocó la esponja, se situó un absorbente acústico (AptFlex F28, Acoustic Polymers Ltd), para evitar los ecos provenientes de la base del contenedor.

| | Agua | Líquido amniótico |
|-------------------------------|-------------|-------------------|
| Densidad [kg/m ³] | 998.2 [70] | 1008 [96, 97] |
| Velocidad del sonido [m/s] | 1482.4 [70] | 1534 [98] |

Tabla 3.1: Valores de densidad y velocidad del sonido para el agua y el líquido amniótico. La velocidad del sonido en agua se determinó a partir de la relación $\sqrt{\frac{1}{\kappa\rho}}$, κ es la compresibilidad adiabática [70]. La densidad el líquido amniótico corresponde a la media de los valores reportados en [96] y [97].



Fig. 3.2: Maniquí con morfología similar al pulmón.

3.2. Método de referencia

De acuerdo con lo presentado en la Fig.2.9, es necesario caracterizar el maniquí mediante una técnica independiente a la de ultrasonido. Esto con la finalidad de obtener un estándar de referencia con el cual comparar los resultados obtenidos a partir de esta técnica. En el caso de este trabajo se decidió adquirir imágenes de la esponja empleando microscopía electrónica y a partir de dichas imágenes se realizó un análisis del tamaño de los poros de la esponja.

Para la adquisición de las imágenes se realizaron algunos cortes de la esponja en seco, de modo que se obtuvieran laminillas. Dado que no se contaba con un microtomo para realizar cortes homogéneos de la esponjas, se hizo uso de una hoja de bisturí para realizar los cortes. Debido a ello no se obtuvieron muestras con un grosor homogéneo. Posteriormente, estas muestras se analizaron utilizando un microscopio de barrido electrónico o SEM por sus siglas en inglés. Dichas adquisiciones fueron realizadas por el técnico Samuel Tehuacanero Nuñez, en el Laboratorio Central de Microscopía del Instituto de Física de la UNAM. El equipo empleado corresponde a un microscopio de barrido electrónico de Ultra - Alta Resolución JSM - 7800F Schottky Field Emission Scanning Electron Microscope de la marca JEOL. Para la adquisición de las imágenes, dado que las muestras no era de un material conductor se evaporo sobre ellas carbono.

Los parámetros de adquisición empleados fueron los siguiente:

- Voltaje: 5.0 kV
- Magnificación: x70
- Distancia de trabajo: 40 mm
- Detector: LED (Lower Electron Detector)
- Tipo de electrones: secundarios

3. MANIQUÍ DE ESTUDIO

En total se adquirieron 10 imágenes mediante SEM de la esponja de melamina, Fig. 3.3a). Posteriormente, se empleó el software ImageJ [99] para realizar el análisis sobre el tamaño de los poros. Se seleccionó dicho software puesto que es de dominio público y se utiliza para el procesamiento de imágenes. Este software permite seleccionar regiones de interés (ROIs) de la imagen y brinda parámetros relacionados con dicha región de interés, Fig.3.3b).

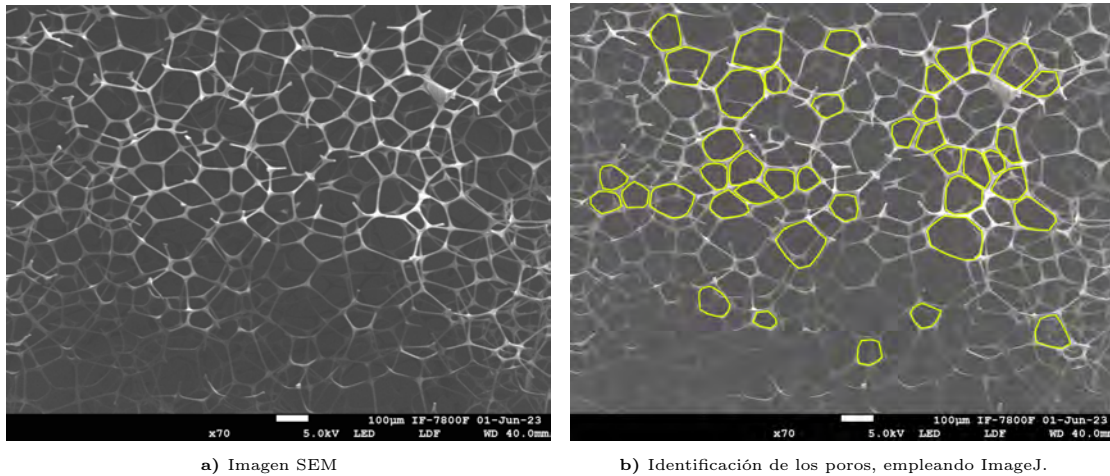


Fig. 3.3: Análisis del maniquí de esponja.

En el caso de este trabajo, lo que se hizo fue delimitar mediante una región de interés (ROI), la sección de la imagen que correspondía a la estructura de un poro, Fig.3.3b). Se consideró como poro a toda aquella estructura cerrada, cuyos bordes fueran continuos y bien definidos. Dicho proceso se realizó manualmente y la única consideración que se realizó para el contorno fue descartar todos aquellos poros que desde el punto de vista de la persona que estaba realizando la identificación, se encontraban en capas más profundas de la red que constituye a la esponja y no en la superficie. Esto debido a que las dimensiones de dichas estructuras no son las mismas que las de la capa superficial, ya que existe un efecto de profundidad. Dado que tal procedimiento depende del criterio de quien esté realizando la selección, se decidió realizar un análisis de variabilidad inter-operador, para ello se decidió que tres personas diferentes realizaran el proceso.

Una vez que se realizó la identificación de las estructuras, se estimó el área contenida en las ROIs seleccionadas, para ello, se hizo uso de la herramienta de medición que viene incluida en el software ImageJ. Para obtener el tamaño del poro a partir de la información anterior, se hizo la suposición de que los poros tienen una geometría esférica y que en promedio todos fueron divididos por la mitad. Lo anterior permite considerar que el área estimada corresponde a la de un círculo y determinar el radio efectivo (r) de los poros empleando la siguiente expresión, $A = \pi r^2$.

3.3. Valor de referencia

Para establecer el valor de referencia respecto del cual se evaluará el sesgo del tamaño de los poros estimado a través de ultrasonido se siguieron los siguientes pasos:

- 1.- Se calculó el valor promedio de los radios obtenidos al analizar las 10 imágenes adquiridas mediante SEM por cada persona.
- 2.- Se realizaron pruebas de hipótesis para conocer si las tres medias eran iguales. En caso de ser las mismas, se juntaron todos los datos de los radios obtenidos por cada individuo y se estimó la media. Por el contrario, si al menos uno era diferente, lo que se hizo fue obtener el promedio de las 3 medias calculadas.
- 3.- La media obtenida en el paso anterior fue la que se utilizó como valor de referencia, a_{ref} .

3.3.1. Pruebas de hipótesis

Se decidió realizar pruebas de hipótesis para conocer si las medias obtenidas por las personas que realizaron la identificación de los poros eran iguales o si existía una variabilidad inter-operador. Esto debido a que el proceso de selección de la ROI era manual, por lo que puede existir una dependencia respecto del operador al momento de delimitar el contorno de la estructura.

De acuerdo con la literatura [100, 101], hay dos pruebas que permiten determinar si existe una variación inter-operador, mediante la comparación de las medias obtenidas, las cuales son ANOVA y Kruskal-Wallis. A continuación, se presentan las características necesarias para dichas pruebas.

Cuando se desea aplicar ANOVA para la comparación de tres o más medias que provienen de muestras independientes, se requiere que las variables cumplan ciertos requisitos:

- La variable dependiente debe ser cuantitativa (tamaño del poro), mientras que la variable independiente es cualitativa o categórica (operador) [101].
- La distribución de las observaciones debe ser normal para cada uno de los grupos. [100].
- Debe existir homogeneidad de las varianzas [100].
- Las observaciones de cada uno de los grupos constituyen una muestra aleatoria y son independientes entre sí [100].

Sin embargo, en lo que respecta a la normalidad, ANOVA es un método robusto en el caso de que no se cumpla este requisito, siempre y cuando se tenga una muestra grande ($n > 30$) [101]. Por otro lado, la violación de la hipótesis de homogeneidad de las varianzas tampoco tiene gran trascendencia si el número de datos por grupo es grande y es similar (mayor/menor < 1.5) [100-102]. Finalmente, la violación de la independencia de las observaciones puede generar graves errores en las inferencias realizadas [100].

En el caso de que se tengan grupos con tamaños o varianzas que sean significativamente desiguales, se debe realizar una prueba no paramétrica como la de Kruskal-Wallis [101].

Para realizar la evaluación de los requerimientos de la prueba de ANOVA, se utilizaron los siguientes métodos:

3. MANIQUÍ DE ESTUDIO

- Normalidad. Si el número de datos es menor a 50 se empleó una prueba de Shapiro-Wilk [103]. En caso contrario, la prueba que aplicó fue la de Lilliefors [104-106]. Para esta evaluación las hipótesis que se plantearon son las siguientes:
 - H_0 : La distribución de los datos es normal
 - H_a : La distribución de los datos no es normal

Se eligió un nivel de confianza del 95 %, por lo que el nivel de significancia estadística es de $\alpha = 0.05$. Tomando en consideración lo anterior, si el valor de p (probabilidad condicionada) es menor que α ($p < 0.05$), se rechaza la hipótesis nula (H_0), por lo que los datos no siguen una distribución normal.

- Homogeneidad de las varianzas. Para esta evaluación se realizó la prueba de Leven, la cual tiene la ventaja de ser una prueba robusta en el caso de que no se tenga normalidad en los datos [102]. Las hipótesis de esta prueba son las siguientes:
 - H_0 : Los grupos tienen varianzas iguales
 - H_a : Los grupos tienen varianzas diferentes

De manera análoga a la prueba anterior, se tomó un nivel de confianza del 95 %, por lo que en caso de tener un valor de $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula, lo que implica que los grupos no tienen varianzas iguales.

Tanto para la prueba de ANOVA como para de Kruskal-Wallis, las hipótesis fueron las siguientes:

- H_0 : Las medias de los grupos son iguales ($\mu_1 = \mu_2 = \mu_3$)
- H_a : Al menos una media es diferente ($\mu_1 \neq \mu_2 = \mu_3$)

De igual forma, se seleccionó un nivel de confianza del 95 %. En el caso de que el valor de p fuera menor a 0.05, esto correspondería a rechazar la hipótesis nula, lo cual implica que al menos una de las medias es diferente. Sin embargo, dicho resultado no especifica cuál o cuáles son los grupos diferentes. Por lo que se debe realizar otra prueba, a este tipo de pruebas se les conoce como post-hoc o a *posteriori* [107].

Las pruebas post-hoc tienen la finalidad de comparar todos las medias entre si, es decir, establecen todas las comparaciones posibles por pares (dos a dos), para identificar diferencias significativas [107]. Sin embargo, dado que estas pruebas realizan múltiples comparaciones, esto genera que el error tipo I¹ aumente, por ello el nivel de riesgo inicial α debe ajustarse [108]. Existen diversos métodos para realizar este tipo de ajuste, uno de ellos es la corrección de Bonferroni [109], éste modifica el nivel de riesgo de la siguiente forma [108]:

$$\alpha_m = \frac{\alpha}{k}, \quad (3.1)$$

¹El error tipo I consiste en rechazar la hipótesis nula cuando esta era realmente verdadera; la probabilidad de cometer este error está dada por α [107].

donde α_m es el nivel de riesgo ajustado, α el nivel de riesgo inicial y k el número de comparaciones.

En el caso de que se haya realizado la prueba de ANOVA el test post-hoc correspondería a una prueba t pareada con corrección de Bonferroni [109]. Mientras que para la prueba de Kruskal-Wallis se utilizó la de Mann Whitney-U con corrección de Bonferroni [108]. En ambas pruebas las hipótesis son las siguientes:

- H_0 : Las medias son iguales ($\mu_1 = \mu_2$)
- H_a : Las medias son diferentes ($\mu_1 \neq \mu_2$)

Las pruebas de hipótesis mencionadas anteriormente se realizaron en RStudio [110].

3.3.2. Intervalos de confianza

Además de las pruebas mencionadas anteriormente, se calcularon los intervalos de confianza para la estimación de la diferencia entre las medias. Para la construcción de dichos intervalos se consideró un nivel de confianza del 95 % y la expresión a utilizar dependió de si existía o no homogeneidad de las varianzas. Las expresiones siguientes se pueden emplear aunque no exista normalidad de los datos siempre y cuando se cumpla $n > 30$ [101].

- Homogeneidad de las varianzas [101]:

$$\text{IC } 95\% = \text{dif. medias} \pm t_{0.025,gl} \sigma_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}, \quad (3.2)$$

donde $t_{0.025,gl}$ es el valor de la distribución t de Student para un error alfa del 0.025, puesto que se desean un nivel de confianza del 95 % y $gl = \text{grados de libertad}$ ($gl = n_1 + n_2 - 2$). Mientras que, σ_p es la desviación estándar ponderada ²,

$$\sigma_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)\sigma_1^2 + (n_2 - 1)\sigma_2^2}{(n_1 - 1) + (n_2 - 1)}}.$$

- Varianzas heterogéneas [101]:

$$\text{IC } 95\% = \text{dif. medias} \pm t_{0.025,gl^*} \sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}. \quad (3.3)$$

² $\sigma_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}$, corresponde al error estándar de la diferencia de las medias.

3. MANIQUÍ DE ESTUDIO

En este caso los grados de libertad se deben estimar de la siguiente forma,

$$gl^* = \frac{\left(\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}\right)^2}{\frac{\left(\frac{\sigma_1^2}{n_1}\right)^2}{n_1-1} + \frac{\left(\frac{\sigma_2^2}{n_2}\right)^2}{n_2-1}}, \quad (3.4)$$

donde σ es la desviación estándar ³.

³ $\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}$, corresponde al error estándar de la diferencia de las medias, cuando las varianzas son heterogéneas.

Caracterización ultrasónica

El objetivo general de este trabajo es validar que existe una correlación entre el coeficiente de retrodispersión y el tamaño de los dispersores con los que interactúa la onda de ultrasonido empleando un maniquí con una morfología similar al pulmón. A lo largo de este capítulo se describe la metodología seguida para la adquisición, procesamiento y análisis estadístico de las señales de radiofrecuencia. Todos los programas utilizados para la estimación del tamaño del dispersor se encuentran implementados en el lenguaje de programación de MATLAB R2021a (The Math-Works, Natick, MA).

4.1. Adquisición de los datos

Para la adquisición de las señales de radiofrecuencia del maniquí de esponja, se hizo uso del equipo de ultrasonido Siemens Acuson S3000 (Siemens Medical Solutions USA, Inc., Malvern, PA, EEUU) (Modelo: 10441730 y No. de serie: 219986) empleando el transductor 12L4 (No. de serie: 62925011), Fig.4.1. Los parámetros empleados para la adquisición de los datos de ultrasonido fueron los siguientes:

- Frecuencia nominal de emisión: 6 / 9 / 12 MHz
- Foco en la dirección axial (transmisión/recepción): 1.5 cm
- Profundidad: 2.5 cm
- Potencia acústica: 100%

4. CARACTERIZACIÓN ULTRASÓNICA



Fig. 4.1: Equipo de ultrasonido y transductor empleado.

En total se analizaron cinco esponjas y por cada una se evaluaron 12 posiciones. Para elegir una posición de adquisición primero se realizó un escaneo de toda la esponja y mediante la imagen en modo B, se determinó cuáles eran las zonas que contenían burbujas de aire y las que no, como se muestra en la Fig.4.2. Finalmente, se adquirieron datos de las zonas donde no se apreciaban estas contribuciones de aire, Fig.4.2b). La adquisición de los datos fue realizada por dos operadores. De acuerdo con un estudio previo [111] donde se analizó la variabilidad inter-operador para la estimación del coeficiente de retrodispersión en mama, en el cual se empleó el mismo equipo que en este proyecto, se puede suponer que hecho de que la adquisición fuera realizada por dos operadores no afecta de manera significativa los resultados obtenidos. Sin embargo, es necesario como trabajo a futuro, realizar un análisis inter-operador, para verificar que esta propiedad también se cumple en el tejido pulmonar.

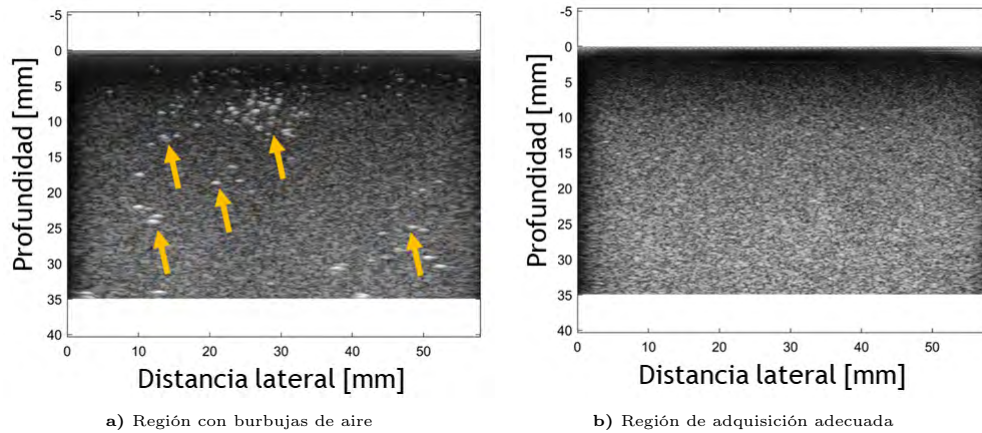


Fig. 4.2: Selección de zonas de adquisición. En a) se señalan con flechas amarillas las regiones brillantes que corresponde a burbujas de aire.

4.2. Procesamiento de las señales de RF

Para la estimación del tamaño del dispersor, se procesaron las señales crudas de la siguiente forma:

- 1.- Se estimó el espectro de potencia de las señales de RF.
- 2.- Se calculó el espectro de potencia normalizado (método de maniquí de referencia).
- 3.- Se estimó la atenuación y el coeficiente de retrodispersión.
- 4.- A partir del coeficiente de retrodispersión se estimó el tamaño del dispersor.

Cada una de estas etapas se desglosará en los apartados siguientes. En dichos apartados se hará uso de los siguientes conceptos: la región de interés (ROI) y la región de estimación de parámetros (PER). La ROI define la región de la muestra o tejido que se desea analizar. Mientras que, la PER contiene una cantidad de muestras de señales de RF, con las cuales se busca estimar los parámetros de interés (espectro de potencia, atenuación, σ_b , tamaño de dispersor).¹ Dicha PER, se va a ir desplazando a lo largo de toda la ROI, lo que va a dividir la ROI en una matriz bidimensional, permitiendo de esta manera poder conocer los parámetros de interés en distintas posiciones espaciales. Cada una de estas posiciones va a estar identificada por el centro de la PER.

¹Para más información acerca del tamaño de la PER se remite al lector a la referencia [112].

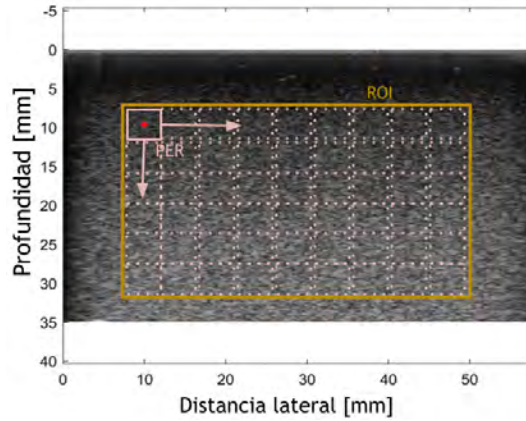


Fig. 4.3: Selección de la ROI (amarillo) para una muestra del maníquí de esponja, mientras que con un cuadrado rosa se detona la PER. El círculo rojo indica el centro de la PER, y las flechas muestran las direcciones de desplazamiento de la PER.

4.2.1. Espectro de potencia

El espectro de potencia de la señal de RF brinda información acerca de la distribución de potencia para las diferentes frecuencias del eco [52, 113]. Para este trabajo, se usó un método multitaper para la estimación del espectro, el cual consiste en la multiplicación de la señal de RF, por un conjunto de funciones de apodización (taper), las cuales tienen la finalidad de eliminar ciertas componentes de ruido de la señal. Posteriormente, calcula la magnitud al cuadrado de la transformada de Fourier de la señal multiplicada y finalmente, estima el promedio de todas las señales, con lo que se obtiene un espectro de potencia suavizado, Fig.4.4. Una ventaja de trabajar en el espacio de Fourier es poder separar las contribuciones de la señal retrodispersada proveniente de los tejidos y de las características del sistema [52].

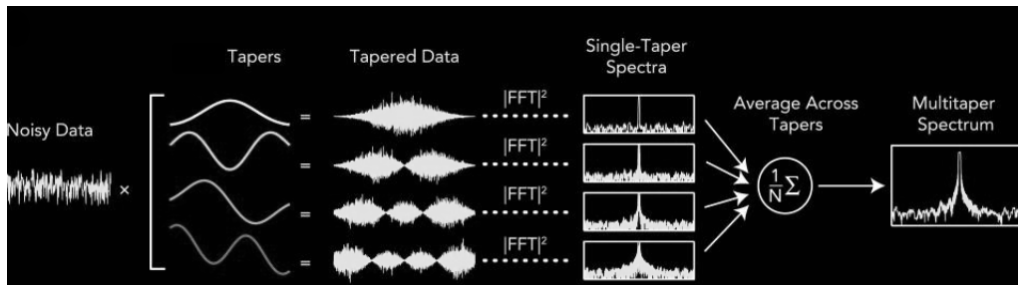


Fig. 4.4: Proceso usual del método multitaper en 1 dimensión, recuperado de [114]. El método utilizado en este trabajo realiza este mismo proceso pero en dos dimensiones (2D) [112].

El método multitaper que se usó fue el propuesto por Rosado-Mendez et al. [58], el cual emplea secuencias Slepian como funciones de apodización. El número de funciones taper que se utiliza se define como $k = 2N*W-1$. En dicha expresión N corresponde al número de muestras de cada segmento de la señal de RF que se encuentra dentro de la PER, mientras que W es la mitad de la resolución en frecuencia [83, 112]. En el caso de este trabajo se utilizaron los siguientes valores, $N = 260$ y $W = 0.0104$ para una frecuencia de muestro de 40 MHz.

4.2.2. Método del maniquí de referencia. Espectro de potencia normalizado

Como se ha mencionado anteriormente, la señal de los ecos recibidos se ve modificada por las características del equipo y su operación; una manera de eliminar dicha contribución es empleando el *método de maniquí de referencia* o por sus siglas en inglés RPM, propuesto en 1990 por Yao et al. [59]. Este método no requiere que se describan detalladamente las características de recepción y emisión del transductor y tampoco el campo de difracción, lo que permite estimar parámetros cuantitativos que sean independientes del equipo empleado o de su forma de operación [83].

El método consiste en adquirir señales de RF, tanto de la muestra como de un maniquí de referencia del cual se conozcan sus parámetros acústicos (atenuación, coeficiente de retrodispersión y velocidad de propagación del sonido), empleando el mismo equipo y parámetros de adquisición. Además, supone que la dispersión que se genera en el medio de interés es incoherente y que la velocidad de propagación en la referencia es similar a la de la muestra, ya que de no cumplirse esta última condición no es posible eliminar los aspectos relacionados con el patrón de difracción del haz [52]. Este método ha sido utilizado para caracterizar diferentes tejidos, por ejemplo, cérvix [115], mama [52, 83, 116], riñón [77], entre otros.

Para este protocolo se utilizó como maniquí de referencia, el maniquí de control de calidad Gammex modelo 410-SCG (Gammex/Sun Nuclear, Middleton, WI, EEUU), el cual tiene la forma de un paralelepípedo de dimensiones $21.8 \times 9 \times 19.2$ cm³. Este maniquí es tejido equivalente² y está hecho de una mezcla de gel a base de agua [83], además contiene diversas estructuras dentro de él, las cuales permiten realizar pruebas de control de calidad en los equipos de ultrasonido médico. Dado que para obtener los espectros de referencia se necesitan adquirir datos de zonas homogéneas, se buscaron regiones donde no se apreciaran contribuciones de ninguno de los dispersores.

Para aplicar el RPM, se adquirieron 20 planos independientes de las zonas homogéneas del maniquí de referencia para cada una de las muestras analizadas. La razón de realizar varias adquisiciones sobre las zonas homogéneas del maniquí de referencia es disminuir la componente de ruido electrónico que pueda existir en el espectro de referencia.

El método de RPM, permite calcular el espectro normalizado de potencia, el cual solo depende de las características del medio y no del equipo empleado para la adquisición,

$$S_{norm}(x, z; f) = \frac{S_{muestra}(x, z; f)}{S_{ref}(x, z; f)}. \quad (4.1)$$

Cabe recalcar que la estimación del espectro de potencia se realizó tanto para las señales provenientes de la muestra como del maniquí de referencia. En el caso de este último se tomó en consideración que el espectro obtenido debía ser corregido por un factor de transmitancia, debido

²Un maniquí tejido equivalente está diseñado a partir de materiales sintéticos con el objetivo de imitar las propiedades de los tejidos biológicos, y se pueden utilizar con diferentes propósitos como evaluar, calibrar, caracterizar y valorar dispositivos médicos [117]. Los maniqués tejido equivalente también son usados en la investigación preclínica como una alternativa al uso de tejidos y órganos ex vivo, ya que presentan ciertas ventajas como los son una mayor disponibilidad y vida útil, así como una uniformidad estructural y la posibilidad de personalizarlos dependiendo de lo que se desea evaluar [117].

a que el maniquí empleado cuenta con una membrana que divide la interfaz entre el transductor y el medio, la cual tiene la capacidad de modificar la intensidad y frecuencia del pulso emitido y recibido. De acuerdo con las especificaciones del fabricante, el valor promedio de la transmitancia en un ancho de banda de 2.5 MHz a 8.0 MHz, es de 0.966 [83]. Por ello, los espectros fueron multiplicados por dicho factor para corregirlos por tal efecto.

4.2.3. Determinación ancho de banda

Una vez que se obtuvieron los espectros de potencia, se seleccionó el ancho de banda en el cual fueron analizados. Lo anterior se debe a que el espectro se compone tanto de frecuencias provenientes del ruido electrónico, como del proceso de dispersión. Por ello, es relevante buscar un método que permita eliminar las componentes de ruido y de esta forma solo conservar la información que proviene del fenómeno de interés (dispersión).

Para estimar el ancho de banda, se utilizó el método planteado por Argueta-Lozano (2022) [83], el cual consiste en seleccionar un espectro de potencia de la matriz generada por el desplazamiento de la PER, y ajustar un polinomio de grado 2 a los datos que se encuentran fuera del pico característico del espectro y que corresponden a ruido electrónico. Posteriormente, se evalúa la función de ajuste a la frecuencia central del espectro y se considera dicho valor como un umbral del nivel de ruido. Finalmente, se determina el rango de frecuencias donde la contribución de ruido electrónico es despreciable por aquellas frecuencias cuyo valor del espectro se encuentra 10 dB por encima del valor umbral ruido.

En la Fig.4.5, se muestra un ejemplo de la estimación del ancho de banda, donde se puede identificar el ajuste realizado, el valor umbral, el valor umbral + 10 dB, y la frecuencia máxima y mínima del ancho de banda.

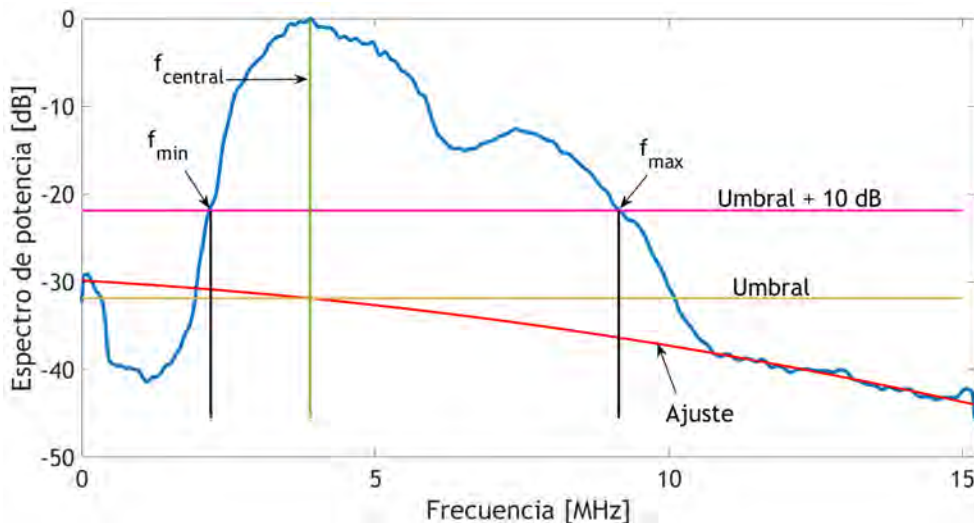


Fig. 4.5: Determinación del ancho de banda de análisis a partir del espectro de potencia en escala decibel como función de la frecuencia. En color azul se presenta el espectro de potencia de las señales de RF dentro de la PER cuyo centro se encontraba a 19.81 mm de profundidad y 28.05 mm en la dirección lateral; en rojo, el polinomio ajustado en los valores de ruido electrónico; en dorado, el nivel de ruido a 4 MHz (frecuencia central), y en rosa, el valor de espectro de potencia utilizado para definir el ancho de banda. Con líneas negras se señalan la frecuencia mínima (f_{min}) y máxima (f_{max}) definidas en el umbral+10dB, y en verde la frecuencia central ($f_{central}$) del espectro de potencia.

La selección de la PER que se utilizó para estimar el ancho de banda, se realizó a partir de la visualización de las imágenes en modo B de las adquisiciones de cada una de las esponjas, con el objetivo de encontrar el centro de la imagen (posición profundidad (axial) y lateral). Los resultados obtenidos se utilizaron para centrar la PER que correspondía a esas coordenadas. En el caso de este proyecto se seleccionó el espectro de la PER que se encontraba a 19.81 mm de profundidad y 28.05 mm en la dirección lateral. Dicho procedimiento se hizo para cada una de las muestras analizadas y su respectivo espectro de referencia. Una vez que se obtuvieron los valores, se procedió a realizar un análisis estadístico de los datos, de donde se calculó la mediana para el valor de la frecuencia máxima y mínima tanto del conjunto de muestras como de referencias. A partir de esos valores fue que se definió el ancho de banda. Al analizar las cinco esponjas y sus respectivas adquisiciones del espectro de referencia se estableció un ancho de banda general de 2.5 MHz a 8 MHz.

4.2.4. Cálculo de coeficiente de retrodispersión y corrección por atenuación

Para la estimación del coeficiente de retrodispersión se realizó la suposición de que la dispersión en los tejidos es lo suficientemente débil de manera que se ignore la dispersión múltiple (aproximación de Born). Aunado a esto, se asumió que la apertura del transductor es menor que la distancia que existe entre el transductor y la PER, lo anterior permite describir al espectro de potencia $S_i(f, z)$ a través de un producto de cuatro factores [118], los cuales son función de la frecuencia (f), de la profundidad (z) y de la dirección lateral (x):

$$S_i(x, z; f) = D_i(x, z; f) G_I(x, z; f) A_i(x, z; f) \sigma_{b,i}(x, z; f), \quad (4.2)$$

donde $D_i(x, z; f)$ corresponde al término que considera los efectos de la formación del haz y la difracción [118]. $G_I(x, z; f)$ es la función de transferencia del sistema, la cual representa el efecto combinado de la emisión y recepción de las señales de RF, depende del equipo y de las características de fabricación del transductor [118]. $A_i(x, z; f)$ es la atenuación acústica que existe entre el transductor y la PER y $\sigma_{b,i}(x, z; f)$ el coeficiente de retrodispersión.

De los cuatro factores que describen al espectro de potencia, $D_i(x, z; f)$ y $G_I(x, z; f)$, son dependientes del sistema de adquisición, mientras que $A_i(x, z; f)$ y $\sigma_{b,i}(x, z; f)$, están relacionados con las características intrínsecas del medio [52]. A través de normalizar el espectro de la muestra respecto del espectro del maniquí de referencia es posible eliminar la dependencia con el sistema de adquisición. De acuerdo con ello, para cada muestra se debe adquirir un conjunto de señales de RF de un maniquí de referencia empleando el mismo equipo y parámetros de adquisición, lo cual implica que los términos $D_i(x, z; f)$ y $G_I(x, z; f)$ que conforman a los espectros de potencia son los mismos. Por tanto el espectro normalizado ($S_{norm}(x, z; f)$) solo depende de las características del medio y no del sistema de adquisición,

$$S_{norm}(x, z; f) = \frac{A_{muestra}(x, z; f) \sigma_{b,muestra}(x, z; f)}{A_{ref}(x, z; f) \sigma_{b,ref}(f)}. \quad (4.3)$$

A partir de (4.3), es posible obtener el valor del coeficiente de retrodispersión de la muestra de la siguiente forma [52]:

$$\sigma_{b,muestra}(x, z; f) = \sigma_{b,ref}(f) A_{ref}(x, z; f) S_{norm}(x, z; f) \frac{1}{A_{muestra}(x, z; f)} \quad (4.4)$$

donde la atenuación y el coeficiente de retrodispersión de la referencia son parámetros conocidos. Un aspecto a resaltar es que $\sigma_{b,ref}(f)$, solo depende de la frecuencia, ya que para el método establecido se emplean maniqués homogéneos, por lo que el valor no cambia con la profundidad de medición. El factor $\frac{1}{A_{muestra}(x, z; f)}$, representa la corrección por atenuación que se debe realizar para obtener la información proveniente únicamente del fenómeno de dispersión.

Para la estimación de la atenuación y el coeficiente de retrodispersión, en este trabajo se utilizó el método de análisis global regularizado para ultrasonido cuantitativo por retrodispersión o también conocido por sus siglas en inglés como ALGEBRA (AnaLytic Global rEgularized BackscatteR quAntitative ultrasound). Dicho método fue desarrollado por N. Jafarpisheh et al. [60], y permite estimar estos parámetros simultáneamente. ALGEBRA es un algoritmo de optimización que permite resolver de forma analítica una función de costo, con la finalidad de estimar los parámetros acústicos mencionados. Además de tener la característica de ser más eficiente que los métodos estadísticos como mínimos cuadrados o programación dinámica (DP) [60, 83].

Este método se basa en el RPM, por lo que la estimación de los parámetros obtenidos es independiente del sistema de adquisición y del operador. Debido a esto, el proceso de estimación parte de la expresión (4.4), donde se considera que el coeficiente de retrodispersión sigue una ley de potencias dependiente de la frecuencia (f) y de las direcciones axial (z) y longitudinal (x) [60]:

$$\sigma_b(x, z; f) = \beta f^{\nu(x, z)}, \quad (4.5)$$

donde β es la magnitud del coeficiente de retrodispersión, y f es la frecuencia elevada a una potencia ν [83].

La atenuación total del haz, se modela de la siguiente forma:

$$A(x, z; f) = \exp\left(-4 \int_0^z \alpha(x, z'; f) dz'\right) \quad (4.6)$$

donde α es el coeficiente de atenuación, el cual se supone que varía linealmente con la frecuencia, $\alpha(x, z'; f) = \alpha_o(x, z) f$ y α_o es la atenuación específica, cuyas unidades son $\text{Np.cm}^{-1}\text{MHz}^{-1}$ [60].

Al sustituir (4.5) y (4.6) en (4.4) y obtener el logaritmo natural del espectro de potencia normalizado, se obtiene lo siguiente:

$$\begin{aligned} X(x, z; f) &= \ln(S_{norm}(x, z; f)), \\ &= -4a(x, z) f z + b(x, z) + n(x, z) \ln(f), \end{aligned} \quad (4.7)$$

donde,

$$a(x, z) = \alpha_{avg}(x, z) - \alpha_{o,ref}, \quad (4.8)$$

$$b(x, z) = \ln\beta_s(x, z) - \ln(\beta_{ref}), \quad (4.9)$$

$$n(x, z) = \nu_s(x, z) - \nu_{ref}, \quad (4.10)$$

En las expresiones (4.8), (4.9) y (4.10), $\alpha_{avg}(x, z)$, $\beta_s(x, z)$ y $\nu_s(x, z)$, representan el coeficiente de atenuación específico promedio, la magnitud y la potencia del coeficiente de retrodispersión de la muestra de interés, respectivamente.

El método de ALGEBRA lo que hace es estimar los parámetros, $a(x, z)$, $b(x, z)$ y $n(x, z)$. Dado que los valores de $\alpha_{o,ref}$, β_{ref} y ν_{ref} son conocidos, Tabla.4.1³, es posible determinar los valores de $\alpha_{avg}(x, z)$, $\beta_s(x, z)$ y $\nu_s(x, z)$.

| Parámetro | Valor |
|---|-------------------------|
| $\alpha_{o,ref}$ [dB/cm-MHz] | 0.5860 |
| β_{ref} [$\text{cm}^{-1} \text{sr}^{-1} \text{MHz}^{-\nu_r}$] | 2.3898×10^{-6} |
| ν_{ref} | 3.5713 |
| c [m/s] | 1540 ± 10 |

Tabla 4.1: Parámetros acústicos del maniquí de referencia, para un ancho de banda de 2.5 MHz a 8 MHz.

Al sustituir los valores de $\beta_s(x, z)$ y $\nu_s(x, z)$ en (4.5), y utilizando el ancho de banda definido previamente, se puede determinar el espectro del coeficiente de retrodispersión, $\sigma_{b,muestra}(x, z; f)$. El coeficiente de retrodispersión tiene la característica de que se encuentra corregido por los efectos de la atenuación, dado que se realizó de manera simultánea la estimación de los parámetros $a(x, z)$, $b(x, z)$ y $n(x, z)$.

Un aspecto relevante sobre ALGEBRA es que tiene dos versiones, una que calcula los parámetros, $a(x, z)$, $b(x, z)$ y $n(x, z)$ solo en la dirección axial (1D-ALGEBRA) y la otra que realiza el proceso de regularización tanto en la dirección axial como en la posición lateral (2D-ALGEBRA), siendo esta última, la versión que se utilizó para este trabajo.

La función de costo que emplea este método está dada por la suma de dos términos, uno de ellos conocido como el término de datos D y el otro como el término de regularización R [60, 83]:

$$C = D + R. \quad (4.11)$$

En el caso de 2D-ALGEBRA, los términos anteriores dependen del número de filas N_R (posiciones axiales), de columnas N_C (posiciones laterales) y del número de frecuencias N_F de la

³Las propiedades acústicas del maniquí de referencia utilizado en este trabajo fueron medidas de manera independiente a esta tesis cuyos valores fueron reportados por Castañeda-Martínez (2021) [52]. Para la cuantificación de la atenuación se utilizó la técnica de sustitución por inmersión de banda estrecha [119], mientras que para el coeficiente de retrodispersión se empleó la técnica de pulso-eco de banda ancha [120]. La estimación de las propiedades acústicas del maniquí de referencia para el ancho de banda seleccionado, se realizó de acuerdo con lo descrito por Argueta-Lozano (2022) [83].

matriz del espectro de potencia [60]:

$$D = \sum_{i=1}^{N_F} \sum_{j=1}^{N_R} \sum_{k=1}^{N_C} (X(f_i, z_j, x_k) - b_{j,k} - n_{j,k} \ln(f_i) + 4a_{j,k} f_i z_j)^2, \quad (4.12)$$

$$R = \sum_{l=1}^3 \sum_{j=1}^{N_R} \sum_{k=1}^{N_C} w_{l,z} (l_{j,k} - l_{j-1,k})^2 + w_{l,x} (l_{j,k} - l_{j,k-1})^2, \quad (4.13)$$

donde w_l son los pesos de regularización que se deben definir para cada parámetro y dirección de regularización [60]. Para más detalle sobre el proceso de solución, las matrices y vectores se recomienda leer las siguientes referencias [60, 83].

Al no existir información sobre la implementación de este método para caracterizar tejido pulmonar, se emplearon los mismos factores de pesos que se han utilizado para el tejido mamario, los cuales son [83]:

$$\begin{aligned} \omega_\alpha &= [4e^4 4e^4] \\ \omega_\beta &= [4e^2 4e^2] \\ \omega_\nu &= [4e^2 4e^2] \end{aligned}$$

4.2.5. Estimación del tamaño de dispersor

Una vez que se conoce el coeficiente de retrodispersión es posible estimar el tamaño del dispersor. Se han desarrollado diferentes métodos para calcular esta característica del medio, entre ellos se encuentran los propuestos por Lizzi et al. (1986) [61] y Insana et al. (1990) [121].

El primero de ellos consiste en realizar un ajuste lineal al coeficiente de retrodispersión en dB como función de la frecuencia. Del valor de la pendiente de dicho ajuste se extrae el tamaño del dispersor, mientras que la ordenada al origen depende de la densidad de dispersores en el volumen de dispersión. En tanto que, el segundo método se basa en encontrar el valor del radio del dispersor que minimiza el error cuadrático medio entre la razón del coeficiente de retrodispersión de la muestra y el valor teórico del mismo parámetro, dicho método se conoce como MASD.

En este trabajo se utilizó el método de Lizzi et al. (1986) [61]. Para poder utilizar este método es necesario primero generar un modelo teórico que permita relacionar el valor de la pendiente con el tamaño del dispersor. Para construir el modelo teórico, se tomó en consideración las características del tejido que se plantea analizar, por lo que se utilizó un modelo de esfera fluida (dispersor) inmersa en un medio fluido (medio circundante).

El valor teórico del espectro del coeficiente de retrodispersión se calculó para diferentes tamaños de esferas empleando las expresiones (2.5) y (2.17) y tomando en consideración el ancho de banda elegido. Posteriormente, los valores del BSC se expresaron en escala decibel para un

4.2 Procesamiento de las señales de RF

valor arbitrario de $1 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1} \text{ sr}^{-1}$, Fig.4.6,

$$\sigma_b(f) = 10 \log_{10} \left(\frac{\sigma_b^*(f) \text{ cm}^{-1} \text{ sr}^{-1}}{1 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1} \text{ sr}^{-1}} \right). \quad (4.14)$$

donde $\sigma_b^*(f)$ es igual al coeficiente de retrodispersión obtenido de acuerdo con la expresión (2.5) por unidad de volumen de dispersión, V_s , el método utilizado para calcular este volumen se describirá más adelante.

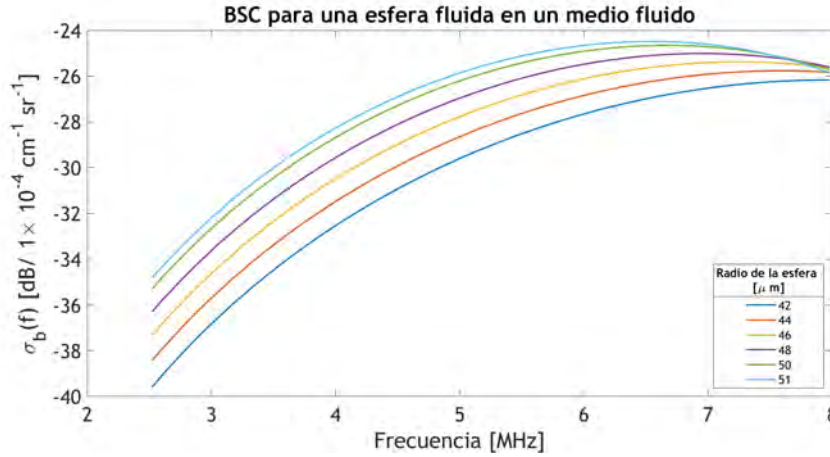


Fig. 4.6: Coeficiente de retrodispersión para dispersores con diferente radios.

Para la simulación de este coeficiente de retrodispersión se emplearon los siguientes parámetros:

| Parámetro | Valor | |
|---|---------------------------------|---------------------------------|
| | Material de la esfera (agua) | Medio circundante (placenta) |
| Densidad (ρ) [kg/m ³] | 998.2 [70] | 995 [98] |
| Velocidad del sonido (c) [m/s] | 1482.4 [70]* | 1540 [27]** |
| Ángulo de dispersión (θ) | π | |
| n | 20 | |
| $k_o r$ | 10a (a: radio del dispersor) | |
| Volumen de dispersión (V_s) [cm ³] | 2.85×10^{-2} | |

Tabla 4.2: Parámetros empleados en la simulación del BSC.*La velocidad del sonido se determinó a partir de la relación $\sqrt{\frac{1}{\kappa\rho}}$, κ es la compresibilidad adiabática [70]. **Dado que no existe reportes acerca de la velocidad del sonido en la placenta, se empleó el valor medio reportado para tejido blando.

Conforme a lo presentado en la Tabla.4.2, el medio circundante que correspondería al tejido pulmonar fetal se simuló como placenta, esto se debe a que en la literatura no hay información acerca de las características de densidad y velocidad de propagación del sonido para el pulmón

4. CARACTERIZACIÓN ULTRASÓNICA

fetal, por lo que de acuerdo con lo referido por el equipo de patología del INPer, el tejido biológico que más se asemeja a este es la placenta. En lo que respecta al parámetro n , se observó que con 20 términos se tiene una convergencia en la estimación de la presión dispersada.

En cuanto a la estimación del volumen de dispersión (V_s) este se define a partir del ancho del haz y la longitud espacial del pulso o SPL por sus siglas en inglés [122], $SPL = n\lambda$, donde n es el número de ciclos del pulso [123]. Al inicio de este trabajo no se contaba con la información acerca del número de ciclos que contenía el pulso emitido por el transductor 12L4, por lo que no era posible estimar SPL. Por ello, se decidió utilizar la profundidad de foco para determinar el volumen de dispersión. Por otro lado, dado que no se cuenta con la información suficiente para simular la difracción que sufre el haz en la componente elevacional, se utilizó la altura del piezoeléctrico. El volumen de dispersión se determinó a partir de los siguientes parámetros:

- 1.- El ancho del haz en la dirección lateral,
- 2.- La profundidad de foco (depth of focus),
- 3.- La altura de los elementos piezoeléctricos.

Para la estimación de los primeros dos puntos se simuló el campo de presión usando el software Field II [124] [125], el procedimiento que se siguió se detalla en la sección A.2.

Una vez que se estimó el coeficiente de retrodispersión se realizó un ajuste lineal para cada uno de los espectros calculados, de donde se obtuvo un valor de pendiente, Fig.4.7. Posteriormente, se construyó una curva teórica a partir de los valores de la pendiente y el radio correspondiente, Fig.4.8.

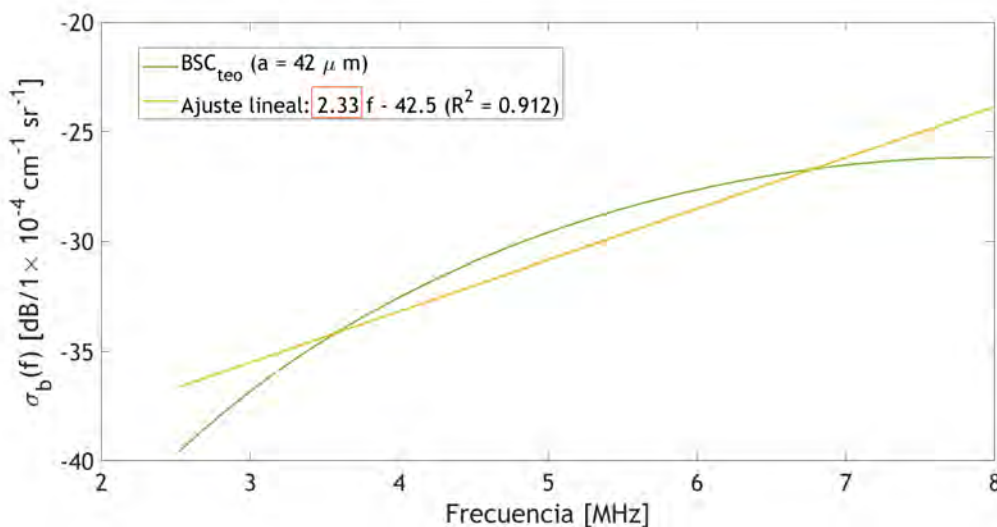


Fig. 4.7: Ajuste lineal al espectro del coeficiente de retrodispersión teórico, en naranja se resalta el valor de la pendiente.

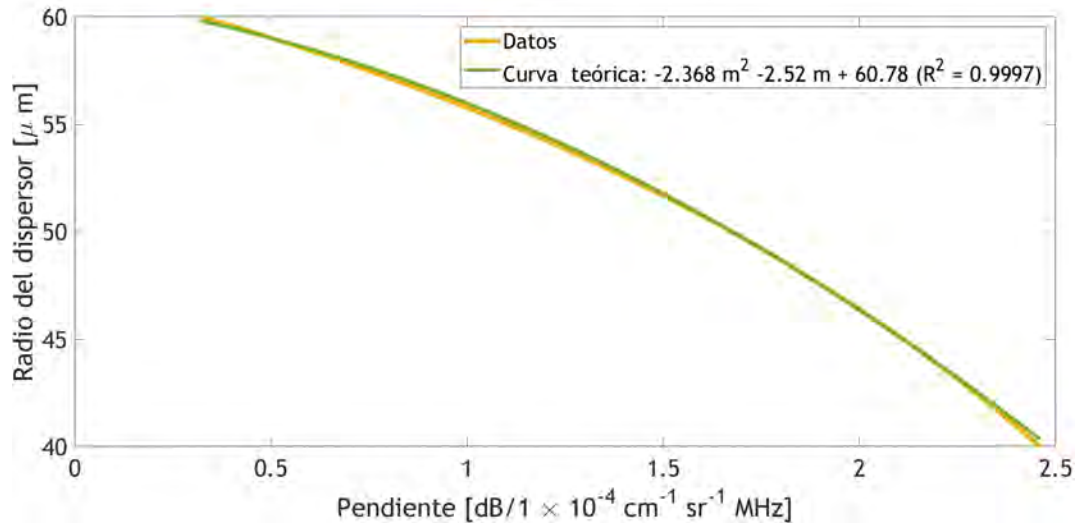


Fig. 4.8: Curva teórica que relaciona el valor de la pendiente (m) con el radio del dispersor.

Una vez que se obtuvo la curva teórica, lo que se hizo fue, expresar los datos experimentales del coeficiente de retrodispersión en escala decibel y realizar un ajuste lineal al espectro, Fig.4.9. Finalmente, dado el valor de la pendiente (m), este se evaluó en la función obtenida por la curva teórica, lo que permitió estimar el radio del dispersor,

$$a = -2.368 \quad m^2 - 2.52 \quad m + 60.78 \quad [\mu m] \quad (4.15)$$

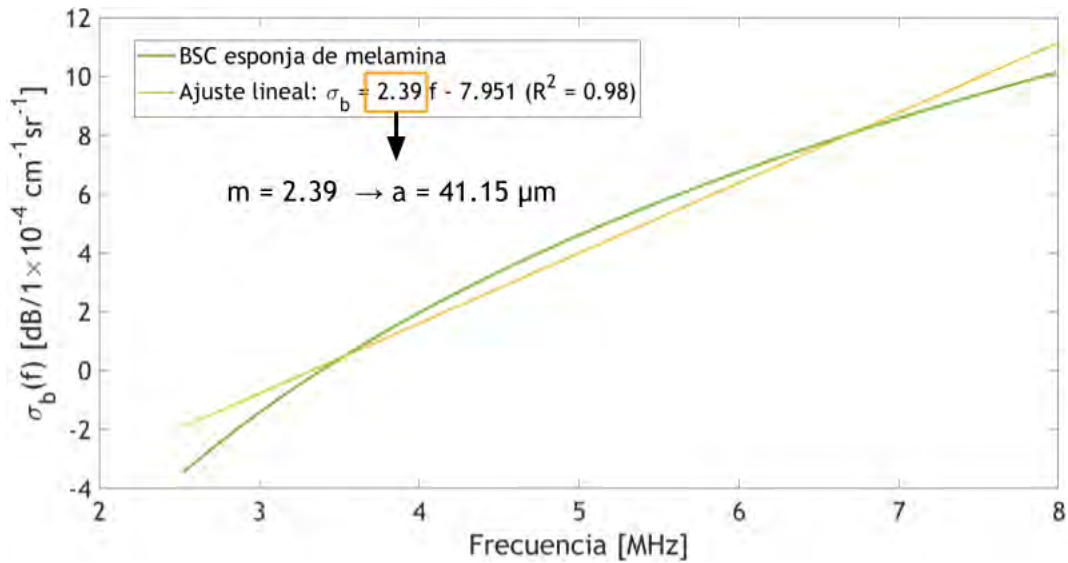


Fig. 4.9: Espectro del coeficiente de retrodispersión experimental.

4.3. Análisis de sesgo

Para la estimación del tamaño promedio de los dispersores mediante la técnica de ultrasonido, se debe recordar que por cada adquisición que se realizó se obtuvo una matriz que contiene el valor del parámetro del interés en diferentes posiciones. Por lo anterior, como primer paso se promediaron los 12 planos adquiridos por cada esponja, dando como resultado una sola matriz de valores del radio ($\hat{a}_{m,n}$). Seguido de esto, se procedió a promediar todos los valores que se obtuvieron de la matriz resultante, con lo cual se obtuvo un solo valor para el radio promedio de los dispersores (a_{us}), Fig.4.10. Este valor obtenido fue el que se comparó con el valor de referencia, a_{ref} .

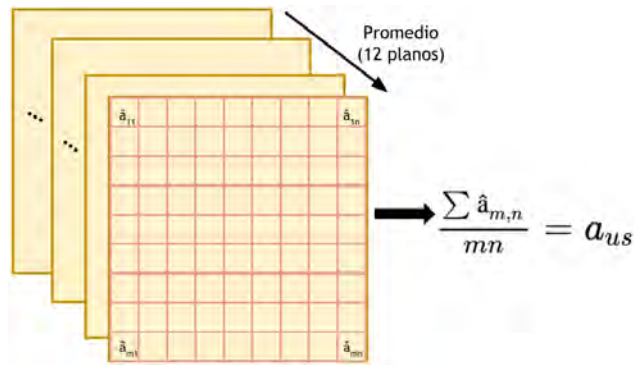


Fig. 4.10: Obtención del valor promedio del radio estimado mediante ultrasonido (a_{us}).

El procedimiento descrito previamente, se realizó para cada una de las cinco esponjas que se analizaron. Lo que permitió generar un rango de valores para el tamaño de los poros de la esponja, así como un intervalo de diferencias porcentuales.

Con la finalidad de evaluar si las diferencias porcentuales eran estadísticamente significativas, se realizaron pruebas de hipótesis para comparar las dos medias obtenidas (US y microscopía). Para ello, se propuso utilizar la prueba de t-student o t de Welch para muestras independientes, dependiendo de las características de los datos.

Para aplicar la prueba t-student para muestras independientes se necesita que los datos cumplan con las siguientes características:

- Normalidad en la distribución de la variable o $n > 30$ en cada grupo [101].
- Homogeneidad de las varianzas [101].

En el caso de que no se cumplan los supuestos anteriores, la prueba de t-student solo puede aplicarse si las muestras contienen más de 30 datos y son de tamaño similar [126]. Si las muestras no son de igual tamaño y no cumplen el criterio de homogeneidad se propone utilizar la prueba t de Welch, la cual no exige homogeneidad de las varianzas ni normalidad [101]. Para ambas pruebas las hipótesis fueron las siguientes:

4.3 Análisis de sesgo

- H_0 : Las medias de los dos conjuntos son iguales ($\mu_1 = \mu_2$)
- H_1 : Las medias de los dos conjuntos son diferentes ($\mu_1 \neq \mu_2$)

Aunado a esto se eligió un nivel de confianza del 95%, por lo que el nivel de significancia estadística fue de $\alpha = 0.05$. Tomando en consideración lo anterior, si el valor de p es menor que α ($p < 0.05$), se rechaza la hipótesis nula (H_0), por lo que, las medias de los conjuntos no son iguales.

Para evaluar la normalidad y la homogeneidad de las varianzas de los datos, se emplearon las mismas pruebas que las planteadas en la sección 3.3.1. De igual forma, se establecieron los intervalos de confianza para las estimaciones de las diferencias entre las medias. Para la construcción de dichos intervalos se consideró un nivel de confianza del 95% y se utilizaron las expresiones descritas en la sección 3.3.2.

Resultados y Discusión

En el siguiente capítulo se presentan los resultados obtenidos de la aplicación de la técnica de espectroscopía por retrodispersión ultrasónica para la estimación del tamaño de los poros de una esponja de melamina. Se presentan también los resultados los resultados derivados de la determinación del del tamaño del poro mediante microscopía electrónica. Igualmente se presenta la evaluación del sesgo que existe entre ambos métodos.

5.1. Microscopía electrónica

En esta sección se presentan los resultados obtenidos de la estimación del tamaño promedio de los poros mediante el análisis de las imágenes de microscopía empleando el software ImageJ. De igual forma, se muestran los resultados de las pruebas estadísticas que se realizaron con la finalidad de evaluar la variabilidad en el contorneo de las estructuras de interés debida al operador. Así mismo, se presenta la discusión sobre el método utilizado para establecer el estándar de referencia, y con el cual se validó y evaluó el sesgo del método de ERU.

En la Tabla.5.1¹, se presentan los valores promedio del radio de la esponja determinado por tres individuos diferentes denotados por A, B y C, los cuales analizaron las mismas 10 imágenes de SEM y emplearon el mismo software para el contorneo de las estructuras de interés. En el Apéndice A.3, se encuentran las imágenes con las ROIs seleccionadas por cada uno de los operadores.

| A | B | C |
|--|--|--|
| 55.88 μm | 55.01 μm | 57.81 μm |
| [54.05 μm , 57.71 μm] | [53.64 μm , 56.38 μm] | [56.47 μm , 59.15 μm] |

Tabla 5.1: Radio promedio estimado por cada uno de los individuos A, B y C (media e IC 95%).

Para analizar la variabilidad inter-operador se realizaron las pruebas estadísticas descritas

¹El intervalo de confianza al 95% para la media se estimó de la siguiente forma, IC 95% = $[a-1.96 \frac{\sigma}{\sqrt{n}}, a+1.96 \frac{\sigma}{\sqrt{n}}]$, donde a es el radio promedio estimado, σ corresponde a la desviación estándar y n al número de datos que se promediaron.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

en la sección 3.3.1, con las cuales se buscó determinar si la media estimada por los tres operadores es estadísticamente la misma. En la Tabla.5.2, se presentan los resultados obtenidos para las pruebas de normalidad, homogeneidad de las varianzas y evaluación de la igualdad de las medias. De los resultados de la prueba de Lilliefors² se tiene que solo los conjuntos de datos B y C siguen una distribución normal. Al realizar la prueba de Leven³ se obtuvo que no existe una homogeneidad de las varianzas. Aunque los resultados anteriores no representan una limitante para llevar a cabo una prueba paramétrica como ANOVA, se decidió emplear el test de Kruskal-Wallis porque el tamaño de los conjuntos de datos eran diferentes, $n_A = 291$, $n_B = 761$ y $n_C = 779$, debido a la gran diferencia con respecto al primer conjunto de datos es que se optó por utilizar la prueba no-paramétrica.

| Normalidad (Lilliefors) | | |
|---------------------------------------|---------------------|---------------------|
| A | B | C |
| D = 0.09 $p = 9.99 \times 10^{-6}$ | D = 0.03 $p = 0.06$ | D = 0.03 $p = 0.06$ |
| Homogeneidad de las varianzas (Leven) | | |
| F = 5.55 $p = 3.95 \times 10^{-3}$ | | |
| Kruskall-Wallis | | |
| $\chi^2 = 7.02$ $p = 0.03$ | | |

Tabla 5.2: Valores obtenidos en las diferentes pruebas estadísticas que se realizaron. Normalidad → test de Lilliefors. Homogeneidad de las varianzas → test de Leven.

De acuerdo con los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis se tiene que al menos uno de los conjuntos es diferente, pero no arroja información sobre cuál de ellos es distinto, por lo que se hizo una prueba post-hoc de Mann Whitney-U con corrección de Bonferroni, cuyos resultados se presentan en la Tabla.5.3. A partir de la prueba post-hoc, se tiene que si se toma como referencia la media obtenida por A, la media de B y C son iguales a la de A. Sin embargo, al comparar las medias de B y C se obtiene que estas no son las mismas, por lo que existe una diferencia inter-operador.

| | A | C |
|---|------------|------------|
| B | $p = 1.00$ | $p = 0.03$ |
| C | $p = 0.36$ | - |

Tabla 5.3: Resultados de la prueba post - hoc, para la estimación del tamaño de poro mediante la técnica de microscopía.

Para respaldar los datos obtenidos en las pruebas de hipótesis, se decidió también estimar los intervalos de confianza para las diferencias de las medias, dichos resultados se presentan en la Tabla.5.4. Al analizar el intervalo de confianza para la diferencia entre el operador A-B y A-C, se tiene que el cero está contenido, lo cual implica que existe la posibilidad de que las medias sean las mismas. Al evaluar el intervalo para B-C, el cero no se encuentra dentro del intervalo de confianza, por lo que no existe la posibilidad de que las medias sean iguales, lo cual concuerda con lo obtenido en la prueba de hipótesis.

²D: estadístico de la prueba de normalidad de Lilliefors.

³F: estadístico de la prueba de homogeneidad de las varianzas de Leven.

| A-B | A-C | B-C |
|--|---|--|
| 1.93 μm | 0.88 μm | 2.80 μm |
| [-0.34 μm , 4.2 μm] | [-1.41 μm , 3.17 μm] | [0.89 μm , 4.71 μm] |

Tabla 5.4: Intervalos de confianza para la diferencia de las medias, ($|\text{dif.medias}|$ e IC 95%).

Dado que sí existe una variabilidad inter-operador entre las estimaciones realizadas para el tamaño de los poros de la esponja, se decidió emplear el promedio de los valores presentados en la Tabla.5.1, como el valor de referencia, por lo que $a_{ref} = 56.23\mu\text{m}$ con un IC 95% de [54.61 μm , 57.85 μm].

Como conclusión de esta sección, el proceso para la estimación del estándar de referencia del tamaño de los poros debe ser mejorado, puesto que existe una variación inter-operador. Esta fuente de variabilidad puede afectar la validación de la estimación realizada por ultrasonido, ya que el valor obtenido mediante microscopía sirve como referencia, por lo que una adecuada estimación permitirá evaluar de mejor forma la exactitud y precisión de la estimaciones realizadas mediante la técnica de interés, ERU.

Por lo anterior, es que se plantean las siguientes mejoras:

- Realizar cortes más finos de la esponja de forma que se evite tener más de una capa de poros, con lo cual se eliminará la contribución del efecto de perspectiva debido al espesor de la muestra.
- Analizar al menos un corte de cada una de las esponjas evaluadas por ultrasonido. Dado que en este experimento los cortes que se analizaron provenían de una esponja que no se evaluó por ultrasonido. Puesto que se realizó la suposición de que al todas las esponjas provenir del mismo lote sus características eran las mismas. Lo anterior ayudará a verificar que el valor de referencia que se está empleando para evaluar el sesgo de la estimación de ultrasonido es correcto.
- Buscar una herramienta computacional que permita realizar de manera automática el contorno de los poros, puesto que al ser este un proceso manual, existe una variabilidad en cuanto a la delimitación de esta región.

El último punto será particularmente importante cuando cuando se trabaje con muestras de tejido biológico; en dichos escenarios es imposible garantizar que el alvéolo se cortará exactamente por la mitad, por lo que se tendrá una mayor variación en cuanto a la delimitación de la región que corresponde a un alvéolo. Por tanto, para dicho análisis se plantea seguir las recomendaciones realizadas por Klein et al. [127], donde describe un método estadístico para la medición de los alvéolos que aparecen en una sección histológica.

5.2. Ultrasonido

A continuación se presentan los resultados obtenidos para la estimación del radio promedio de los poros mediante la técnica de ultrasonido.

En la Tabla.5.5 se presentan los valores promedio del análisis de cinco esponjas a tres diferentes frecuencias nominales de emisión. Para realizar una identificación más fácil de las esponjas cada una de estas se nombró con un color diferente. En la Tabla.5.6 se presenta el valor máximo y mínimo que se obtuvo para el radio promedio por frecuencia, así como el rango en el que se encuentran las diferencias porcentuales entre la estimación por ultrasonido y el valor de referencia, $a_{ref} = 56.23 \mu\text{m}$ con un IC 95 % de $[54.61 \mu\text{m}, 57.85 \mu\text{m}]$.

| Esponja | 6 MHz | 9 MHz | 12 MHz |
|----------|---|---|---|
| Amarilla | 41.10 μm [40.89 μm , 41.31 μm] | 11.40 μm [11.28 μm , 11.52 μm] | 16.59 μm [16.45 μm , 16.73 μm] |
| Morada | 39.33 μm [39.03 μm , 39.63 μm] | 18.25 μm [17.97 μm , 18.53 μm] | 14.81 μm [14.58 μm , 15.04 μm] |
| Naranja | 41.99 μm [41.68 μm , 42.30 μm] | 22.45 μm [22.08 μm , 22.82 μm] | 20.00 μm [19.69 μm , 20.31 μm] |
| Rojo | 45.69 μm [45.53 μm , 45.85 μm] | 18.90 μm [18.79 μm , 19.01 μm] | 20.88 μm [20.77 μm , 20.99 μm] |
| Verde | 49.08 μm [48.87 μm , 49.29 μm] | 29.94 μm [29.75 μm , 30.13 μm] | 25.74 μm [25.57 μm , 25.91 μm] |

Tabla 5.5: Estimación del radio promedio de los poros de la esponja (a_{us}) en un ancho de banda de 2.5 MHz a 8 MHz, para una potencia del 100 % y una frecuencia nominal de emisión de 6/9/12 MHz, (media e IC 95 %).

De los resultados presentados en la Tabla.5.6, para 6 MHz, se tiene una mejor estimación del tamaño promedio de los poros. Al estimar el valor de ka que corresponde a un radio igual a a_{ref} y dicha frecuencia de emisión, se tiene que $ka = 1.38$, de igual forma, se evaluó el valor de ka , para la frecuencia nominal de 9 MHz y 12 MHz, de donde se obtuvo que $ka = 2.06$ y $ka = 3.44$, respectivamente. Como se mencionó anteriormente, el rango de ka en que se busca trabajar es de $0.5 < ka < 1.2$, por lo que se decidió verificar que la frecuencia con la que se incidió en la esponja, realmente correspondía con la frecuencia nominal establecida, para ello se analizaron los espectros de potencia obtenidos.

| | |
|--------|--|
| 6 MHz | <p>39.33 μm - 49.08 μm</p> <p>IC 95 %: [39.03 μm, 39.63 μm]; IC 95 %: [48.87 μm, 49.29 μm]</p> <p>Dif. medias respecto a a_{ref} 7.15 μm - 16.90 μm</p> <p>IC 95 %: [0.32 μm, 13.98 μm]; IC 95 %: [13.29 μm, 20.51 μm]</p> <p>Dif. porcentual respecto a a_{ref} 12.72 % - 30.06 %</p> |
| 9 MHz | <p>11.40 μm - 29.94 μm</p> <p>IC 95 %: [11.28 μm, 11.52 μm]; IC 95 %: [29.75 μm, 30.13 μm]</p> <p>Dif. medias respecto a a_{ref} 26.74 μm - 44.83 μm</p> <p>IC 95 %: [20.79 μm, 32.69 μm]; IC 95 %: [40.90 μm, 48.76 μm]</p> <p>Dif. porcentual respecto a a_{ref} 47.55 % - 79.73 %</p> |
| 12 MHz | <p>14.81 μm - 25.74 μm</p> <p>IC 95 %: [14.58 μm, 15.04 μm]; IC 95 %: [25.57 μm, 25.91 μm]</p> <p>Dif. medias respecto a a_{ref} 30.49 μm - 41.42 μm</p> <p>IC 95 %: [26.92 μm, 34.06 μm]; IC 95 %: [37.83 μm, 45.01 μm]</p> <p>Dif. porcentual respecto a a_{ref} 54.22 % - 73.66 %</p> |

Tabla 5.6: Intervalos del radio promedio de los poros y su diferencia respecto del valor de referencia, para un ancho de banda de 2.5 MHz a 8 MHz, una potencia del 100 % y una frecuencia nominal de emisión de 6/9/12 MHz. (Dif.medias = $|a_{us} - a_{ref}|$); (Dif.porcentual = $\frac{|a_{us} - a_{ref}|}{a_{ref}} \cdot 100$).

En el caso de 6 MHz se encontró lo siguiente:

- 1.- El pico central del espectro de potencia no corresponde con 6 MHz, sino que en promedio se encuentra a $f_{central} = 3.95 \pm 0.09$ MHz (media \pm IC 95 %), Fig.5.1a).
- 2.- Se observó la presencia de un segundo pico en el espectro de potencia, el cual en promedio se encuentra situado a 7.22 ± 0.08 MHz (media \pm IC 95 %), Fig.5.1a).

Por otro lado, para 9 y 12 MHz, se obtuvo que el pico central se encontraba en promedio

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

en 5.33 ± 0.05 MHz y 5.46 ± 0.05 MHz, respectivamente. Además de que para dichas frecuencias no se observó la presencia de un segundo pico, como ocurrió para 6 MHz, Fig.5.1. Los valores mencionados anteriormente tanto para las frecuencias de 6 MHz, 9 MHz y 12 MHz, se resumen en la Tabla. 5.7.

| | 6 MHz | 9 MHz | 12 MHz |
|-----------------------------------|--|--|--|
| Frecuencia central | 3.95 ± 0.09 MHz (media \pm IC 95 %) | 5.33 ± 0.05 MHz (media \pm IC 95 %) | 5.46 ± 0.05 MHz (media \pm IC 95 %) |
| Frecuencia central (segundo pico) | 7.22 ± 0.08 MHz (media \pm IC 95 %) | - | - |

Tabla 5.7: Frecuencias centrales promedio para los espectros de potencia obtenidos al utilizar una frecuencia nominal de emisión de 6 MHz, 9 MHz y 12 MHz.

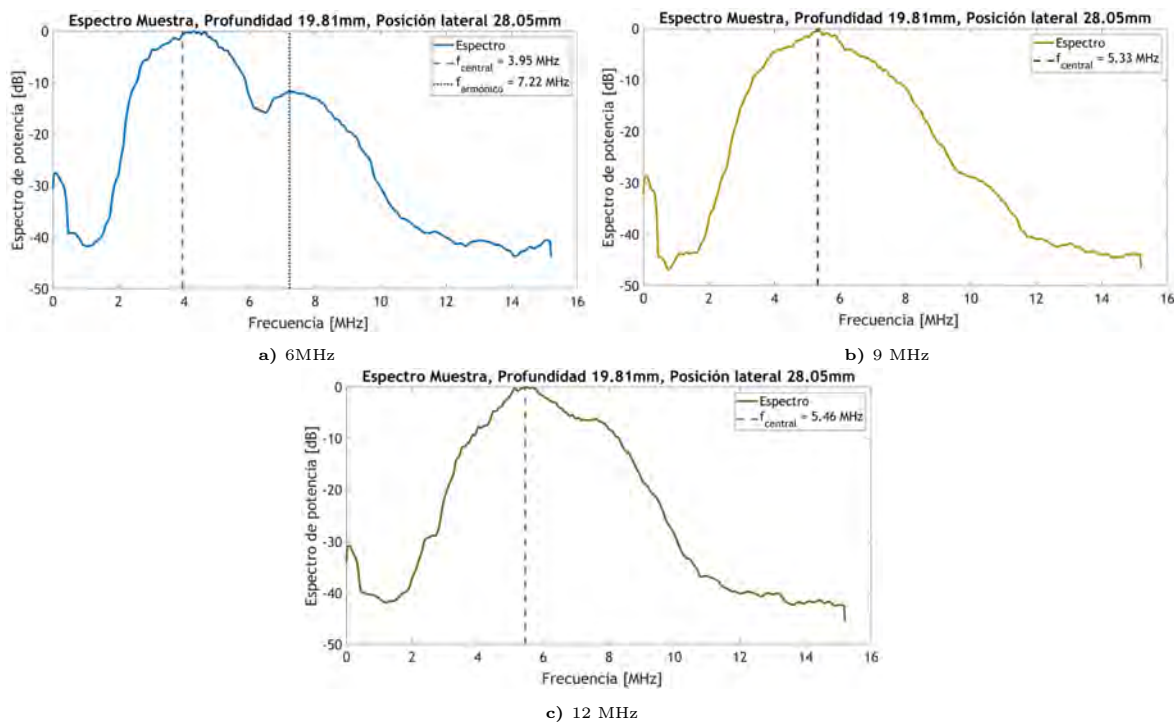


Fig. 5.1: Espectro de potencia para la esponja a diferentes frecuencias nominales de emisión.

La razón de que no se esté observando el pico central de los espectros de potencia a la frecuencia nominal de emisión, se debe a la dependencia de la atenuación con la frecuencia. Hay que recordar que el coeficiente de atenuación es proporcional a una potencia de la frecuencia y que a mayor frecuencia mayor es la atenuación que sufre la onda al propagarse por el medio de interés. Si bien los valores mencionados anteriormente para la frecuencia central no corresponden a la frecuencia con la que se incidió en los dispersores, puesto que ya presenta un doble efecto de atenuación. Es decir, la pérdida en el trayecto de ida como de regreso al transductor. Sí nos permiten rechazar nuestra primera hipótesis de que para ninguna de las frecuencias nominales era posible estimar el valor del tamaño del dispersor.

Esto debido a que para el tamaño de poro encontrado, ($a_{ref} = 56.23 \mu\text{m}$ con un IC 95 %

de $[54.61 \mu\text{m}, 57.85 \mu\text{m}]$, las frecuencias con las que se debe incidir al dispersor para que se cumpla la relación de $0.5 < ka < 1.2$, deben encontrarse entre 2.18 MHz y 5.23 MHz. Dado que los valores para la posición del pico central para 9 MHz y 12 MHz, se encuentran fuera de dicho intervalo, se puede suponer que ciertamente, esas frecuencias no cumplen con el criterio de ka . Sin embargo, para 6 MHz, ocurre lo contrario, al estar el valor de 3.95 MHz dentro del rango establecido, existe la posibilidad de que se pueda estimar el tamaño del dispersor de manera adecuada.

Para obtener mayor información sobre la frecuencia incidente, se debe calcular la atenuación total que sufre la onda y corregir el espectro de potencia por tal efecto, y de esta forma se podrá conocer si se cumple con lo establecido por el producto de ka . Sin embargo, en este trabajo no se realizará dicho cálculo y se considerará que la frecuencia con la que se está incidiendo en la esponja se encuentra dentro del rango de valores de ka , para 6 MHz, esto como una primera aproximación.

En lo que respecta a la presencia del segundo pico en el espectro de potencia para 6 MHz, se tiene que este se encuentra localizado a $7.22 \text{ MHz} = 1.83f_{\text{central}} \approx 2f_{\text{central}}$. El hecho de que se encuentre aproximadamente a dos veces el valor de la frecuencia central, nos dice que corresponde al segundo armónico. La presencia de armónicos en el espectro de potencia nos da información acerca de que la propagación de la onda en el medio no está siguiendo una aproximación lineal en la relación de la presión y los cambios en la densidad (ecuación. 5.1).

En la deducción que se realiza en la sección 2.1.2, se hizo la suposición de que las variaciones en la presión se encontraban linealmente relacionadas con los cambios en la densidad, donde la constante de proporcionalidad era la velocidad del sonido. Sin embargo, en aplicaciones de ultrasonido diagnóstico no siempre se cumple este supuesto dado que no se tienen variaciones infinitesimales de la presión. Lo anterior se expresa de la siguiente forma:

$$p = A \frac{\rho - \rho_o}{\rho_o} + \frac{B}{2} \left(\frac{\rho - \rho_o}{\rho_o} \right)^2 + \dots \quad (5.1)$$

donde ρ_o es la densidad del medio en estado de equilibrio, ρ es la densidad, A es la constante que modula el término de primer orden, $A = \rho_o c_o^2$ y, B corresponde con la constante que modula el término de segundo orden, $B = \rho_o^2 \frac{\partial^2 p}{\partial \rho^2}$, siendo este el término que tendría que ser considerado en un propagación no lineal del sonido [70].

Entre los parámetros que están relacionados un efecto no lineal en la propagación de las ondas, se encuentran las características del medio, que se expresan mediante el parámetro de no-linealidad (B/A), la frecuencia de la onda emitida y la presión de esta misma onda. Al aumentar alguno de estos tres parámetros, aumenta la posibilidad de la presencia de armónicos [28].

En lo que respecta a las características del medio, para observar si la presencia de armónicos se debe al material de la esponja, se decidió revisar si este fenómeno se aprecia de igual forma en los espectros de potencia para el maniquí de referencia. De dicha evaluación se encontró que para 6 MHz hay presencia de armónicos, y que los picos se encuentran a 3.65 MHz y 6.98 MHz $= 1.91f_{\text{central}}$. Mientras que para las frecuencias nominales de 9 y 12 MHz, no se observaron

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

efectos no lineales para la potencia utilizada, Fig.5.2.

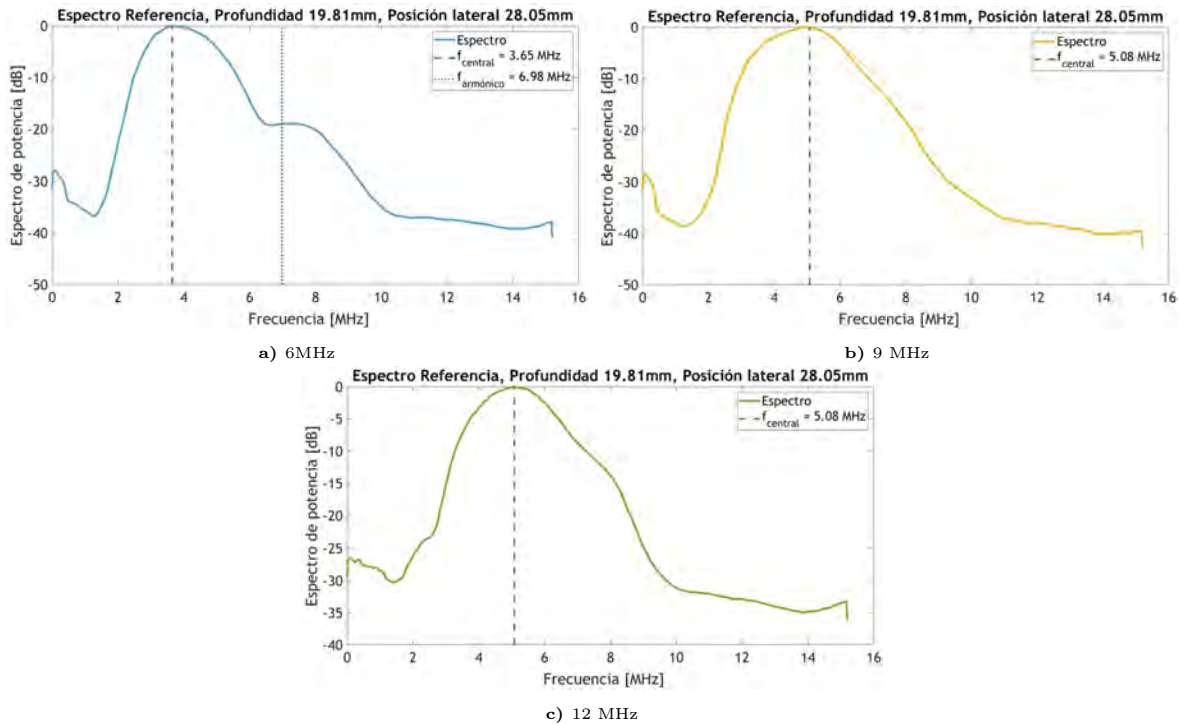


Fig. 5.2: Espectro de potencia para el maniquí de referencia a diferentes frecuencias nominales de emisión.

Debido a lo anterior, es que se decidió modificar la amplitud de la onda incidente y se buscó determinar a partir de qué rango de valores se comienzan a observar efectos no lineales. El motivo de realizar la evaluación de la presencia de armónicos, es verificar si dicho fenómeno está influyendo en la estimación del tamaño del dispersor.

Para modificar la amplitud de la onda incidente lo que se hizo fue variar los valores de la potencia acústica de salida, que en el caso del experimento anterior se encontraba al 100 %. Los valores que se evaluaron fueron 0.1 %, 5 %, 15 %, 25 %, 50 % y 79 %. Los resultados de esta evaluación se plasman en la Fig.5.3, de donde se puede observar que a partir de 5 % se comienzan a generar armónicos. De igual forma, a mayor potencia, mayor es la amplitud del segundo armónico y a su vez la amplitud del pico central comienza a disminuir, esto debido a que parte de la energía que correspondía a dicha frecuencia está siendo transferida a frecuencias mayores.

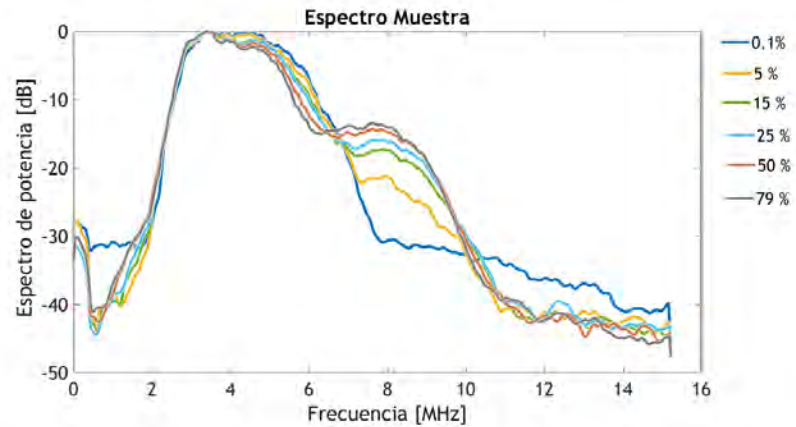


Fig. 5.3: Espectros de potencia para la esponja, empleando un frecuencia nominal de emisión de 6 MHz y diferentes valores de la potencia acústica de salida.

Dado que se obtuvo un primer valor umbral a 5 %, se decidió evaluar valores de potencia entre 0.1 % y 5 % y determinar si existe algún otro valor umbral. Para dicha evaluación se analizaron las siguientes potencias 0.1 %, 0.2 %, 0.32 %, 0.5 %, 0.79 %, 1 %, 2 %, 3.2 % y 5 %, en la Fig.5.4, se muestran algunos de los espectros obtenidos.

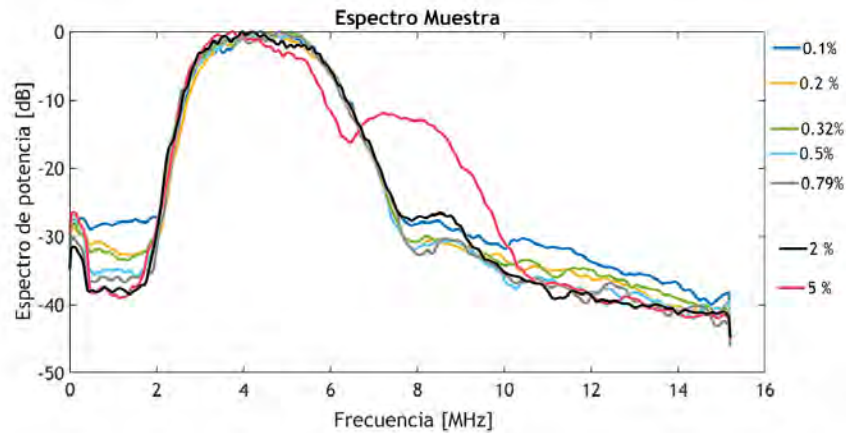


Fig. 5.4: Espectros de potencia para la esponja, empleando un frecuencia nominal de emisión de 6 MHz y diferentes valores de la potencia acústica de salida.

Al analizar los espectros de potencia se observó que a partir de 0.5 % comienzan a formarse armónicos, aunque su amplitud es menor a -30 dB. Debido a ello, se decidió realizar adquisiciones de datos de radiofrecuencia para las esponjas analizadas previamente pero ahora a 0.1 %, 0.2 %, 0.32 % y 0.5 %, y estimar el tamaño del dispersor.

Segundo experimento

A partir de los resultados anteriores se hizo evidente la necesidad de realizar una segunda adquisición de datos y profundizar en el análisis. En este apartado se presentan los resultados obtenidos para el segundo experimento, que corresponde a la evaluación de la estimación del tamaño de los poros al emplear diferentes potencias de la onda incidente. Para dicho experimento se emplearon las mismas esponjas del análisis previo.

Con la finalidad de verificar los resultados obtenidos en el experimento previo, se adquirieron señales de radiofrecuencia para las frecuencias nominales de 6 MHz, 9 MHz y 12 MHz, a una potencia acústica del 100 %. Al igual que en la evaluación previa se observó la presencia de armónicos a 6 MHz, mientras que para 9 y 12 MHz, solo se obtuvo un pico correspondiente a la frecuencia central. En cuanto al posicionamiento de los picos del espectro, no hay una diferencia significativa, respecto a los resultados obtenidos previamente, puesto que los intervalos de confianza se superponen, Tabla.5.8.

| | 6 MHz | | 9 MHz | 12 MHz |
|---------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | Frecuencia central | Segundo armónico | Frecuencia central | Frecuencia central |
| Experimento 1 | 3.95 ± 0.09 MHz | 7.22 ± 0.09 MHz | 5.33 ± 0.05 MHz | 5.46 ± 0.05 MHz |
| Experimento 2 | 3.91 ± 0.05 MHz | 7.15 ± 0.05 MHz | 5.32 ± 0.03 MHz | 5.49 ± 0.03 MHz |

Tabla 5.8: Comparación del posicionamiento de los picos de frecuencia central y armónicos, entre los dos experimentos realizados, para frecuencias nominales de 6 MHz, 9 MHz y 12 MHz, (media e IC 95 %).

Lo siguiente que se hizo fue estimar el tamaño de los dispersores, por ello, en la Tabla.5.9, se presentan los resultados de la estimación del tamaño del poro de la esponja bajo los mismos parámetros del experimento previo. Mientras que en la Tabla.5.10 se presenta el valor máximo y mínimo que se obtuvo del radio promedio para las distintas frecuencias nominales, así como el intervalo en el que se encuentran las diferencias porcentuales entre la estimación por ultrasonido y el valor de referencia, $a_{ref} = 56.23 \mu\text{m}$ con un IC 95 % de $[54.61 \mu\text{m}, 57.85 \mu\text{m}]$.

| Esponja | 6 MHz | 9 MHz | 12 MHz |
|----------|---|---|---|
| Amarilla | $45.43 \mu\text{m}$ [45.22 μm , 45.64 μm] | $14.57 \mu\text{m}$ [14.46 μm , 14.68 μm] | $32.95 \mu\text{m}$ [32.86 μm , 33.04 μm] |
| Morada | $40.80 \mu\text{m}$ [40.58 μm , 41.02 μm] | $20.72 \mu\text{m}$ [20.5 μm , 20.94 μm] | $29.77 \mu\text{m}$ [29.64 μm , 29.90 μm] |
| Naranja | $42.68 \mu\text{m}$ [42.41 μm , 42.95 μm] | $33.66 \mu\text{m}$ [33.45 μm , 33.81 μm] | $31.91 \mu\text{m}$ [31.73 μm , 32.09 μm] |
| Rojo | $40.56 \mu\text{m}$ [40.37 μm , 40.75 μm] | $4.62 \mu\text{m}$ [4.48 μm , 4.76 μm] | $27.22 \mu\text{m}$ [27.12 μm , 27.32 μm] |
| Verde | $45.83 \mu\text{m}$ [45.62 μm , 46.04 μm] | $26.58 \mu\text{m}$ [26.42 μm , 26.74 μm] | $34.79 \mu\text{m}$ [34.69 μm , 34.89 μm] |

Tabla 5.9: Segundo experimento. Estimación del radio promedio de los poros de la esponja (a_{us}) en un ancho de banda de 2.5 MHz a 8 MHz, para una potencia del 100 % y una frecuencia nominal de emisión de 6/9/12 MHz, (media \pm IC 95 %).

| | |
|--------|--|
| 6 MHz | <p>46.56 μm - 45.83 μm</p> <p>IC 95 %: [40.37 μm, 40.75 μm]; IC 95 %: [45.62 μm, 46.04 μm]</p> <p>Dif. medias respecto a a_{ref} 10.40 μm - 16.67 μm</p> <p>IC 95 %: [6.82 μm, 13.98 μm]; IC 95 %: [13.09 μm, 20.25 μm]</p> <p>Dif. porcentual respecto a a_{ref} 18.50 % - 27.88 %</p> |
| 9 MHz | <p>4.62 μm - 32.66 μm</p> <p>IC 95 %: [4.48 μm, 4.76 μm]; IC 95 %: [32.45 μm, 32.45 μm]</p> <p>Dif. medias respecto a a_{ref} 23.57 μm - 51.61 μm</p> <p>IC 95 %: [19.99 μm, 27.15 μm]; IC 95 %: [47.18 μm, 56.04 μm]</p> <p>Dif. porcentual respecto a a_{ref} 41.92 % - 91.79 %</p> |
| 12 MHz | <p>27.22 μm - 34.79 μm</p> <p>IC 95 %: [27.12 μm, 27.32 μm]; IC 95 %: [34.69 μm, 34.89 μm]</p> <p>Dif. medias respecto a a_{ref} 21.44 μm - 29.01 μm</p> <p>IC 95 %: [18.27 μm, 24.61 μm]; IC 95 %: [25.84 μm, 32.18 μm]</p> <p>Dif. porcentual respecto a a_{ref} 38.12 % - 51.59 %</p> |

Tabla 5.10: Segundo experimento. Intervalos del radio promedio de los poros y su diferencia respecto del valor de referencia, para un ancho de banda de 2.5 MHz a 8 MHz, una potencia del 100% y una frecuencia nominal de emisión de 6/9/12 MHz. (Dif.medias = $|a_{us} - a_{ref}|$); (Dif.porcentual = $\frac{|a_{us} - a_{ref}|}{a_{ref}} \cdot 100$).

Al comparar los valores de los dos experimentos realizados para la estimación del tamaño del dispersor, se observó que existe una discrepancia entre los resultados obtenidos de dichas pruebas, Fig.5.5. Esta discrepancia en la estimación del tamaño de poro, puede estar asociada a dos factores: el primero de ellos está relacionado con el proceso de adquisición y el segundo con las características de la esponja.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

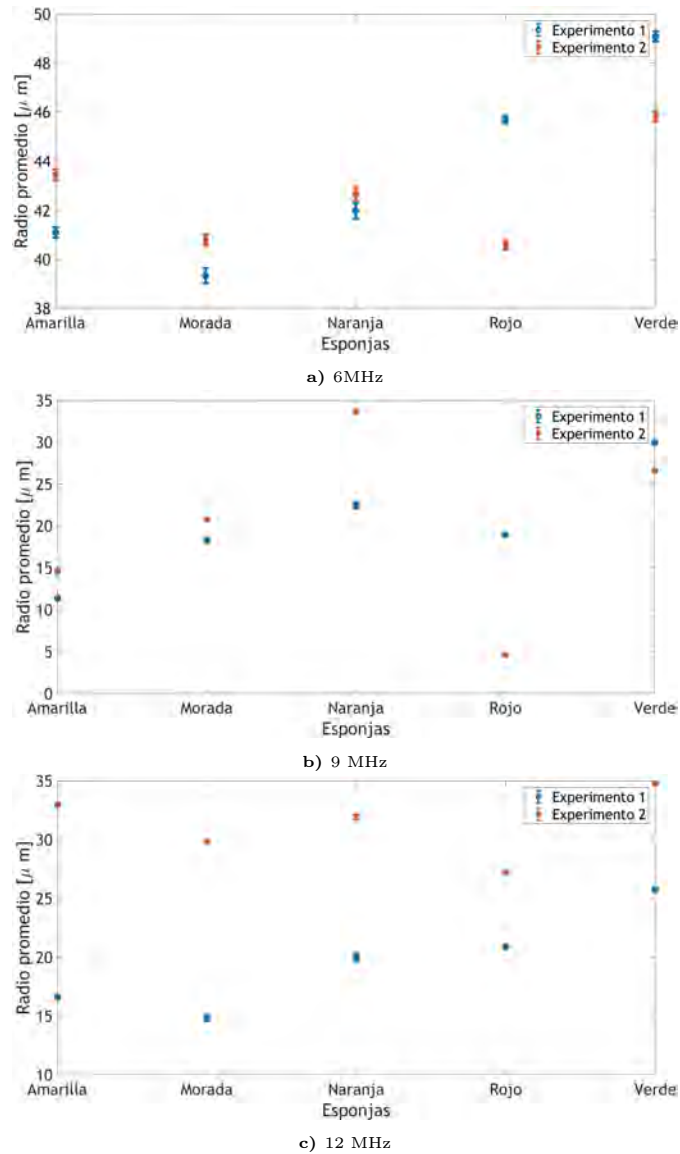


Fig. 5.5: Comparación de la estimación del radio promedio del poro.

En lo que respecta al primer punto, al momento de seleccionar la región de la esponja donde se adquirieron las señales de radiofrecuencia se hizo una evaluación de la imagen en modo B, de forma que no se observara burbujas de aire o regiones brillantes en la imagen (Fig.4.2a)). Bajo esta condición fue que se seleccionaron los planos de señales de radiofrecuencia y se estimaron los valores presentados en la Tabla.5.5. Sin embargo, al llevar a cabo el segundo experimento, además de realizar la evaluación previa de las regiones de adquisición mediante las imágenes en modo B, previo a realizar el análisis de las señales adquiridas se reconstruyeron las imágenes en modo B, donde se observó que no todas ellas cumplían con la condición de no presentar regiones brillantes relacionadas con presencia de aire (Fig.4.2a)). Por lo que se descartaron aquellas adquisiciones que tenían una contribución de regiones brillantes, Fig.5.6. Los valores estimados se presentan en la Tabla.5.9.

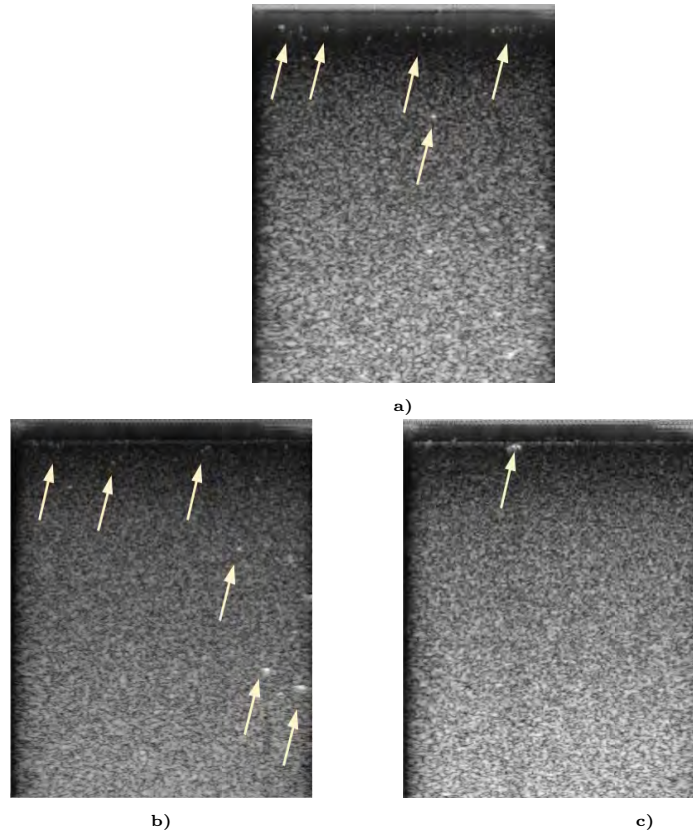


Fig. 5.6: Ejemplos de adquisiciones que fueron descartados por contener regiones brillantes. Las zonas brillantes se señalan mediante flechas.

Debido a lo observado en el experimento 2, se decidió reconstruir las imágenes en modo B de las señales de radiofrecuencias utilizadas en el primer experimento. De lo anterior se obtuvo, que muchos de los planos empleados no cumplían con las condiciones establecidas, es decir, tenían una gran componente de regiones brillantes, las cuales se pueden asociar a regiones con burbujas de aire o con motas de polvo que se pegan a la esponja. Por ello, es posible considerar que los resultados de la Tabla.5.9, representan de mejor forma la estimación del tamaño de poro para una potencia del 100 %.

De análisis anterior se desprende la necesidad de realizar una evaluación más exhaustiva acerca de efecto que tienen las regiones brillantes en la estimación de las propiedades acústicas. Por lo que como trabajo a futuro se debe establecer un criterio sobre el cuál es el número máximo de burbujas que se pueden tener en el plano de adquisición sin que esto afecte la estimación de las propiedades acústicas del medio.

El segundo factor que pudo haber influido en la estimación realizada, es que a pesar de que se emplearon las mismas esponjas la composición de estas cambió, puesto que la cantidad de aire o de motas de polvo que tenía la misma esponja en ambos experimentos difiere, lo cual modifica la información que obtenemos de las señales de radiofrecuencia.

Al igual que en el primer experimento, al emplear una frecuencia nominal de 6 MHz se obtiene la mejor estimación para el tamaño del dispersor. Con la finalidad de evaluar si dichos

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

resultados son iguales a los obtenidos por la técnica de microscopía, se decidió realizar una prueba de hipótesis. Esta prueba consistió en verificar si la media obtenida para cada una de las esponjas era igual a la media obtenida mediante SEM. Es decir, la hipótesis nula es que $a_{ref} = a_{us,i}$; $i =$ amarilla, morada, naranja, rojo y verde.

La primera prueba que se hizo fue evaluar la normalidad de los datos, de donde se obtuvo que para ninguna de las esponjas los datos siguen una distribución normal, esto debido a que para cada caso $p < 0.05$. La siguiente prueba fue la homogeneidad de las varianzas, donde se obtuvo que las varianzas no son homogéneas ($p < 0.05$). Debido a estos dos resultados se decidió emplear la prueba de t-Welch, de donde se obtuvo que ninguna de las mediciones realizadas mediante ultrasonido es igual a la medición realizada por microscopía, lo cual nos da un indicio de que nuestro modelo tiene que ser mejorado, Tabla.5.11.

| Esponja | Prueba de hipótesis | $a_{us} - a_{ref} [\mu\text{m}]$ |
|----------|-----------------------------|-------------------------------------|
| Amarilla | $t = -12.95$ $p = 0.005$ | -10.80 IC 95 %: [-14.38, -7.22] |
| Morada | $t = -18.50$ $p = 0.002$ | -15.43 IC 95 %: [-19.01, -11.85] |
| Naranja | $t = -16.17$ $p = 0.003$ | -13.55 IC 95 %: [-17.15, -9.95] |
| Rojo | $t = -18.82$ $p = 0.002$ | -15.67 IC 95 %: [-19.25, -12.09] |
| Verde | $t = 12.47$ $p = 0.006$ | -10.40 IC 95 %: [-13.98, -6.82] |

Tabla 5.11: Resultados de la prueba de hipótesis (t-Welch) e intervalos de confianza para la diferencia de las medias obtenidas por ultrasonido y microscopía.

Aunado a las pruebas de hipótesis, se estimaron los intervalos de confianza al 95 %, para la diferencia de las medias, Tabla.5.11. De los resultados obtenidos se tiene que en ninguno de los intervalos está contenido el cero, por lo que no existe la posibilidad de que las medias sean iguales, lo que implica que existe una diferencia significativa entre ambas estimaciones. Además, al obtener que las diferencias son negativas, esto nos indica que se está realizando una sub-estimación del tamaño del poro con la técnica de ultrasonido.

A continuación, se presentan los resultados que se obtuvieron cuando se redujo la potencia de la onda incidente. Al igual que para las estimaciones previas, lo primero que se hizo fue identificar el ancho de banda en el cual se analizaría las señales. Para el caso de las señales de RF adquiridas, cuando se emplea una potencia acústica se salida entre 0.1 % a 0.5 % y una frecuencia nominal de 6 MHz, el ancho de banda seleccionado fue de 2.55 MHz a 6 MHz.

Dado que existe una diferencia en el ancho de banda respecto al utilizado para la potencia al 100 %, es necesario modificar ligeramente los parámetros que emplea ALGEBRA, Tabla.5.12. Además de la curva teórica con la cual se relaciona el valor de la pendiente y el tamaño del dispersor, Fig. 5.7,

$$a_{us} = - 4.225 m^2 + 7.932 m + 62.16 [\mu\text{m}]. \quad (5.2)$$

| Parámetro | Valor |
|---|-------------------------|
| $\alpha_{o,ref}$ [dB/cm-MHz] | 0.5711 |
| β_{ref} [cm ⁻¹ sr ⁻¹ MHz ^{-ν_r}] | 2.0299×10^{-6} |
| ν_{ref} | 3.6977 |
| c [m/s] | 1540 ± 10 |

Tabla 5.12: Parámetros acústicos del maniquí de referencia, para un ancho de banda de 2.55 MHz a 6 MHz.

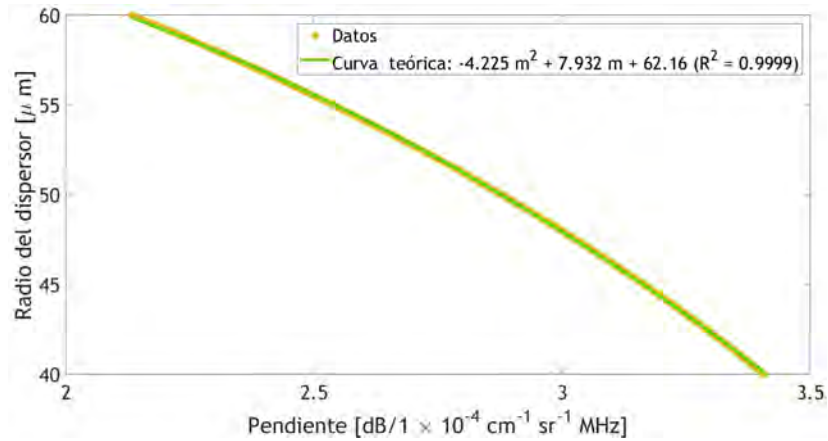


Fig. 5.7: Curva teórica que relaciona el valor de la pendiente con el radio del dispersor, para un ancho de banda de 2.55 MHz a 6 MHz.

En la Tabla.5.13 se presentan los valores estimados del radio para las potencias analizadas. En la Tabla.5.14, se presenta el valor máximo y mínimo que se obtuvo del radio promedio al modificar los valores de potencia, así como el intervalo en el que se encuentran las diferencias porcentuales entre la estimación por ultrasonido y el valor de referencia, $a_{ref} = 56.23 \mu\text{m}$ con un IC 95 % de $[54.61 \mu\text{m}, 57.85 \mu\text{m}]$.

| Esponja | 0.1 % | 0.2 % | 0.32 % | 0.5 % |
|----------|---|---|---|---|
| Amarilla | 36.99 μm [36.82 μm , 37.16 μm] | 41.37 μm [41.19 μm , 41.55 μm] | 41.21 μm [41.06 μm , 41.39 μm] | 48.35 μm [48.19 μm , 48.51 μm] |
| Morada | 47.82 μm [47.66 μm , 47.98 μm] | 48.46 μm [48.30 μm , 48.62 μm] | 51.41 μm [51.25 μm , 51.57 μm] | 46.37 μm [46.18 μm , 46.56 μm] |
| Naranja | 26.85 μm [25.66 μm , 27.04 μm] | 28.45 μm [28.26 μm , 28.64 μm] | 27.49 μm [27.30 μm , 27.68 μm] | 28.11 μm [27.92 μm , 28.30 μm] |
| Rojo | 34.30 μm [34.14 μm , 34.46 μm] | 38.11 μm [37.96 μm , 38.26 μm] | 36.11 μm [35.95 μm , 36.27 μm] | 41.43 μm [41.28 μm , 41.58 μm] |
| Verde | 40.67 μm [40.53 μm , 40.81 μm] | 42.74 μm [42.59 μm , 42.89 μm] | 43.97 μm [43.82 μm , 44.12 μm] | 46.13 μm [45.99 μm , 46.27 μm] |

Tabla 5.13: Estimación del radio promedio de los poros de la esponja (a_{us}) en un ancho de banda de 2.55 MHz a 6 MHz, diferentes potencias y una frecuencia nominal de emisión de 6 MHz, (media e IC 95 %).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

| | |
|--------------------|---|
| Potencia 0.1 % | <p>26.85 μm - 47.82 μm</p> <p>IC 95 %: [26.66 μm, 27.04 μm]; IC 95 %: [47.66 μm, 47.98 μm]</p> <p>Dif. medias respecto a a_{ref} 8.41 μm - 29.38 μm</p> <p>IC 95 %: [-2.71 μm, 19.53 μm]; IC 95 %: [16.17 μm, 42.59 μm]</p> <p>Dif. porcentual respecto a a_{ref} 14.95 % - 52.26 %</p> |
| Potencia 0.2 % | <p>28.45 μm - 48.46 μm</p> <p>IC 95 %: [28.26 μm, 28.64 μm]; IC 95 %: [48.30 μm, 48.62 μm]</p> <p>Dif. medias respecto a a_{ref} 7.77 μm - 27.78 μm</p> <p>IC 95 %: [-3.35 μm, 18.89 μm]; IC 95 %: [14.57 μm, 40.99 μm]</p> <p>Dif. porcentual respecto a a_{ref} 13.81 % - 49.41 %</p> |
| Potencia 0.32 % | <p>27.49 μm - 51.41 μm</p> <p>IC 95 %: [27.30 μm, 27.68μm]; IC 95 %: [51.25 μm, 51.57 μm]</p> <p>Dif. medias respecto a a_{ref} 4.82 μm - 28.74 μm</p> <p>IC 95 %: [-6.30 μm, 15.94 μm]; IC 95 %: [15.53 μm, 41.95 μm]</p> <p>Dif. porcentual respecto a a_{ref} 8.58 % - 51.11 %</p> |
| Potencia 0.5 % | <p>28.11 μm - 48.35 μm</p> <p>IC 95 %: [27.92 μm, 28.30 μm]; IC 95 %: [48.19 μm, 48.51 μm]</p> <p>Dif. medias respecto a a_{ref} 7.88 μm - 28.12 μm</p> <p>IC 95 %: [-3.24 μm, 19.00 μm]; IC 95 %: [14.91 μm, 41.33 μm]</p> <p>Dif. porcentual respecto a a_{ref} 14.02 % - 50.01 %</p> |

Tabla 5.14: Intervalos del radio promedio de los poros y su diferencia respecto del valor de referencia, para un ancho de banda de 2.55 MHz a 6 MHz, potencias acústicas de 0.1 %, 0.2 %, 0.32 % y 0.5 % y una frecuencia nominal de emisión de 6 MHz. (Dif.medias = $|a_{us} - a_{ref}|$); (Dif.porcentual = $\frac{|a_{us} - a_{ref}|}{a_{ref}} \cdot 100$).

De la Tabla.5.13, se tiene que para la esponja morada se obtienen los mayores valores del radio promedio estimados, mientras que para la esponja naranja se tienen los radios más pequeños. Además, no se observa ninguna tendencia a disminuir o aumentar el rango de diferencias porcentuales, cuando se emplean diferentes potencias.

Al igual que para los análisis previos, se realizaron pruebas estadísticas para evaluar si las medias obtenidas por ultrasonido eran iguales a la obtenida por microscopía, $H_0 : a_{ref} = a_{us,i}$. De la prueba de normalidad se obtuvo que para ninguna de las esponjas y potencias los datos siguen una distribución normal ($p < 0.05$). En cuanto al análisis de varianza se obtuvo que solo cuando se analiza la esponja morada a una potencia de 0.5 %, los datos no cumplen con la homogeneidad de las varianzas ($p < 0.05$), mientras que para todas las demás combinaciones se tiene una $p > 0.05$.

A pesar de que se cumplía la condición de homogeneidad y que la falta de normalidad no es una limitante para aplicar una prueba t-student, se decidió utilizar una prueba t-Welch, dado que la cantidad de datos en las dos muestras que se comparaban no eran similares. Los resultados de dicha prueba se presentan en la Tabla.5.15.

| Esponja | 0.1 % | 0.2 % | 0.32 % | 0.5 % |
|----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Amarilla | t = -23.14 $p < 0.05$ | t = -17.86 $p < 0.05$ | t = -18.05 $p < 0.05$ | t = -23.14 $p < 0.05$ |
| Morada | t = -10.12 $p < 0.05$ | t = -9.35 $p < 0.05$ | t = -5.81 $p < 0.05$ | t = -10.12 $p < 0.05$ |
| Naranja | t = -35.28 $p < 0.05$ | t = -33.35 $p < 0.05$ | t = -34.51 $p < 0.05$ | t = -35.28 $p < 0.05$ |
| Rojo | t = -26.39 $p < 0.05$ | t = -21.82 $p < 0.05$ | t = -24.64 $p < 0.05$ | t = -26.39 $p < 0.05$ |
| Verde | t = 18.75 $p < 0.05$ | t = 16.24 $p < 0.05$ | t = 14.76 $p < 0.05$ | t = 18.75 $p < 0.05$ |

Tabla 5.15: Resultados de la prueba estadística t-Welch.

De acuerdo con los resultados obtenidos en la Tabla.5.15, para ninguna de las esponjas y de las potencias se cumple que la estimación realizada por ultrasonido es igual a la del valor de referencia. Sin embargo, al analizar los valores de p , se tiene que para la esponja morada sus valores se acercan más al valor de significancia estadística ($\alpha = 0.05$), mientras que para la esponja naranja se obtienen los valores más lejanos.

Además de las pruebas de hipótesis, se estimaron los intervalos de confianza para la diferencia de las medias los cuales se muestran en la Tabla.5.16. Para la esponja morada los intervalos de confianza contienen al cero, por lo que existe la posibilidad de que la estimación de ultrasonido sea igual a la de referencia. Esto también sucede para la estimación realizada para la esponja amarilla a 0.5 %.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

| Esponja | 0.1 % | 0.2 % | 0.32 % | 0.5 % |
|----------|--|--|--|--|
| Amarilla | -19.24 μm [-31.06 μm , -7.42 μm] | -18.86 μm [-31.37 μm , -6.35 μm] | -15.02 μm [-27.53 μm , -2.51 μm] | -7.88 μm [-19.00 μm , 3.24 μm] |
| Morada | -8.41 μm [-19.53 μm , 2.71 μm] | -7.77 μm [-18.89 μm , 3.35 μm] | -8.58 μm [-19.70 μm , 2.54 μm] | -9.86 μm [-23.07 μm , 3.35 μm] |
| Naranja | -29.38 μm [-42.59 μm , -16.17 μm] | -27.78 μm [-40.99 μm , -14.57 μm] | -51.11 μm [-64.32 μm , -3.79 μm] | -28.12 μm [-41.33 μm , -14.91 μm] |
| Rojo | -21.93 μm [-33.05 μm , -10.81 μm] | -18.12 μm [-28.55 μm , -7.69 μm] | -35.79 μm [-46.91 μm , -24.67 μm] | -14.80 μm [-26.27 μm , -3.33 μm] |
| Verde | -15.56 μm [-25.29 μm , -5.83 μm] | -13.49 μm [-23.92 μm , -3.06 μm] | -21.81 μm [-32.24 μm , -11.38 μm] | -10.10 μm [-19.83 μm , -0.37 μm] |

Tabla 5.16: Intervalos de confianza para la diferencia de las medias, $a_{us} - a_{ref}$ e IC 95%.

En la Fig.5.8, se comparan las estimaciones realizadas para todas las potencias y esponjas. A partir de la Fig.5.8, se tiene que para una misma esponja analizada a diferentes potencias hay una variación en el tamaño estimado. Aunado a esto, solo para tres de las cinco esponjas, se observa que el orden en que la estimación del tamaño de poro se aleja más del valor esperado es el siguiente: 0.5 % (mejor estimación), 100 %, 0.32 %, 0.2 % y 0.1 % (peor estimación). Una posible hipótesis de por qué a bajas potencias no se tiene una buena estimación, es que el cociente señal a ruido es bajo, por lo que existe una pérdida de información.

El hecho de que a 0.5 %, que es el umbral de potencia donde se comienzan a presentar armónicos, se genere la mejor estimación podría ser un indicador de que a mayor potencia menor sesgo. Por lo que la presencia de armónicos ayudaría en la estimación del tamaño. Sin embargo, dado que a 100 % donde la presencia de armónicos es máxima se obtiene una estimación más alejada, esto podría indicar que existe una potencia a partir de la cual la exactitud de la estimación comienza a disminuir. No obstante, para comprobar esta teoría se tendría que estimar el tamaño de poro a potencias mayores que 0.5 % y evaluar si existe tal efecto.

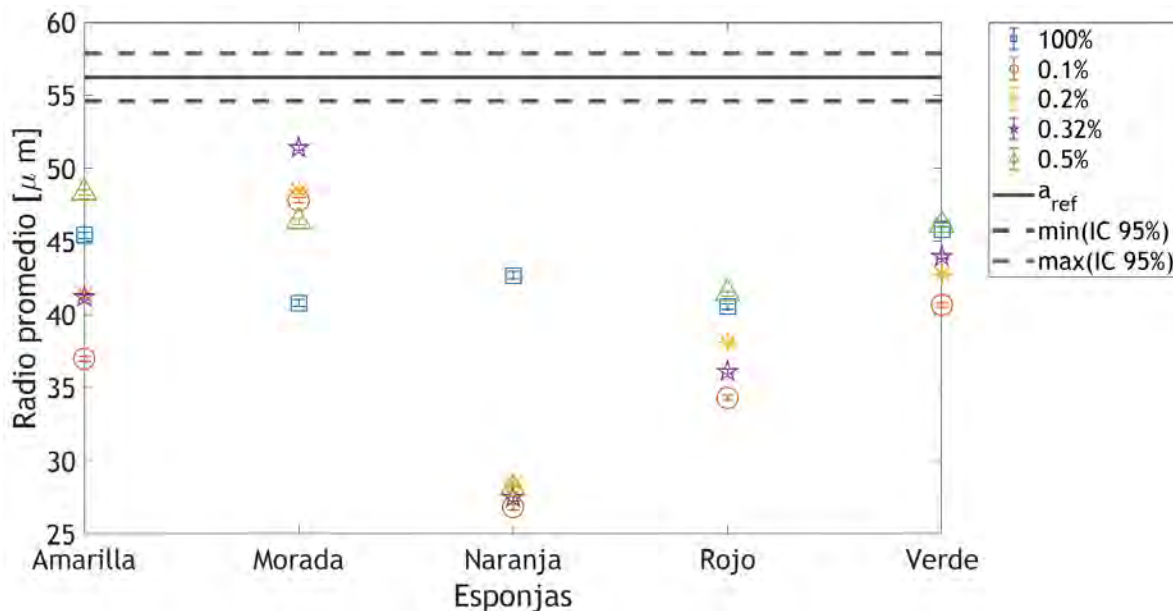


Fig. 5.8: Comparación de los radios estimados para diferentes potencias y esponjas.

Además, una diferencia que existe entre los espectros obtenidos para 0.5 % y 100 %, es que para el 100 %, el espectro de referencia también muestra la presencia de armónicos, Fig.5.9b), mientras que a 0.5 %, el espectro no presenta esta contribución, Fig.5.9a). Por lo que debe ser evaluada la contribución que tienen los armónicos del maniquí de referencia en la estimación del tamaño de los dispersores.

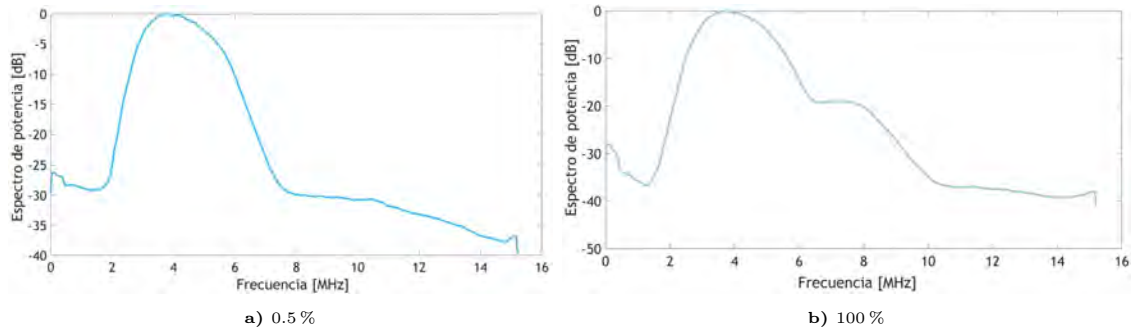


Fig. 5.9: Espectros de potencia del maniquí de referencia.

A 100 % se tiene una estimación del tamaño de poro más uniforme sin importar qué esponja se esté analizando, puesto que se tiene una desviación estándar de $2.15 \mu\text{m}$. Mientras que para 0.32 % se tiene la mayor dispersión en el valor de los radios, dado que la desviación estándar es de $8.93 \mu\text{m}$. Finalmente, para 0.5 % que corresponde a la potencia en la que se tiene una mejor estimación del tamaño, la dispersión de valores es alta, ya que la desviación estándar es de 8.21.

En lo que respecta al hecho de que entre esponjas se obtengan diferentes valores para una misma potencia, nos está indicando que nuestros maniquíes a pesar de estar constituidos del mismo material, tienen variaciones. Las cuales pueden asociarse, a su fabricación, a la cantidad de aire o motas de polvo que cada una contenía, o modificaciones que sufrió en su estructura durante las evaluaciones. Esto último podría ser muy notorio para la esponja naranja que es la única para la cual después de la evaluación del 100 %, estimó valores mucho menores para bajas potencias.

Si se descartara la esponja naranja, para todas las potencias evaluadas, puesto que la dispersión de sus valores presenta un comportamiento atípico respecto de las otras esponjas, se tiene que los nuevos intervalos de diferencias porcentuales serían los siguientes:

| Potencia 0.1 % | Potencia 0.2 % | Potencia 0.32 % | Potencia 0.5 % | Potencia 100 % |
|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
| 8.41 % a 21.93 % | 7.77 % a 18.12 % | 4.82 % a 20.12 % | 7.88 % a 14.80 % | 18.80 % a 27.88 % |

Tabla 5.17: Diferencias porcentuales del valor de ultrasonido respecto al valor de referencia, sin considerar la esponja naranja.

Al no considerar la esponja naranja debido a su comportamiento atípico mostrado en la Fig.5.8, se tiene que los intervalos de diferencias porcentuales se reducen considerablemente, Tabla.5.17. De acuerdo con la literatura [121]⁴, la diferencia porcentual máxima reportada para la estimación del tamaño de dispersores esféricos mediante ultrasonido es del 20 %, por lo que al

⁴Las esferas analizadas en [122] corresponden a esferas de vidrio en agar y esferas de poliestireno en agar.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

comparar nuestros resultados con los de la literatura, nos hemos alejado de ese intervalo en no más de un 8 %.

Hasta el momento solo se ha analizado que a 6 MHz se tiene una propagación no lineal, puesto que se observa la presencia del segundo armónico. Sin embargo, aunque para 9 MHz y 12 MHz, no se presenta este segundo pico, esto no quiere decir que no exista la posibilidad de que también se tenga una propagación no lineal y que la presencia de armónicos no sea visible debido a que este fenómeno compite con la atenuación. Por ello, se decidieron adquirir datos para dichas frecuencias para diferentes valores de potencia, Fig.5.10.

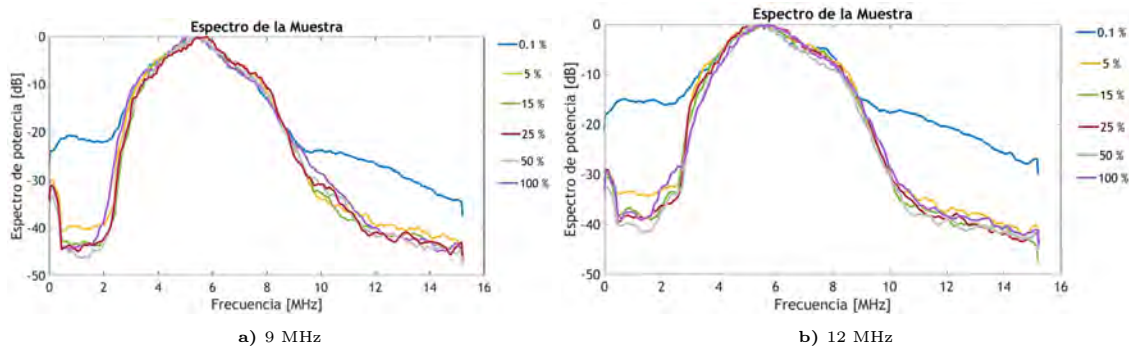


Fig. 5.10: Espectros de potencia para la esponja de melanina a diferentes potencias acústicas, para una frecuencia nominal de emisión de 9 MHz y 12 MHz.

En el caso de que existiera una propagación no lineal lo que se esperaría observar es que la amplitud del pico central disminuye conforme la potencia aumenta, lo que indicaría que parte de la energía está siendo transferida a componentes de alta frecuencia [28], como se observa en los espectros de 6 MHz. Sin embargo, cabe recordar que cuando una onda se propaga en el medio también sufre pérdidas debido al fenómeno de atenuación. Por lo que si la atenuación fuera grande y a su vez se tuviera presencia de armónicos, la onda regresaría a su comportamiento lineal pero con menor energía ya que parte de esta se transfiere a las componentes de alta frecuencia que son atenuadas [28].

De la Fig.5.10, se tiene que para ninguna de las dos frecuencias se observa algún cambio significativo en la amplitud de los espectros, por lo que se puede concluir que para estas frecuencias no se presenta propagación no lineal.

Por otro lado, para la potencia de 0.1 %, se observa que la señal tiene un coeficiente señal a ruido bajo por lo que las amplitudes del ruido y la señal son comparables, siendo este efecto más evidente a 12 MHz.

Finalmente, aunque se obtuvieron algunos resultados alentadores para la técnica propuesta (6 MHz), aún se deben realizar evaluaciones más rigurosas acerca de si la presencia de armónicos en los espectros de potencia influyen en la estimación del tamaño de los dispersores. De igual forma, es necesario realizar un análisis sobre la atenuación, con la finalidad de obtener mayor información de la frecuencia con la que se está incidiendo sobre los dispersores y de esta forma

Además de que el método empleado para la estimación del tamaño de los dispersores difiere del utilizado en esta tesis.

evaluar si se está cumpliendo el criterio de $0.5 < ka < 1.2$ para la frecuencia de 6 MHz. Aunado a esto, también sería relevante llevar a cabo estimaciones a frecuencias nominales menores a 6 MHz con el objetivo de estar en el rango de valores esperados para ka . Así como evaluar si a esas frecuencias también se presentan armónicos o no y cómo esto influye en la estimación.

Conclusiones

El objetivo de este trabajo fue implementar y validar la técnica de microscopía por retrodispersión ultrasónica para la estimación del tamaño de los dispersores que se encontraban en un maniquí con una morfología similar al pulmón. Con la finalidad de realizar una primera aproximación para evaluar si la técnica permite estimar el tamaño de los alvéolos y de esta forma comenzar a caracterizar la estructura del pulmón fetal.

Lo primero que se hizo fue elegir un material que simulara las características morfológicas del tejido pulmonar en la etapa fetal, para posteriormente realizar una caracterización del mismo con una técnica independiente. Esta estrategia permitió obtener un valor de referencia con el cual evaluar el sesgo de las estimaciones realizadas por ultrasonido.

En lo que respecta al material que se seleccionó para el maniquí con morfología similar al pulmón, si bien este se ha empleado en otros estudios en los cuales se evalúan características del pulmón por ultrasonido, se observó que se tiene ciertas limitantes, la primera de ellas es que a pesar de que se emplearon esponjas comerciales de un mismo lote, los resultados obtenidos muestran que puede llegar a existir una diferencia significativa entre los tamaños de los poros de cada esponja. Por lo que una de las alternativas sería obtener imágenes SEM de las mismas esponjas de las cuales se realiza la caracterización ultrasónica; mientras que otra sería fabricar nuestras propias esponjas, para tener mayor certeza acerca de esta característica.

También se observó que a pesar de que de al momento sumergirlas en agua se buscaba eliminar todas las burbujas de aire, durante este proceso además de que no se eliminaban en su totalidad, también se introducía basura a las esponjas y de igual forma debido a sus características, era muy fácil que se quedaran motas de polvo en ellas. Lo anterior pudo ser una componente adicional en el sesgo de las mediciones. Aunado a esto, la estructura que presentan las esponjas no es de un material homogéneo con dispersores esféricos distribuidos aleatoriamente. Sino que es un medio homogéneo dado por el agua que contenían, con una red de dispersores (red de los poros), por lo que nuestro modelo computacional puede no estar estimando de manera adecuada las características del medio, dado que esta programado con un modelo diferente.

Debido al último punto mencionado, es que se propone que se realice un maniquí a base de agar con microsferas, dado que de esta forma el maniquí tendría condiciones más cercanas a las que se están simulando y permitiría evaluar de manera más objetiva el sesgo en las estimaciones debido al método utilizado para la estimación del tamaño. Además de que de esta forma se

tendrían maniqués más uniformes que con las esponjas, puesto que en estas últimas se tienen variaciones en las características entre adquisiciones sucesivas ya que las burbujas y las motas de polvo se desplazan en ellas puesto que están sumergidas en agua.

En lo que respecta a la caracterización de las esponjas por SEM, se identificó que la toma de muestras debe ser más selectiva de manera que se tengan laminillas lo más delgadas posibles, para evitar efectos de perspectiva al momento de identificar los poros. De igual forma, es necesario encontrar un método más eficiente para el contorno de los poros, puesto que existe una componente de variación inter-operador en las estimaciones realizadas.

En lo que se refiere a la evaluación del sesgo en la estimación del tamaño de los dispersores mediante la técnica de ultrasonido, se obtuvo que las mejores estimaciones se realizan a una frecuencia nominal de 6 MHz y un porcentaje de potencia acústica de 0.5 %.

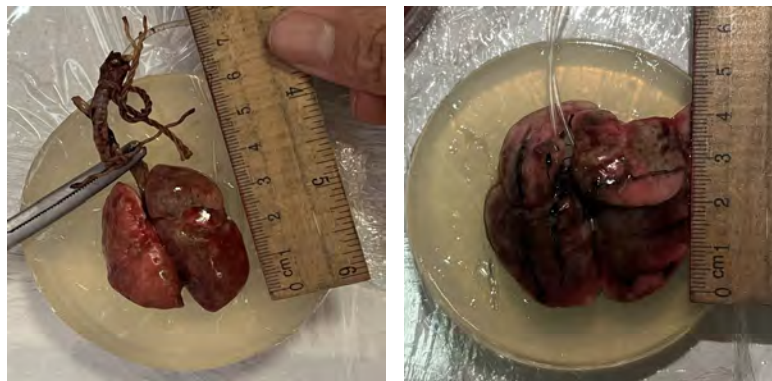
Al evaluar la máxima diferencia porcentual que se tiene respecto al valor de referencia cuando se analizan cuatro esponjas a potencias de 0.1 %, 0.2 %, 0.32 %, 0.5 % y 100 %, esta se encuentra 8 % por arriba de la diferencia máxima reportada en la literatura para la estimación del tamaño de dispersores esféricos. En lo que se refiere a las pruebas de hipótesis para evaluar si las medias obtenidas eran iguales, los resultados expresan que existen diferencias significativas entre ambas estimaciones, ($p < 0.05$).

A pesar de que se obtuvieron algunos resultados alentadores para la técnica propuesta, aún se deben realizar mejoras con la finalidad de reducir el sesgo en las estimaciones y de esta forma obtener diferencias porcentuales menores al 20 %, que es el valor máximo reportado en la literatura.

A.1. Tejido biológico

Rata/Cobayo

La segunda parte del proyecto corresponde a la estandarización del proceso de adquisición de las señales de radiofrecuencia en tejido biológico. Para ello se realizan pruebas en tejido pulmonar de rata o cobaya, Fig.A.1. La adquisición de los datos se realiza como parte del protocolo de investigación "*Caracterización cuantitativa de la microestructura pulmonar fetal a través de la espectroscopía por retrodispersión ultrasónica: Estudio piloto*", el cual fue aprobado por el comité de ética e investigación del Instituto Nacional de Perinatología (INPer) con número de registro 2022-1-31. Las muestras de pulmón fueron proporcionadas por el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la UNAM. Las características del proceso de extracción y preparación de estas muestras forman parte de la tesis de la Méd. Yubia Amaya Guel.



a) Estructura pulmonar de rata.

b) Estructura pulmonar de cobaya.

Fig. A.1: Tejido pulmonar de rata.

Una vez que la estructura pulmonar fue extraída, se llenaron los pulmones de líquido (Formaldehído al 10%) y se hizo una sutura en la estructura traqueal para evitar que este se saliera durante el proceso de la adquisición de datos. El objetivo de llenarlos de líquido es replicar

la composición de los pulmones fetales. Aunado a esto, se hicieron marcas con tinta china en el tejido para indicar las posiciones en las cuales se realizará la adquisición de las señales de radiofrecuencia, Fig.A.2. De los planos seleccionados, enl número 3 corresponde al corte que se debe realizar para el análisis que lleva a cabo quantusFLM[®].

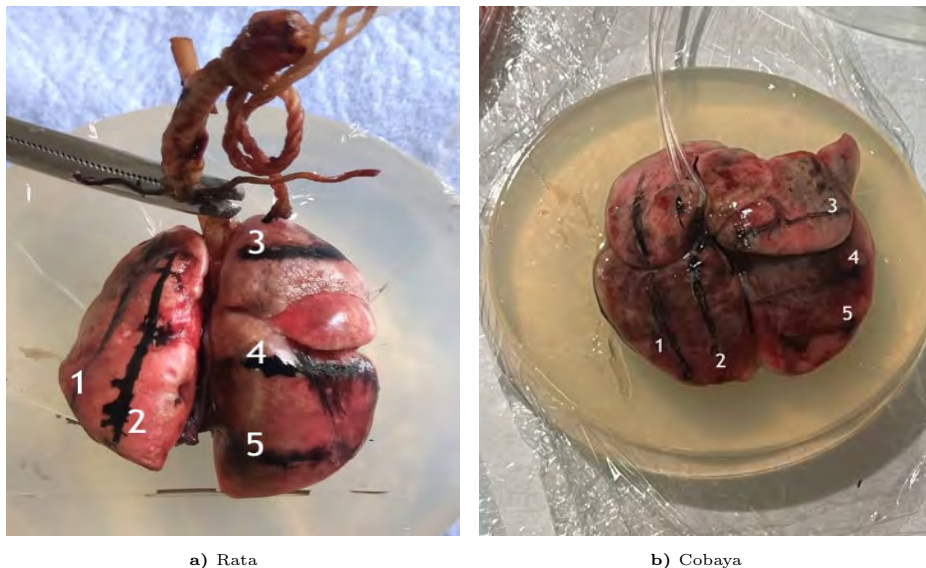


Fig. A.2: Marcas con tinta china en la estructura pulmonar.

Para la adquisición de las señales de radiofrecuencia se empleó el equipo *Verasonics Vantage 128* (*Verasonic, Kirkland, WA*) y los transductores lineales L11-5v y L35-16vX, el cual se encuentra en el Instituto de Física de la UNAM, Fig.A.3 .



Fig. A.3: Adquisición de las señales de RF.

A partir de las imágenes en modo B, se ha revisado que el tejido pulmonar se encuentre completamente lleno de agua. En la Fig.A.4, se puede apreciar que en la región 1 se tiene una imagen generada por un pulmón que contiene agua, mientras que del lado 2, se aprecian

reverberaciones de los ecos (flechas blancas), lo cual es un indicador de que el pulmón tiene aire en su interior.

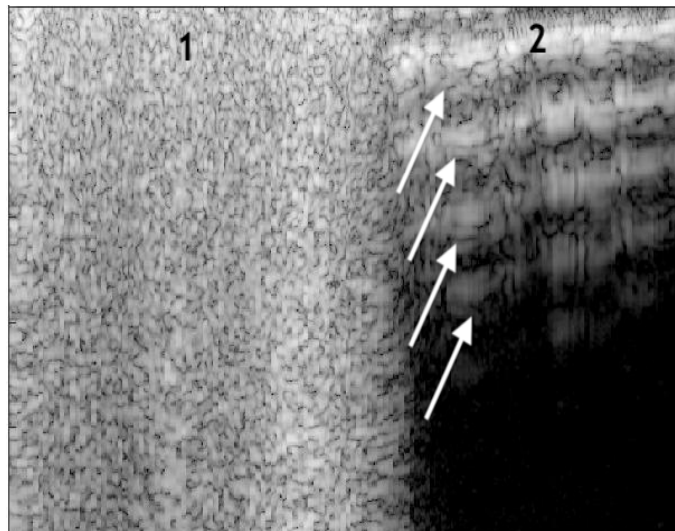


Fig. A.4: Imagen en modo B de tejido pulmonar, lleno de agua (1) y con aire (2).

Una vez que las señales fueron adquiridas, los pulmones fueron enviados al equipo de patología del INPer con el objetivo de que ellos realicen un análisis histológico de las mismas y proporcionen una estimación del tamaño de la estructura alveolar mediante una técnica independiente del ultrasonido, Fig.A.5.

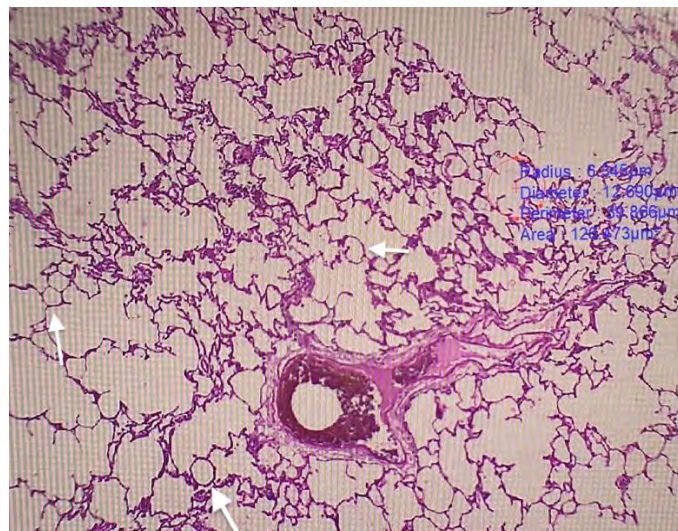


Fig. A.5: Imagen por microscopía óptica del tejido pulmonar de rata con tinción de hematoxilina y eosina con un aumento de 10x. Con flechas blancas se señalan algunas estructuras alveolares.

A.2. Volumen de dispersión

Para la estimación del volumen de dispersión (V_s), se deben conocer los siguientes tres parámetros:

- 1.- El ancho del haz en la dirección lateral,
- 2.- La profundidad de foco (depth of focus),
- 3.- La altura de los elementos piezoeléctricos.

Los primeros dos puntos se estimaron a través de la simulación del campo de presión utilizando el software Field II [124] [125]. Para la simulación del campo de presión primero se definieron los parámetros del transductor que generará el campo de interés.

Posteriormente, se tuvo que definir como se quería discretizar la apertura del transductor para que el software realizara los cálculos correspondientes para la estimación del campo (Fig.A.6, región verde).

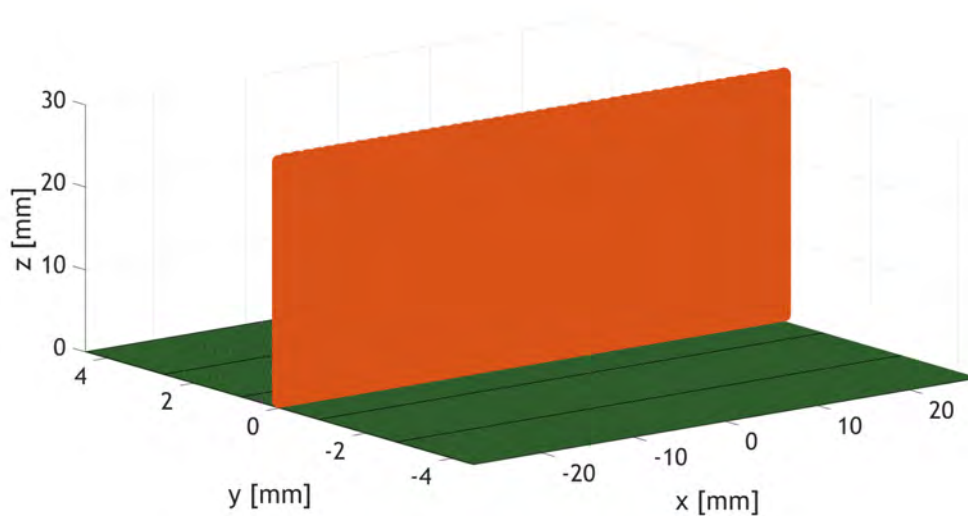


Fig. A.6: Transductor y plano de puntos de observación

Seguido de esto se definió el plano en el cual se deseaba conocer el valor del campo de presión. En este caso el plano seleccionado se construyó desde -27.5 mm a 27.5 mm en la dirección lateral y de 0.9 mm a 30 mm en la dirección axial, Fig.A.6, región anaranjada.

Una vez definido el transductor y el plano de puntos de observación, se empleó la función *calc_hp*, para la estimación del campo de presión. En la Fig. A.7, se presenta el campo de presión incidente sobre el plano de medición, dicho campo de presión está expresado en escala decibel,

$$P[\text{dB}] = 20 \log_{10} \left(\frac{P}{P_{\text{ref}}} \right) \quad (\text{A.1})$$

A.2 Volumen de dispersión

donde P corresponde al valor de la presión medida en el punto de interés, mientras P_{ref} , se refiere a la presión de referencia, que en este caso fue la presión máxima.

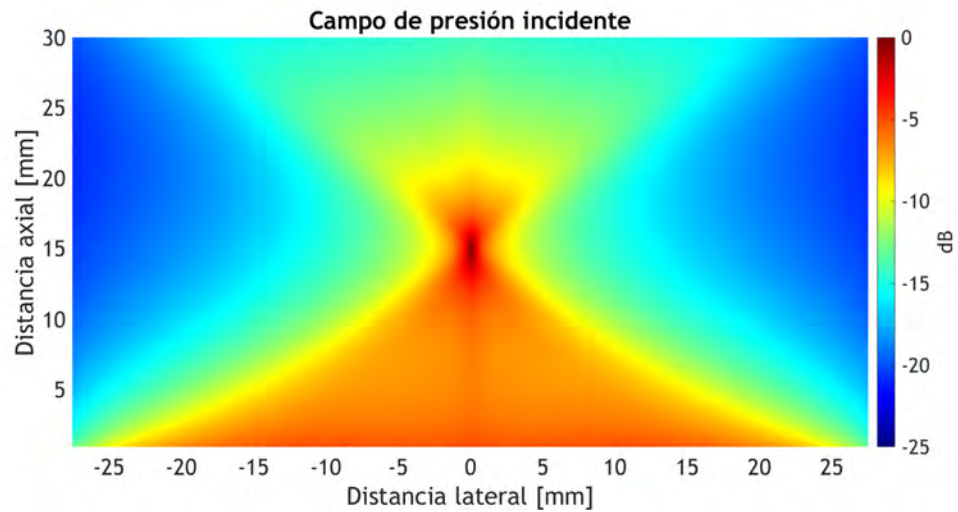


Fig. A.7: Campo de presión incidente

Ahora que se conoce el campo de presión, para determinar la longitud del volumen (dirección lateral), lo que se hizo fue obtener el perfil del haz a lo largo de la dirección lateral a una profundidad de 1.5 cm, que corresponde con el punto focal del haz. Una vez que se obtuvo dicho perfil se determinó la anchura a media altura o FWHM. Para ello se midió la distancia lateral que existía entre los dos puntos del perfil cuya magnitud correspondía a -6 dB. Esto debido a que dicho valor representa una disminución de la mitad en el valor de la magnitud de la presión del campo incidente, Fig.A.8.

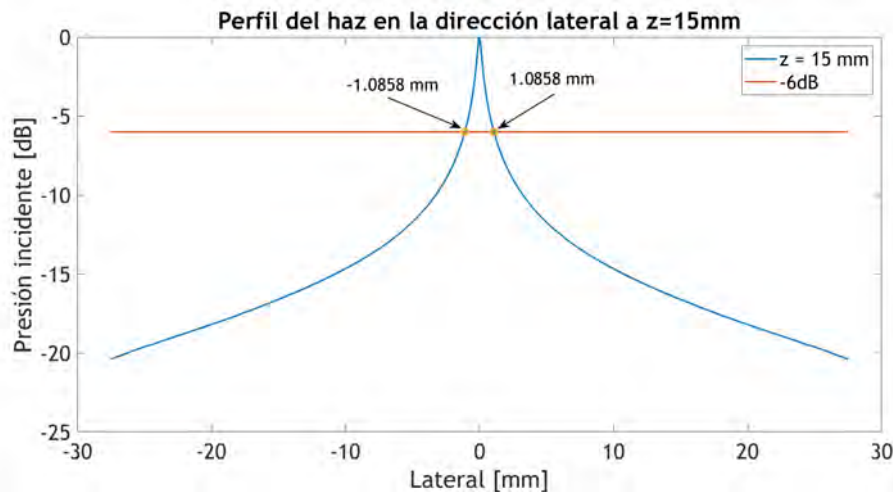


Fig. A.8: Perfil lateral del haz en el punto focal

Para determinar el ancho de dicho volumen, es decir, su magnitud en la dirección axial, se buscó determinar la profundidad de foco. Para ello, lo que se hizo fue obtener los perfiles del

haz a lo largo de la dirección lateral a diferentes profundidades por debajo y por encima de la profundidad a la cual se encontraba el foco. Y se determinó la profundidad mínima y máxima para las cuales el valor del ancho del haz difería en un valor menor al 10% del ancho del haz obtenido en la zona focal, Fig.A.9.

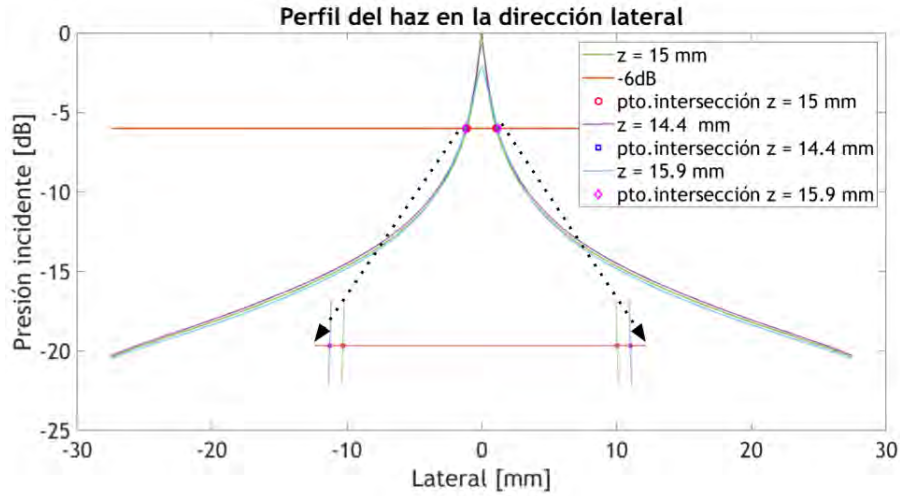


Fig. A.9: Determinación de la profundidad de foco

Finalmente, en la Tabla.A.1, se resumen las dimensiones del volumen de dispersión para el transductor 12L4, enfocado a 1.5 cm de profundidad.

| Parámetro | Valor |
|---|-----------------------|
| Ancho del haz (dirección lateral) [mm] | 2.17 |
| Profundidad de foco (dirección axial) [mm] | 1.46 |
| Altura del elemento piezoeléctrico (dirección elevacional) [mm] | 9 |
| Volumen de dispersión [cm ³] | 2.85×10^{-2} |

Tabla A.1: Dimensiones del volumen de dispersión para el transductor 12L4, cuando el foco se encuentra situado a 1.5 cm de profundidad.

A.3. Imágenes SEM

En esta sección se presentan las imágenes de microscopía contorneadas por los tres individuos. A partir de las cuales, se realizó la estimación del tamaño de referencia para los poros de la esponja de melamina.

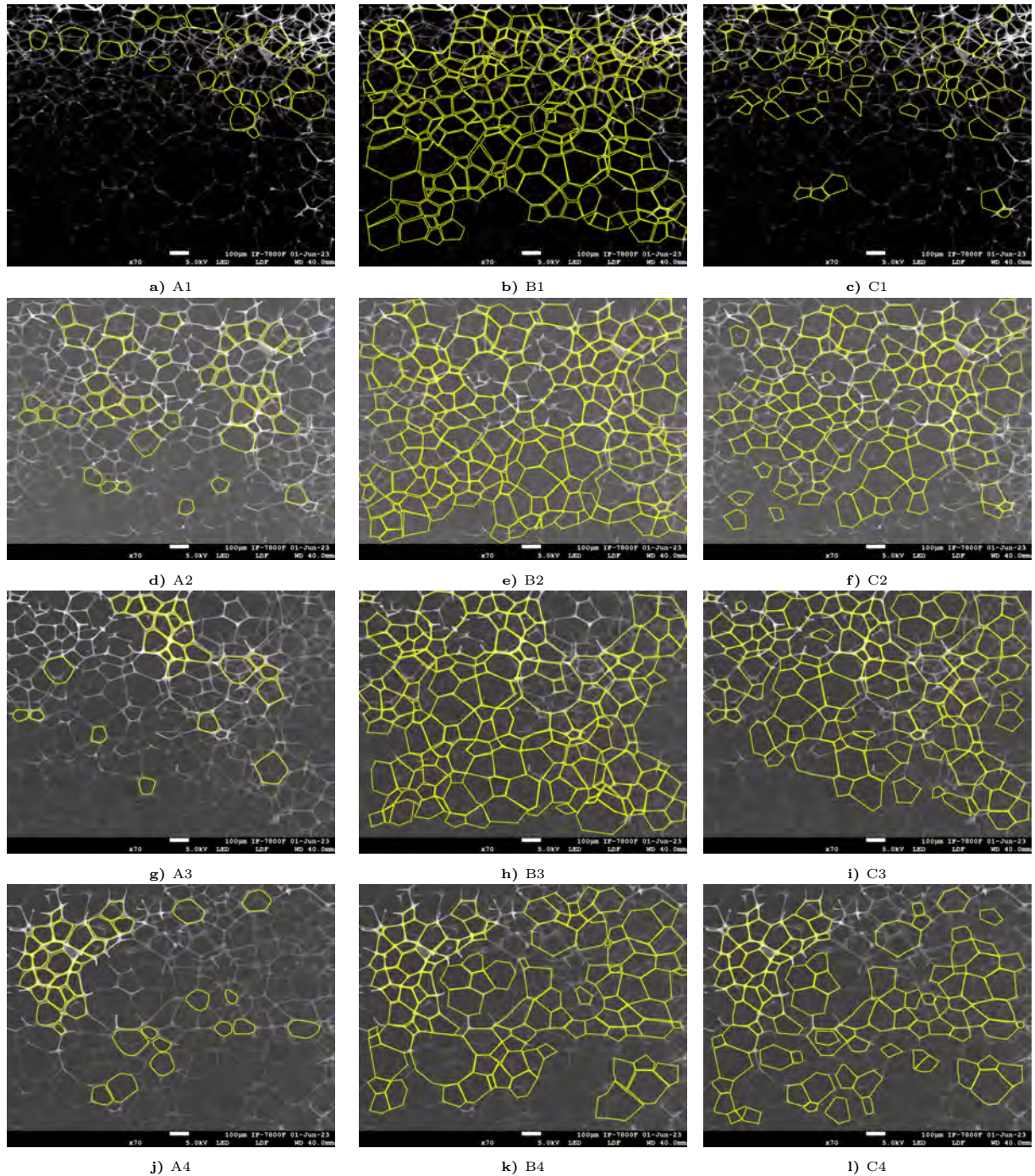


Fig. A.10: Poros identificados en las imágenes de microscopía, por los operadores A, B y C.

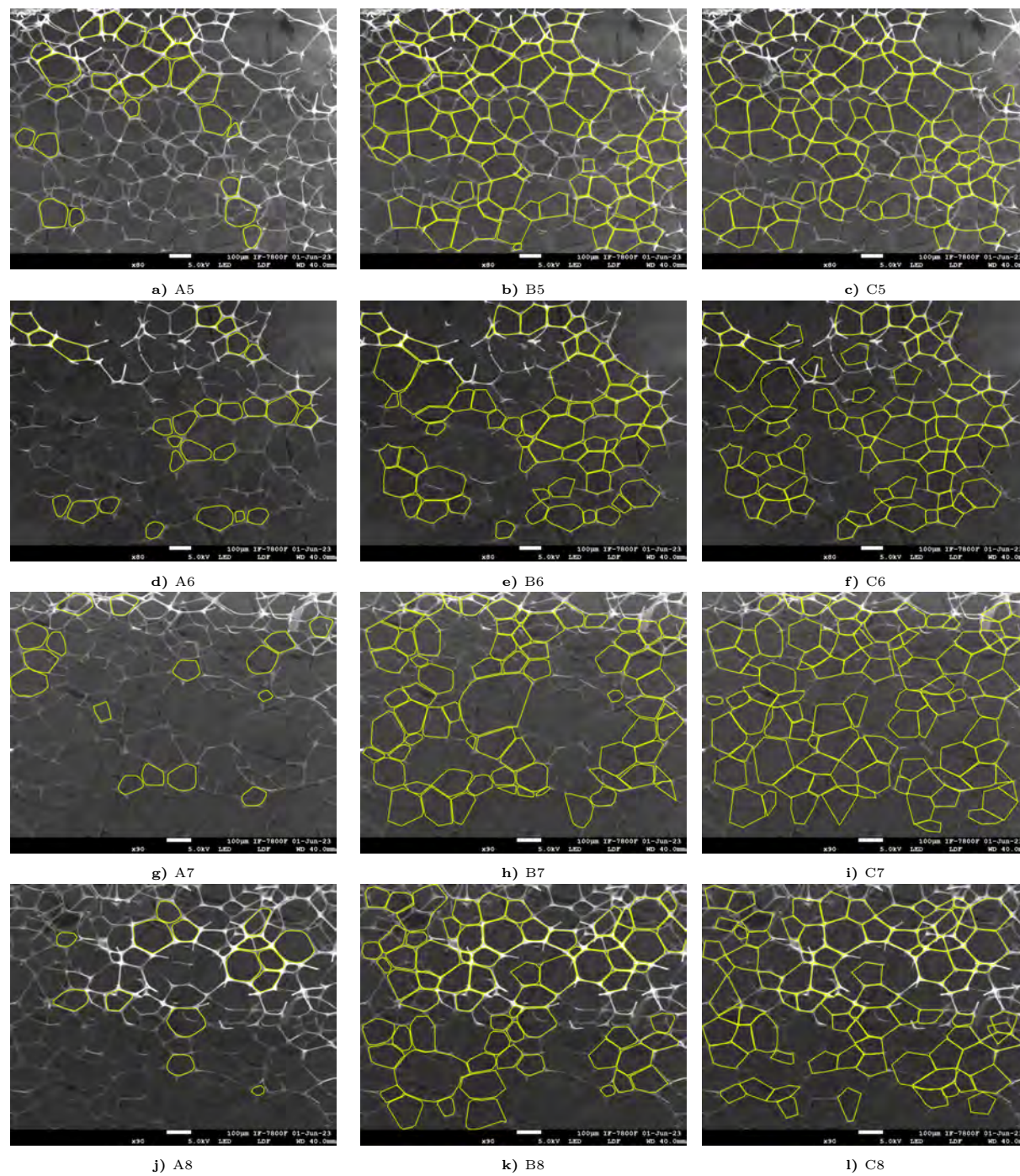


Fig. A.11: Segunda parte. Poros identificados en las imágenes de microscopía, por los operadores A, B y C.

A.3 Imágenes SEM

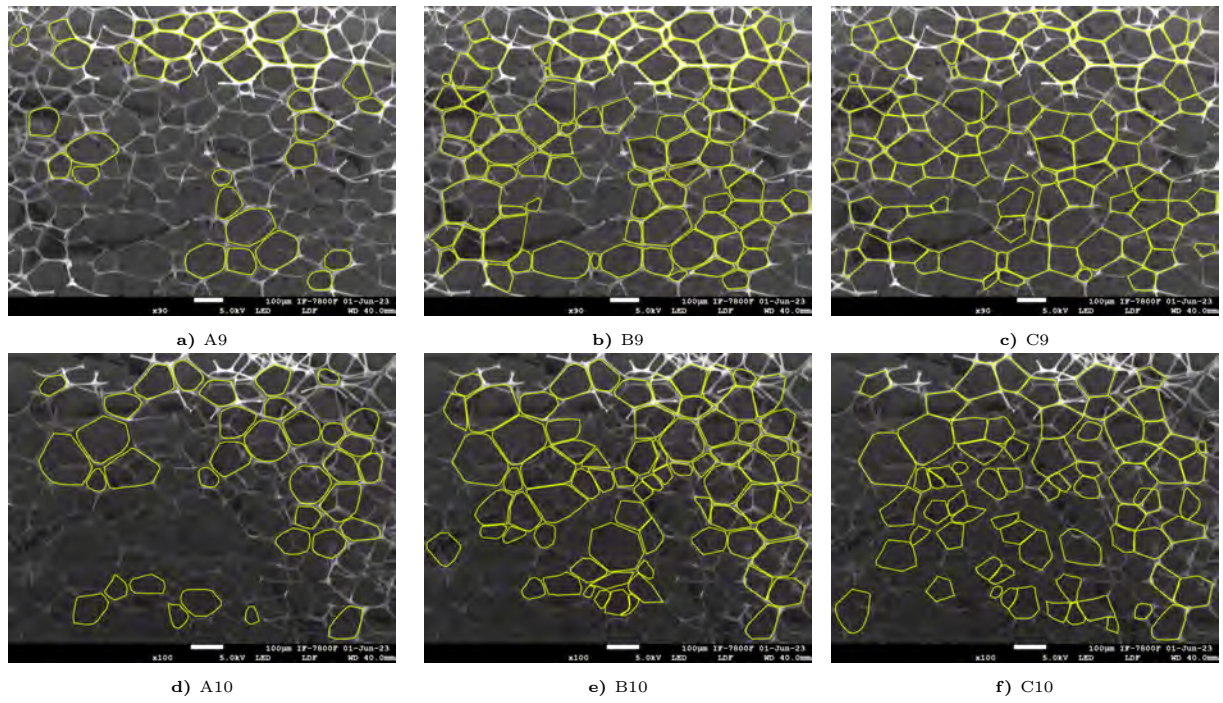


Fig. A.12: Tercera parte. Poros identificados en las imágenes de microscopía, por los operadores A, B y C.

A.4. Relación ka

En la Fig. A.13, se presenta una tabla con los diferentes valores de frecuencia con los que se cumple la relación de $0.5 < ka < 1.2$, para dispersores esféricos con distintos radios.

| ka | Radio del dispersor esférico [μm] | | | | | | | | | | | |
|------------------|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 4,5 | 10,0 | 15,0 | 20,0 | 25,0 | 30,0 | 35,0 | 40,0 | 45,0 | 46,8 | 49,0 | 56,23 |
| 0,1 | 5,45 | 2,45 | 1,63 | 1,23 | 0,98 | 0,82 | 0,70 | 0,61 | 0,54 | 0,52 | 0,50 | 0,44 |
| 0,2 | 10,89 | 4,90 | 3,27 | 2,45 | 1,96 | 1,63 | 1,40 | 1,23 | 1,09 | 1,05 | 1,00 | 0,87 |
| 0,3 | 16,34 | 7,35 | 4,90 | 3,68 | 2,94 | 2,45 | 2,10 | 1,84 | 1,63 | 1,57 | 1,50 | 1,31 |
| 0,4 | 21,79 | 9,80 | 6,54 | 4,90 | 3,92 | 3,27 | 2,80 | 2,45 | 2,18 | 2,09 | 2,00 | 1,74 |
| 0,5 | 27,23 | 12,25 | 8,17 | 6,13 | 4,90 | 4,08 | 3,50 | 3,06 | 2,72 | 2,62 | 2,50 | 2,18 |
| 0,7 | 38,13 | 17,16 | 11,44 | 8,58 | 6,86 | 5,72 | 4,90 | 4,29 | 3,81 | 3,67 | 3,50 | 3,05 |
| 0,9 | 49,02 | 22,06 | 14,71 | 11,03 | 8,82 | 7,35 | 6,30 | 5,51 | 4,90 | 4,71 | 4,50 | 3,92 |
| 1 | 54,47 | 24,51 | 16,34 | 12,25 | 9,80 | 8,17 | 7,00 | 6,13 | 5,45 | 5,24 | 5,00 | 4,36 |
| 1,1 | 59,91 | 26,96 | 17,97 | 13,48 | 10,78 | 8,99 | 7,70 | 6,74 | 5,99 | 5,76 | 5,50 | 4,79 |
| 1,2 | 65,36 | 29,41 | 19,61 | 14,71 | 11,76 | 9,80 | 8,40 | 7,35 | 6,54 | 6,28 | 6,00 | 5,23 |
| 2 | 108,93 | 49,02 | 32,68 | 24,51 | 19,61 | 16,34 | 14,01 | 12,25 | 10,89 | 10,47 | 10,00 | 8,72 |
| 3 | 163,40 | 73,53 | 49,02 | 36,76 | 29,41 | 24,51 | 21,01 | 18,38 | 16,34 | 15,71 | 15,01 | 13,08 |
| Frecuencia [MHz] | | | | | | | | | | | | |
| f(mín) | 27,23 | 12,25 | 8,17 | 6,13 | 4,90 | 4,08 | 3,50 | 3,06 | 2,72 | 2,62 | 2,50 | 2,18 |
| f(máx) | 65,36 | 29,41 | 19,61 | 14,71 | 11,76 | 9,80 | 8,40 | 7,35 | 6,54 | 6,28 | 6,00 | 5,23 |

Fig. A.13: Valores de la frecuencia incidente para diferentes radios de dispersores esféricos como función de los valores de ka . En un rectángulo negro se encuentra resaltada la región de valores de frecuencia que son de interés para la estimación del tamaño del dispersor, puesto que cumple con el criterio establecido para ka [80]. Mientras que $f(\text{mín})$ y $f(\text{máx})$, representan los valores de la frecuencia mínima y máxima, respectivamente, que cumplen con la relación de ka para diferentes radios del dispersor.

Bibliografía

- [1] Enfermedad pulmonar crónica en bebés prematuros. Standford Medicine Children's Health, <https://europeanlung.org/es/information-hub/lung-conditions/los-nacimientos-prematuros-y-los-pulmones/>. Accedido en noviembre de 2023 (citado en la pág. 1).
- [2] Los nacimientos prematuros y los pulmones. European Lung Foundation (ELF), <https://europeanlung.org/es/information-hub/lung-conditions/los-nacimientos-prematuros-y-los-pulmones/>, abr. de 2023. Accedido en noviembre de 2023 (citado en la pág. 1).
- [3] J. Greenberg, B Haberman, V Narendran, A. Nathan y K Schibler. Neonatal morbidities of prenatal and perinatal origin. *Creasy and Resnik's Maternal-Fetal Medicine: Principles and Practice, 8th Edition. Philadelphia: Elseiver:1309-33*, 2018 (citado en la pág. 1).
- [4] J. Pérez-Rodríguez y D. Elorza. Dificultad respiratoria en el recién nacido. *An Pediatr Contin*, **1**(2):57-66, 2003 (citado en la pág. 1).
- [5] M. Huamán Guerrero y A. Sosa Olavarría. Madurez pulmonar fetal: evaluación ecográfica, ¿es confiable? *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*, **61**(4):427-432, 2015 (citado en las págs. 1, 6, 7).
- [6] A. I. Ruiz-Parra, L. Muñoz y L. Ome. Composición del surfactante, Desarrollo Pulmonara y Pruebas de Maduración en el Feto. *Medicina*, **32**(1):47-59, 2010 (citado en las págs. 1, 5, 6).
- [7] M Forcada-Falcón, C Carral-Sutil, E Baños-Álvarez, A. Carlos-Gil, M. Rosario-Lozano y T Molina-López. Prueba no invasiva de madurez pulmonar fetal. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía. Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías Sanitarias y Prestaciones del SNS, 2017 (citado en las págs. 1, 5-7, 9).
- [8] J. Ramírez. Fisiología fetal. *Valencia. Obtenido de www.uv.es/passats*, 2002 (citado en la pág. 1).
- [9] F. W. Castro López, Y. Labarrere Cruz, G. González Hernández e Y. Barrios Rentería. Factores de riesgo del Síndrome Dificultad Respiratoria de origen pulmonar en el recién nacido. *Revista Cubana de Enfermería*, **23**(3):0-0, 2007 (citado en la pág. 1).
- [10] C. L. Skelly, H. Zulfiqar y S. Sankararaman. Meconium, 2019 (citado en la pág. 1).
- [11] D. Mancilla, R. Ávila, D. Ibarra, D. Olivares, N. Velázquez, M. Villa, R. Villegas y J. Yunes. *PAC Neonatología 4. Insuficiencia respiratoria neonatal*. Federación Nacional de Neonatología de México, A.C., 2016 (citado en las págs. 1, 2).
- [12] J. C. Schittny. Development of the lung. *Cell and tissue research*, **367**:427-444, 2017 (citado en la pág. 2).

- [13] E. Bonet-Carne, M Palacio, T Cobo, A Perez-Moreno, M Lopez, J. Piraquive, J. Ramirez, F Botet, F Marques y E Gratacos. Quantitative ultrasound texture analysis of fetal lungs to predict neonatal respiratory morbidity. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, **45**(4):427-433, 2015 (citado en las págs. 2, 8, 9).
- [14] S. Rehman y D. Bacha. Embryology, pulmonary, 2019 (citado en las págs. 2-4).
- [15] C Briceño-Pérez. Maduración pulmonar fetal. *Prevención exitosa de complicaciones y muertes perinatales. Primera edición. Caracas: Amolca*, 2008 (citado en las págs. 2, 3).
- [16] MedEssence. Árbol bronquial anatomía. uDocz,<https://www.udocz.com/apuntes/98931/arbol-bronquial-anatomia>). Accedido en mayo 2022 (citado en la pág. 3).
- [17] J. L. de Heredia Goya y A. V. i Soler. Síndrome de dificultad respiratoria, Hospital de Cruces. Barakaldo, ON Line Asociación Española de Pediatría, 2010 (citado en la pág. 3).
- [18] D. Morales-Barquet, E. Reyna-Ríos, G Cordero-González, G Arreola-Ramírez, J Flores-Ortega, C Valencia-Contreras, L. Fernández-Carrocera y R Villegas-Silva. Protocolo clínico de atención en el recién nacido con síndrome de dificultad respiratoria. *Perinatología y reproducción humana*, **29**(4):168-179, 2015 (citado en la pág. 3).
- [19] J Ramos. Morbimortalidad en recién nacidos prematuros con síndrome de dificultad respiratoria. *División de estudios de postgrado. Hospital Regional de Rio Blanco. Rio Blanco*, 2014 (citado en la pág. 3).
- [20] J. M. Ramírez. Neonatología. *Santiago de Chile: Editorial Universitaria SA*, 2002 (citado en la pág. 3).
- [21] F. Ossant, M. Lebertre, L. Pourcelot y F. Patat. Ultrasonic characterization of maturation of fetal lung microstructure: an animal study. *Ultrasound in medicine & biology*, **27**(2):157-169, 2001 (citado en las págs. 3, 11).
- [22] Y. A. Guel. Desarrollo del sistema respiratorio, Notas de clase, 2022 (citado en la pág. 3).
- [23] Unidad 1: Revisión de la anatomía y fisiología humana pulmonar. CDC,https://www.cdc.gov/spanish/niosh/docs/2004-154c_sp/pdfs/2004-154c-ch1.pdf). Accedido en mayo 2022 (citado en la pág. 3).
- [24] Respiratory: Embryology- Lung Development. Quizlet,<https://quizlet.com/217013411/respiratory-embryology-lung-development-flash-cards/>. Accedido en mayo 2022 (citado en la pág. 4).
- [25] M. Parra-Saavedra, M. Cruz-Lemini, V. Borobio, M. Bannasar, A. Goncé, J. M. Martínez y A. Borrell. Amniocentesis: guía práctica. *Diagnóstico Prenatal*, **25**(1):20-27, 2014 (citado en la pág. 5).
- [26] R. S. Muñoz. Síndrome de dificultad respiratoria tipo I. *Salud en Tabasco*, **8**(3):133-138, 2002 (citado en la pág. 5).
- [27] I. M. Rosado-Mendez. Ultrasound Physics for the Clinician. En *Obstetric Imaging: Fetal Diagnosis and Care*, páginas 693-695. Elsevier, 2018 (citado en las págs. 6, 7, 49).
- [28] I. M. R. Mendez. Principios Físicos del Ultrasonido Médico, Notas de clase, 2020 (citado en las págs. 6, 16, 18, 21, 28, 61, 74).
- [29] T. L. Szabo. *Diagnostic ultrasound imaging: inside out*. Academic Press, 2004 (citado en las págs. 6, 21, 22).
- [30] J. T. Bushberg y J. M. Boone. *The essential physics of medical imaging*. Lippincott Williams & Wilkins, 2011 (citado en las págs. 6, 25, 26).
- [31] K. B. Prakash, A. Ramakrishnan, S Suresh y T. W. Chow. Fetal lung maturity analysis using ultrasound image features. *IEEE Transactions on information technology in biomedicine*, **6**(1):38-45, 2002 (citado en las págs. 7, 8).

- [32] C. R. Meyer, D. Herron, P. L. Carson, R. Banjavic, G. Thieme, F. L. Bookstein y M. Johnson. Estimation of ultrasonic attenuation and mean backscatterer size via digital signal processing. *Ultrasonic imaging*, **6**(1):13-23, 1984 (citado en las págs. 7, 10).
- [33] S. R. Ghorayeb, L. A. Bracero, M. J. Blitz, Z. Rahman y M. L. Lesser. Quantitative ultrasound texture analysis for differentiating preterm from term fetal lungs. *Journal of Ultrasound in Medicine*, **36**(7):1437-1443, 2017 (citado en las págs. 7, 8).
- [34] M. H. Guerrero, L. Campodónico, M. H. Joo, N. García y J. P. Romero. Doppler del tronco de la arteria pulmonar en la predicción de la madurez pulmonar fetal. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*, **55**(2):120-125, 2009 (citado en la pág. 7).
- [35] J. P. O. Ortega, Z. K. S. Torres, F. R. C. Heredia, R. V. O. Guerrero, S. F. M. Cabrera y G. M. S. Salazar. Ecografía doppler de la arteria pulmonar como indicador de madurez pulmonar fetal, Cuenca–Ecuador. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca*, **38**(2):29-38, 2020 (citado en la pág. 7).
- [36] R. La Torre, E. Cosmi, M. H. Anceschi, J. J. Piazzese, M. D. Piga y E. V. Cosmi. Preliminary report on a new and noninvasive method for the assessment of fetal lung maturity, 2003 (citado en la pág. 8).
- [37] I. Tekesin, G. Anderer, L. Hellmeyer, W. Stein, M. Kühnert y S. Schmidt. Assessment of fetal lung development by quantitative ultrasonic tissue characterization: a methodical study. *Prenatal Diagnosis*, **24**(9):671-676, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1002/pd.951>. eprint: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/pd.951>. URL: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pd.951> (citado en la pág. 8).
- [38] J. C. Birnholz y E. E. Farrell. Fetal lung development: compressibility as a measure of maturity. *Radiology*, **157**(2):495-498, 1985. DOI: [10.1148/radiology.157.2.3901109](https://doi.org/10.1148/radiology.157.2.3901109). eprint: <https://doi.org/10.1148/radiology.157.2.3901109>. URL: <https://doi.org/10.1148/radiology.157.2.3901109>. PMID: 3901109 (citado en la pág. 8).
- [39] A Perez Moreno. Quantitative ultrasound texture analysis for its use on prematurity, 2019 (citado en la pág. 8).
- [40] S. Seoni, G. Matrone y K. M. Meiburger. Texture analysis of ultrasound images obtained with different beamforming techniques and dynamic ranges—A robustness study. *Ultrasonics*, **131**:106940, 2023 (citado en la pág. 8).
- [41] M. Palacio, E. Bonet-Carne, T. Cobo, A. Perez-Moreno, J. Sabrià, J. Richter, M. Kacerovsky, B. Jacobsson, R. A. García-Posada, F. Bugatto et al. Prediction of neonatal respiratory morbidity by quantitative ultrasound lung texture analysis: a multicenter study. *American journal of obstetrics and gynecology*, **217**(2):196-e1, 2017 (citado en las págs. 8, 9).
- [42] R. L. Pando Garcia. Valoración del método QuantusFLM® en la predicción de madurez pulmonar fetal de 28-39 semanas de gestación, 2020 (citado en la pág. 9).
- [43] C Gómez González y J. Pérez Castán. Curso de introducción a la investigación clínica. Capítulo 8: Pruebas diagnósticas. Concordancia. *SEMERGEN, Soc. Esp. Med. Rural Gen.(Ed. impr.):*509-519, 2007 (citado en la pág. 9).
- [44] Pruebas Diagnósticas. SERGAS, <https://www.sergas.es/Saude-publica/Documents/1932/6-Ayuda%20Pruebas%20diagnosticas.pdf>. Accedido en mayo de 2023 (citado en la pág. 9).
- [45] S. Saeed, B. Alireza, E. Mohamed y N. Ahmed. Evidence based emergency medicine part 2: positive and negative predictive values of diagnostic tests, 2015 (citado en la pág. 9).

- [46] QuantusFLM El primer test de madurez pulmonar fetal 100 % no invasivo en el mercado. quatusFLM,<https://www.quantusflm.org/public/es/medico-acercaDe.php>. Accedido en noviembre de 2023 (citado en la pág. 9).
- [47] J. A. Zagzebski, I. M. Rosado-Mendez, H. G. Nasief y T. J. Hall. Quantitative ultrasound: Enhancing diagnosis using estimates of acoustic attenuation and backscatter. En *AIP Conference Proceedings*, volumen 1747 de número 1, página 050001. AIP Publishing LLC, 2016 (citado en la pág. 10).
- [48] P. R. Hoskins, K. Martin y A. Thrush. *Diagnostic ultrasound: physics and equipment*. CRC Press, 2019 (citado en las págs. 10, 25, 26).
- [49] G. Cloutier, F. Destrempes, F. Yu y A. Tang. Quantitative ultrasound imaging of soft biological tissues: a primer for radiologists and medical physicists. *Insights into Imaging*, **12**:1-20, 2021 (citado en la pág. 10).
- [50] M. L. Oelze. Quantitative ultrasound techniques and improvements to diagnostic ultrasonic imaging. En *2012 IEEE International Ultrasonics Symposium*, páginas 232-239. IEEE, 2012 (citado en las págs. 10, 11).
- [51] quatus FLM. Revolucionando los Test de Madurez Pulmonar Fetal [Folleto] (citado en la pág. 10).
- [52] L. Castañeda. *Comparación de algoritmos de estimación de atenuación acústica para ultrasonido cuantitativo de cáncer de mama*, Instituto de Física. UNAM, 2021 (citado en las págs. 10, 25, 42, 43, 45, 47).
- [53] H. G. Nasief, I. M. Rosado-Mendez, J. A. Zagzebski y T. J. Hall. A quantitative ultrasound-based multi-parameter classifier for breast masses. *Ultrasound in medicine & biology*, **45**(7):1603-1616, 2019 (citado en la pág. 10).
- [54] P. L. Carson, C. R. Meyer, E. H. Chiang, R. G. Faix y T. I. Marks. Ultrasound attenuation coefficient in the fetal liver as a function of gestational age. *Ultrasound in medicine & biology*, **16**(4):399-407, 1990 (citado en la pág. 10).
- [55] R. S. Adler, J. M. Rubin, P. H. Bland y P. L. Carson. Quantitative tissue motion analysis of digitized M-mode images: gestational differences of fetal lung. *Ultrasound in medicine & biology*, **16**(6):561-569, 1990 (citado en la pág. 11).
- [56] J. Li, Y. Zhang, X. Liu, P. Liu, H. Yin y D. C. Liu. A Robust automatic ultrasound spectral envelope estimation. *Information*, **10**(6):199, 2019 (citado en la pág. 11).
- [57] L. Castañeda. *Cuantificación de propiedades acústicas del tejido cerebral a través de técnicas de retrodispersión ultrasónica*, Facultad de Ciencias. UNAM, 2018 (citado en la pág. 11).
- [58] I. M. Rosado-Mendez, L. C. Carlson, T. J. Hall y J. A. Zagzebski. A multitaper generalized spectrum technique for detection of periodic structures in tissue: Comparison with conventional methods. En *2013 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS)*, páginas 433-436. IEEE, 2013 (citado en las págs. 13, 42).
- [59] L. X. Yao, J. A. Zagzebski y E. L. Madsen. Backscatter coefficient measurements using a reference phantom to extract depth-dependent instrumentation factors. *Ultrasonic imaging*, **12**(1):58-70, 1990 (citado en las págs. 13, 43).
- [60] N. Jafarpisheh, T. J. Hall, H. Rivaz e I. M. Rosado-Mendez. Analytic global regularized backscatter quantitative ultrasound. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, **68**(5):1605-1617, 2020 (citado en las págs. 13, 46-48).
- [61] F. L. Lizzi, M. Ostromogilsky, E. J. Feleppa, M. C. Rorke y M. M. Yaremko. Relationship of ultrasonic spectral parameters to features of tissue microstructure. *IEEE transactions*

- on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, **34**(3):319-329, 1986 (citado en las págs. 13, 48).
- [62] M. L. Oelze, J. F. Zachary y W. D. O'Brien Jr. Characterization of tissue microstructure using ultrasonic backscatter: Theory and technique for optimization using a Gaussian form factor. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **112**(3):1202-1211, 2002 (citado en las págs. 15, 16, 20).
- [63] J. Mamou y M. L. Oelze. *Quantitative ultrasound in soft tissues*. Springer, 2013 (citado en las págs. 15, 18-20, 25).
- [64] R. L. Romijn, J. M. Thijssen y G. W. Van Beuningen. Estimation of scatterer size from backscattered ultrasound: a simulation study. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, **36**(6):593-606, 1989 (citado en la pág. 15).
- [65] F. L. Lizzi, M. Greenebaum, E. J. Feleppa, M. Elbaum y D. J. Coleman. Theoretical framework for spectrum analysis in ultrasonic tissue characterization. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **73**(4):1366-1373, 1983 (citado en la pág. 15).
- [66] F. L. Lizzi, M. Astor, T. Liu, C. Deng, D. J. Coleman y R. H. Silverman. Ultrasonic spectrum analysis for tissue assays and therapy evaluation. *International Journal of Imaging Systems and Technology*, **8**(1):3-10, 1997 (citado en la pág. 15).
- [67] M. F. Insana, J. G. Wood, T. J. Hall, G. G. Cox y L. A. Harrison. Effects of endothelin-1 on renal microvasculature measured using quantitative ultrasound. *Ultrasound in medicine & biology*, **21**(9):1143-1151, 1995 (citado en la pág. 15).
- [68] E. P. Nordberg y T. J. Hall. Effective scatterer diameter estimates for broad scatterer size distributions. *Ultrasonic imaging*, **37**(1):3-21, 2015 (citado en las págs. 16, 17).
- [69] F. Torres. *Análisis del patrón de moteado de imágenes de ultrasonido clínico del tálamo de macacos Rhesus neonatos expuestos a anestesia*. Tesis de maestría, UNAM, 2020 (citado en las págs. 16, 17).
- [70] R. S. Cobbold. *Foundations of biomedical ultrasound*. Oxford university press, 2006 (citado en las págs. 17, 20-25, 32, 49, 61).
- [71] C. R. Hill, J. C. Bamber y G. R. ter Haar. *Physical principles of medical ultrasonics*. WILEY, 2004 (citado en la pág. 17).
- [72] M. Insana y T. Hall. Characterising the microstructure of random media using ultrasound. *Physics in Medicine & Biology*, **35**(10):1373, 1990 (citado en la pág. 18).
- [73] K. K. Shung y G. A. Thieme. *Ultrasonic scattering in biological tissues*. CRC press, 1992 (citado en las págs. 18, 21, 22).
- [74] A. D. Pierce. *Acoustics: an introduction to its physical principles and applications*. Springer, 2019 (citado en la pág. 18).
- [75] D. Nicholas. Evaluation of backscattering coefficients for excised human tissues: results, interpretation and associated measurements. *Ultrasound in Medicine & Biology*, **8**(1):17-28, 1982 (citado en la pág. 18).
- [76] D. Fei y K. Shung. Ultrasonic backscatter from mammalian tissues. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **78**(3):871-876, 1985 (citado en la pág. 18).
- [77] M. F. Insana, T. J. Hall y J. L. Fishback. Identifying acoustic scattering sources in normal renal parenchyma from the anisotropy in acoustic properties. *Ultrasound in medicine & biology*, **17**(6):613-626, 1991 (citado en las págs. 18, 43).
- [78] J. Mamou, A. Coron, M. L. Oelze, E. Saegusa-Becroft, M. Hata, P. Lee, J. Machi, E. Yanagihara, P. Laugier y E. J. Feleppa. Three-dimensional high-frequency backscatter

- and envelope quantification of cancerous human lymph nodes. *Ultrasound in medicine & biology*, **37**(3):345-357, 2011 (citado en la pág. 18).
- [79] K. A. Topp, J. F. Zachary y W. D. O'Brien Jr. Quantifying B-mode images of in vivo rat mammary tumors by the frequency dependence of backscatter. *Journal of ultrasound in medicine*, **20**(6):605-612, 2001 (citado en la pág. 18).
- [80] M. F. Insana y T. J. Hall. Parametric ultrasound imaging from backscatter coefficient measurements: image formation and interpretation. *Ultrasonic imaging*, **12**(4):245-267, 1990 (citado en las págs. 19, 88).
- [81] T. Erlöv, T. Jansson, H. W. Persson y M. Cinthio. Scatterer size estimation using the center frequency assessed from ultrasound time domain data. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **140**(4):2352-2357, 2016 (citado en la pág. 19).
- [82] Evaluación de la estimación de coeficientes de retrodispersión en un medio aberrado usando técnicas de corrección de aberración de fase. PUCP, <https://investigacion.pucp.edu.pe/laboratorio/imagenes-medicas/proyecto/evaluacion-de-la-estimacion-de-coeficientes-de-retrodispersion-en-un-medio-aberrado-usando-tecnicas-de-correccion-de-aberracion-de-fase/>. Accedido en octubre de 2022 (citado en la pág. 19).
- [83] A. K. A. Lozano. *Evaluación inter-e-intra-operador del uso de ultrasonido cuantitativo para la caracterización de lesiones mamarias*. Tesis de maestría, UNAM, 2022 (citado en las págs. 20, 42-44, 46-48).
- [84] W. M. Lai, D. Rubin y E. Krempf. *Introduction to continuum mechanics*. Butterworth-Heinemann, 2009 (citado en la pág. 21).
- [85] W. D. O'Brien Jr. Ultrasound–biophysics mechanisms. *Progress in biophysics and molecular biology*, **93**(1-3):212-255, 2007 (citado en la pág. 22).
- [86] A. Nowicki y K. Dobruch-Sobczak. Introduction to ultrasound elastography. *Journal of ultrasonography*, **16**(65):113-124, 2016 (citado en la pág. 22).
- [87] G. B. Arfken y H. J. Weber. *Mathematical methods for physicists*, 1999 (citado en la pág. 24).
- [88] L. C. Martínez. *Comparación de algoritmos de estimación de atenuación acústica para el ultrasonido cuantitativo de cáncer de mama*. Tesis de maestría, UNAM, 2021 (citado en las págs. 24, 25).
- [89] T. A. Bigelow, M. L. Oelze y W. D. O'Brien Jr. Estimation of total attenuation and scatterer size from backscattered ultrasound waveforms. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **117**(3):1431-1439, 2005 (citado en la pág. 25).
- [90] D. Dance, S Christofides, A. Maidment, I. McLean y K. Ng. Diagnostic radiology physics. A handbook for teachers and students. *International Atomic Energy Agency*, **299**, 2014 (citado en la pág. 25).
- [91] J Brizuela, J Camacho, G Cosarinsky, J. M. Iriarte y J. F. Cruza. Improving elevation resolution in phased-array inspections for NDT. *NDT & E International*, **101**:1-16, 2019 (citado en la pág. 27).
- [92] V. Gibbs, D. Cole y A. Sassano. *Ultrasound physics and technology: how, why and when*. Elsevier Health Sciences, 2011 (citado en la pág. 27).
- [93] Tissue-Mimicking phantom. University of Utah Health, <https://medicine.utah.edu/radiology/research/labs-groups/fus-lab/tissue-phantom#:~:text=Phantoms%20are%20objects%20designed%20to,in%20the%20field%20of%20MRgFUS..> Accedido en noviembre de 2023 (citado en la pág. 31).

- [94] J. Zhou y X. Zhang. A lung phantom model to study pulmonary edema using lung ultrasound surface wave elastography. *Ultrasound in medicine & biology*, **44**(11):2400-2405, 2018 (citado en la pág. 31).
- [95] C. Blüthgen, S. Sanabria, T. Frauenfelder, V. Klingmüller y M. Rominger. Economical sponge phantom for teaching, understanding, and researching A-and B-line reverberation artifacts in lung ultrasound. *Journal of Ultrasound in Medicine*, **36**(10):2133-2142, 2017 (citado en la pág. 31).
- [96] F. Morgan-Ortiz, F. V. Morgan-Ruiz, E. Quevedo-Castro, G. Gutierrez-Jimenez y J. Báez-Barraza. Anatomía y fisiología de la placenta y líquido amniótico. *Revista médica*, **5**, 2015 (citado en la pág. 32).
- [97] D Mahieu-Caputo, L Sentilhes, I Popovic, L Marpeau, P Descamps y P Madelenat. Fisiología del líquido amniótico. *EMC-Ginecología-Obstetricia*, **45**(1):1-7, 2009 (citado en la pág. 32).
- [98] F. Duck. *Physical properties of tissues: a comprehensive reference book*. Academic press, 2013 (citado en las págs. 32, 49).
- [99] C. A. Schneider, W. S. Rasband y K. W. Eliceiri. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods*, **9**(7):671-675, 2012 (citado en la pág. 34).
- [100] J. Moncho Vasallo. Estadística aplicada a las ciencias de la salud, 2015 (citado en la pág. 35).
- [101] M. Á. Martínez-González, A. Sánchez-Villegas, E. T. Atucha y J. F. Fajardo. *Bioestadística amigable*. Elsevier Barcelona, Spain: 2014 (citado en las págs. 35, 37, 52).
- [102] J. P. Stevens. *Intermediate statistics: A modern approach*. Routledge, 2013 (citado en las págs. 35, 36).
- [103] Contrastes de normalidad. http://www.ub.edu/aplica_infor/spss/cap5-6.htm (citado en la pág. 36).
- [104] Á. Roco-Videla, R. Landabur-Ayala, N. Maureira-Carsalade y M. Olguin-Barraza. ¿ Cómo determinar efectivamente si una serie de datos sigue una distribución normal cuando el tamaño muestral es pequeño? *Nutrición Hospitalaria*, **40**(1):234-235, 2023 (citado en la pág. 36).
- [105] M. R. Saldaña. Pruebas de bondad de ajuste a una distribución normal. *Revista Enfermería del trabajo*, **6**(3):114, 2016 (citado en la pág. 36).
- [106] N. M. Razali, Y. B. Wah et al. Power comparisons of shapiro-wilk, kolmogorov-smirnov, lilliefors and anderson-darling tests. *Journal of statistical modeling and analytics*, **2**(1):21-33, 2011 (citado en la pág. 36).
- [107] M. Á. M. González, A. S. Villegas, E. T. Atucha y J. F. Fajardo. *Bioestadística amigable*. Elsevier, 2020 (citado en la pág. 36).
- [108] G. W. Corder y D. I. Foreman. *Nonparametric statistics for non-statisticians*, 2011 (citado en las págs. 36, 37).
- [109] A. Field y J. Miles. *Discovering statistics using SAS*. Sage, 2010 (citado en las págs. 36, 37).
- [110] R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria, 2023. URL: <https://www.R-project.org/> (citado en la pág. 37).
- [111] A. K. Argueta-Lozano, L. Castañeda-Martinez, V. Bass, M.-J. Mateos, J. P. Castillo-López, M. P. Perez-Badillo, L. O. Aguilar-Cortazar, F. Porrás-Reyes, M. I. Sollozo-Dupont, F. Torres-Robles et al. Inter-and Intra-Operator Variability of Regularized Backscatter

- Quantitative Ultrasound for the Characterization of Breast Masses. *Journal of Ultrasound in Medicine*, 2023 (citado en la pág. 40).
- [112] I. M. Rosado-Mendez, K. Nam, T. J. Hall y J. A. Zagzebski. Task-oriented comparison of power spectral density estimation methods for quantifying acoustic attenuation in diagnostic ultrasound using a reference phantom method. *Ultrasonic imaging*, **35**(3):214-234, 2013 (citado en las págs. 41, 42).
- [113] E. L. Madsen, M. F. Insana y J. A. Zagzebski. Method of data reduction for accurate determination of acoustic backscatter coefficients. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **76**(3):913-923, 1984 (citado en la pág. 42).
- [114] M. J. Prerau, R. E. Brown, M. T. Bianchi, J. M. Ellenbogen y P. L. Purdon. Sleep neurophysiological dynamics through the lens of multitaper spectral analysis. *Physiology*, **32**(1):60-92, 2017 (citado en la pág. 42).
- [115] Q. W. Guerrero, H. Feltovich, I. M. Rosado-Mendez, L. C. Carlson y T. J. Hallcor. Quantitative ultrasound biomarkers based on backscattered acoustic power: potential for quantifying remodeling of the human cervix during pregnancy. *Ultrasound in medicine & biology*, **45**(2):429-439, 2019 (citado en la pág. 43).
- [116] K. Nam, J. A. Zagzebski y T. J. Hall. Quantitative assessment of in vivo breast masses using ultrasound attenuation and backscatter. *Ultrasonic imaging*, **35**(2):146-161, 2013 (citado en la pág. 43).
- [117] A. Eranki, A. S. Mikhail, A. H. Negussie, P. S. Katti, B. J. Wood y A. Partanen. Tissue-mimicking thermochromic phantom for characterization of HIFU devices and applications. *International Journal of Hyperthermia*, **36**(1):517-528, 2019 (citado en la pág. 43).
- [118] K. Nam, J. A. Zagzebski y T. J. Hall. Simultaneous backscatter and attenuation estimation using a least squares method with constraints. *Ultrasound in medicine & biology*, **37**(12):2096-2104, 2011 (citado en la pág. 45).
- [119] E. L. Madsen, H. J. Sathoff y J. A. Zagzebski. Ultrasonic shear wave properties of soft tissues and tissuelike materials. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **74**(5):1346-1355, 1983 (citado en la pág. 47).
- [120] J.-F. Chen, J. A. Zagzebski y E. L. Madsen. Tests of backscatter coefficient measurement using broadband pulses. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, **40**(5):603-607, 1993 (citado en la pág. 47).
- [121] M. F. Insana, R. F. Wagner, D. G. Brown y T. J. Hall. Describing small-scale structure in random media using pulse-echo ultrasound. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **87**(1):179-192, 1990 (citado en las págs. 48, 73).
- [122] M. F. Insana, J. A. Zagzebski y E. L. Madsen. Acoustic backscattering from ultrasonically tissuelike media. *Medical Physics*, **9**(6):848-855, 1982 (citado en las págs. 50, 73).
- [123] A. Ng y J. Swanevelder. Resolution in ultrasound imaging. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain*, **11**(5):186-192, 2011 (citado en la pág. 50).
- [124] J. A. Jensen. Field: A program for simulating ultrasound systems. *Medical & Biological Engineering & Computing*, **34**(sup. 1):351-353, 1997 (citado en las págs. 50, 82).
- [125] J. A. Jensen y N. B. Svendsen. Calculation of pressure fields from arbitrarily shaped, apodized, and excited ultrasound transducers. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, **39**(2):262-267, 1992 (citado en las págs. 50, 82).
- [126] J. Montanero Fernández. Manual de Bioestadística (citado en la pág. 52).

BIBLIOGRAFÍA

- [127] A. W. Klein, R. F. Becker y M. R. Bryson. A method for estimating the distribution of alveolar sizes from histological lung sections. *Transactions of the American Microscopical Society*:195-208, 1972 (citado en la pág. [57](#)).

