

# Análisis colorimétrico de estructuras de fondo de ojo mediante retinografía multispectral

Àä & ÅÄÖ !\* [ • ÈÖ\} | } à^: FÈÄ [ { æ [ ÅÖç | ä ÅÈÖ^! } ä [ ÅÖæ ÈÖ [ ~ 5} FÈÄæ { ^ ÅÚ ù | FÄÄ ^! äç | Ä Xäæ ^ & æÄ

<sup>1</sup>Centro de Desarrollo de Sensores, Instrumentación y Sistemas, Universitat Politècnica de Catalunya. Rambla de Sant Nebridi 10, 08222 Terrassa, España.

[à\\\*bÈÈD}}È`ânÈ|\\*`Èæä|DÄ](mailto:à\*bÈÈD}}È`ânÈ|*`Èæä|DÄ)

**Resumen:** El análisis del fondo del ojo es crucial para prevenir enfermedades retinianas y coroideas ya que la mayoría no causan síntomas en etapas tempranas. Tratarlas cuando aparecen los primeros indicios es fundamental para evitar pérdidas de visión irreversibles. Con este propósito, el color de las estructuras de fondo de ojo de pacientes sanos y enfermos se evaluó a partir de imágenes adquiridas con una cámara de fondo de ojo multispectral (400nm-1300nm) con elevada resolución espectral y espacial. En ojos sanos aparecieron diferencias de color CIEDE2000 considerables entre arterias y venas por su diferente oxigenación; las fibras nerviosas y la fovea aparecieron más contrastadas respecto al fondo, produciendo diferencias de color relevantes. En ojos afectados por degeneración macular asociada a la edad, se pudieron identificar mejor que en retinografías en color las características drusas y alteraciones del disco óptico en pacientes con glaucoma mostraron valores CIEDE2000 elevados respecto a pacientes sanos.

## 1. Introducción

La retinografía es una de las técnicas más utilizadas para evaluar el fondo del ojo ya que proporciona información muy completa y con un gran campo de visión. La detección de cualquier tipo de alteración es crucial, especialmente en estadios iniciales, para realizar un diagnóstico y tratamiento acertado. Entre otras, las patologías oculares que causan pérdida de visión son el glaucoma y la degeneración macular asociada a la edad (DMAE). El glaucoma está asociado a una elevada presión intraocular que afecta principalmente a la capa de las fibras nerviosas (CFN) de la retina y se suele diagnosticar observando el disco óptico en imágenes de fondo de ojo o tomográficas [1]. Según estudios previos [2], la degeneración de la CFN causa cambios de reflectancia y color en el centro y la periferia del disco óptico que se podrían utilizar para la detección precoz de esta patología. La DMAE suele causar pérdida de visión central como resultado de una elevada concentración de lipofuscina, un lípido amarillento producido por el proceso de fagocitosis de los fotorreceptores [3]. La lipofuscina genera drusas blandas cuyo aspecto varía entre el blanco pálido y el amarillo brillante, no tienen bordes definidos y pueden alcanzar un tamaño por encima de las 1000 µm. Además, se consideran el primer signo de DMAE y están asociadas a un elevado riesgo de pérdida de visión. Por otra parte, las drusas duras tienen bordes más definidos, son de un tamaño menor y tienen menos probabilidad de evolucionar en una atrofia mayor [4].

La precisa caracterización espectral y colorimétrica de estructuras sanas de fondo de ojo es también importante cuando se buscan posibles alteraciones. La CFN es especialmente visible a longitudes de onda cortas-intermedias del rango visible mientras que el disco óptico se puede observar hasta los 1000 nm, principalmente a causa de la mielina que recubre las fibras nerviosas [1]. Los vasos de la retina se aprecian más brillantes a longitudes de onda largas (>580 nm) al absorber las cortas y se pueden discriminar fácilmente hasta los 800 nm ya que las venas (sangre desoxigenada) presentan una mayor absorción que las arterias (sangre oxigenada) en este rango [5]. El pigmento macular actúa como un filtro azul con un pico máximo de absorción a 460 nm, mientras que las estructuras que contienen melanina (epitelio pigmentario de la retina (EPR) y coroides) absorben longitudes de onda visibles hasta los 600 nm [6]. Todas estas características espectrales y colorimétricas de estructuras de fondos de ojo pueden pasar por alto al evaluarse con retinógrafos convencionales ya que presentan limitaciones relacionadas con la propia naturaleza colorimétrica de estos (metamerismo) al utilizar sensores RGB con solo tres

\* e-mail: àãá^`↔b`~È↓á {↔æãÈã | ã&~bM | \*`Èæä |

canales de banda ancha en el rango visible. Afortunadamente, la tecnología de imagen multiespectral ofrece una solución de compromiso entre los sistemas espectroscópicos y los de imagen RGB, unificando las ventajas de ambas técnicas: el muestreo espectral y la evaluación píxel a píxel. En este contexto, el objetivo de este trabajo consistió en estudiar las características colorimétricas de estructuras de fondos de ojos sanos y enfermos mediante una cámara de fondo de ojo multiespectral en el visible e infrarrojo cercano (400nm – 1300 nm) con elevada resolución espectral y espacial [7].

## 2. Materiales y métodos

Este estudio se llevó a cabo en pacientes sanos y enfermos en el Instituto de Microcirugía Ocular (Barcelona, España) y en el Centro Universitario de la Visión (Terrassa, España); los datos demográficos de los pacientes están contenidos en la Tabla 1. Los criterios de inclusión para los pacientes enfermos fueron que presentaran cualquier patología ocular que afectara solo al fondo del ojo como la DMAE o el glaucoma. Los criterios de exclusión para estos consistieron en la presencia de cualquier otra patología ocular o sistémica con afectación a nivel ocular, especialmente aquellas que pudieran alterar la transparencia de los medios oculares como las cataratas. Los criterios de inclusión para los pacientes sanos fueron más estrictos: mejor agudeza visual corregida igual o superior a 0,9 en escala decimal, presión intraocular igual o inferior a 21 mmHg y sin historial de ninguna patología o trauma ocular. Además, todos los pacientes presentaron una refracción esférica entre  $\pm 15D$  y astigmatismo  $\leq 2D$  debido al rango de medida del equipo desarrollado. Se obtuvo la aprobación del comité ético y todos los pacientes aportaron un consentimiento informado escrito antes de participar en el estudio. Los principios de la Declaración de Helsinki (según revisión de 2004 en Tokio) se siguieron durante todo el estudio.

Condición	Ojos	Pacientes	Mujeres (%)	Hombres (%)	Edad (promedio $\pm$ desviación estándar [rango]; años)
Enfermos	194	97	61,3	38,7	64,2 $\pm$ 17,1 [19, 95]
Sanos	126	81	54,4	45,6	47,9 $\pm$ 17,4 [19, 81]

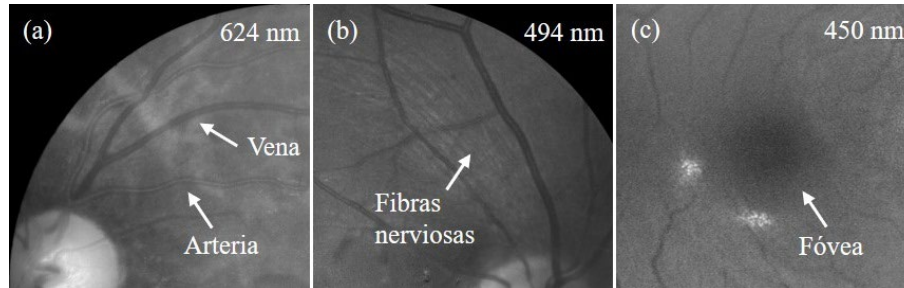
**Tabla 1:** Número de ojos, pacientes, distribución de género y edad para los pacientes enfermos y sanos.

La cámara de fondo de ojo multiespectral consiste en dos brazos de detección: uno desde el visible al infrarrojo cercano (VIS-IRC: 400nm – 950nm) y otro solo en el IRC (960 nm – 1300 nm) [7]. El sistema de iluminación se compone por tres anillos de diodos emisores de luz (*light-emitting diodes*, LEDs) que cubren 15 bandas espectrales con longitudes de onda de pico de 416, 450, 471, 494, 524, 595, 598, 624, 660, 732, 865, 955 n, 1025, 1096 y 1213 nm. Se trata de un equipo no midriático (no necesita dilatación pupilar), con 30° de campo de visión angular y una compensación esférica de  $\pm 15D$ . A pesar del amplio rango espectral, la adquisición de las 15 imágenes solo dura 613 ms (220 ms para las bandas espectrales VIS-IRC y 393 ms para las IRC). Esta característica es una de las grandes ventajas del prototipo desarrollado, siendo similar al tiempo de captura de las cámaras multiespectrales instantáneas (*snapshot*), pero conservando una elevada resolución espacial y espectral. Otra de las ventajas es que es el único equipo que evalúa el fondo del ojo más allá de los 1000 nm, pero esta queda fuera del alcance de este trabajo. El procesado de las imágenes consistió primero en la eliminación de los reflejos y no uniformidades causadas por los elementos ópticos y la fuente de iluminación. A continuación, se extrajeron los valores de reflectancia espectral a partir de las imágenes multiespectrales, dividiendo cada una de ellas por un blanco patrón calibrado (BN-R98-SQC, Gigahertz-Optik GmbH, Alemania); para los parámetros CIELAB se consideró el iluminante D65 y solo las imágenes comprendidas entre 400 y 700 nm. Debido a la ligera diferencia de transmitancia de los medios oculares entre pacientes, se utilizaron diferencias de color CIEDE2000 para comparar las estructuras de fondo de ojo de cada paciente.

## 3. Resultados y discusión

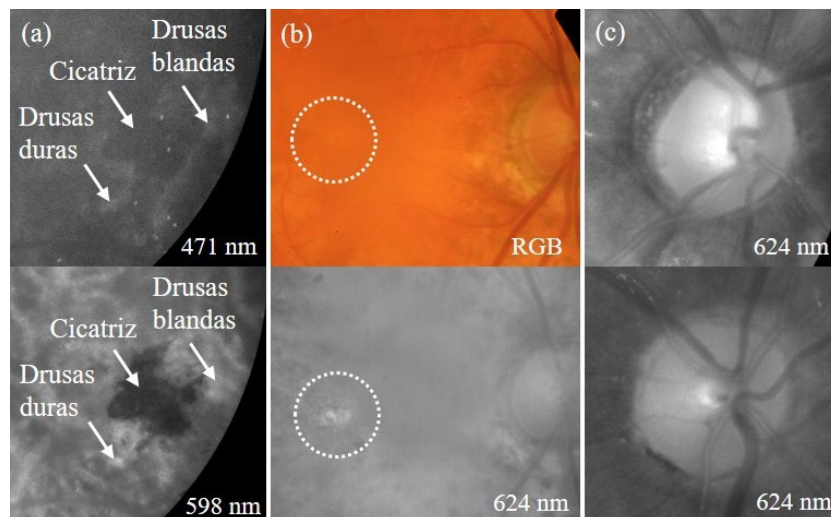
El elevado muestreo espectral obtenido dio lugar a una gran discriminación colorimétrica entre estructuras de fondo de ojo, resaltando detalles que podrían pasar desapercibidos por retinógrafos en color convencionales. Se evaluó el promedio  $\pm$  desviación estándar de las diferencias de color CIEDE2000 de varias estructuras para todos los pacientes sanos. Las diferentes propiedades de absorción de las arterias y las venas debido a la oxi- y deoxihemoglobina se reflejaron en  $6,0 \pm 3,0$  unidades CIEDE2000; la diferencia en términos de absorción entre las dos estructuras causadas por la diferente concentración de

oxígeno en sangre fue especialmente notable alrededor de 600 nm (Fig. 1a). En retinografías RGB, las fibras nerviosas son difíciles de observar, pero gracias al sistema multispectral desarrollado, revelaron  $6,6 \pm 4,6$  unidades CIEDE2000 con respecto al fondo del ojo sin estructuras. La Fig. 1b muestra cómo la CFN es más visible a longitudes de onda cortas ya que esta capa es muy superficial y las longitudes de onda cortas se reflejan superficialmente mientras que las más largas penetran más en el tejido. Del mismo modo, la fovea, que se aprecia más difuminada en retinografías RGB, se visualiza mejor en longitudes de onda cortas al actuar como un filtro azul (Fig. 1c); a partir de la cámara multispectral se obtuvo un resultado de  $6,2 \pm 3,9$  unidades CIEDE2000 con respecto al fondo sin otras estructuras.



**Figura 1:** Imágenes espectrales aumentadas a diferentes longitudes de onda de pacientes sanos. (a) Las arterias y las venas se pueden diferenciar claramente a 624 nm, siendo más claras las primeras. (b) Las fibras nerviosas resaltan en longitudes de onda cortas. (c) La fóvea aparece oscura a longitudes de onda cortas, siendo claramente diferenciable del fondo.

Para los ojos enfermos, se evaluaron los casos más representativos y se calcularon los valores CIEDE2000 también para las retinografías RGB. Se obtuvieron 3,5 unidades CIEDE2000 entre las drusas duras y blandas para un ojo con DMAE exudativa (Fig. 2a), siendo de 1,5 unidades en la imagen RGB. Esta diferencia de color estuvo principalmente causada por un mayor valor de  $L^*$  de las drusas duras, que puede ser atribuido a una disminución en la absorción de la melanina ya que estas están normalmente asociadas a una pérdida celular del EPR. En otro ojo, una DMAE seca causó una degeneración del EPR que dio lugar a 4,9 unidades CIEDE2000 en comparación al fondo sin estructuras (2,2 unidades en imagen RGB). El hallazgo más significativo fue que la lesión prácticamente pasa desapercibida en la retinografía RGB debido al metamerismo (Fig. 2b arriba), lo cual prueba la importancia del muestreo espectral en la detección de lesiones sutiles y para el diagnóstico precoz de enfermedades de fondo de ojo.



**Figura 2:** Imágenes espectrales aumentadas a diferentes longitudes de onda de ojos afectados por DMAE exudativa (a) y seca (b), glaucoma (c-arriba) y sano (c-abajo). (a) Las lesiones se aprecian mejor a longitudes de onda visibles largas. (b) Una lesión muy sutil se detecta mediante la cámara de fondo de ojo multispectral desarrollada (abajo) mientras que pasa desapercibida en la retinografía RGB (arriba). (c) Se observa como la reflectancia es mayor en la parte central del disco óptico en el ojo afectado por glaucoma (arriba) que en el ojo sano (abajo), a parte de cubrir un área mayor en el primero.

Un ojo afectado por glaucoma se analizó colorimétricamente mediante la comparación del centro y la periferia del disco óptico. Esto produjo 13,9 unidades CIEDE2000, lo cual estuvo por encima del valor promedio encontrado para pacientes sanos ( $9,5 \pm 3,4$  unidades CIEDE2000). En la Tabla 2 se muestra que

esa mayor diferencia de color para el ojo con glaucoma se atribuye principalmente al aumento de  $L^*$  en la parte central del disco óptico (Fig. 2c arriba). Una hipótesis para este comportamiento puede ser que, como el glaucoma causa una degeneración de las capas del disco óptico, la lámina cribosa y las fibras nerviosas mielinizadas que salen del globo ocular por el nervio óptico quedan más expuestas, dando lugar a una mayor reflectividad. Además, el ojo afectado por glaucoma presenta una apariencia amarillenta más pura ya que la coordenada cromática  $a^*$  fue muy cercana a 0, lo que se corresponde a lo hallado por otros autores [2], quienes reportaron un espectro de reflectancia más plano con una contribución reducida a longitudes de onda cortas en ojos que padecían esta enfermedad. En este caso, los valores CIEDE2000 obtenidos a partir de las imágenes RGB fueron más cercanos a los calculados a partir de las imágenes multispectrales pero dieron lugar a una menor diferenciación entre ojos sanos y con glaucoma (Tabla 2).

Condición	Zona del disco óptico	$L^*$	$a^*$	$b^*$	CIEDE2000 (MS)	CIEDE2000 (RGB)
Ojo con glaucoma	Periferia	76,0	3,5	5,2	13,9	13,6
	Centro	91,6	0,5	16,3		
Ojos sanos	Periferia	$72,6 \pm 5,7$	$9,7 \pm 7,3$	$12,0 \pm 8,1$	$9,5 \pm 3,4$	$12,1 \pm 4,2$
	Centro	$83,6 \pm 5,4$	$12,1 \pm 6,9$	$17,9 \pm 8,7$		

**Tabla 2:** Coordenadas cromáticas CIELAB y diferencias de color CIEDE2000 en la periferia y el centro del disco óptico para el ojo con glaucoma y el conjunto de ojos sanos. Los valores CIEDE2000 se muestran para las imágenes multispectrales (MS) y RGB.

#### 4. Conclusiones

El análisis colorimétrico basado en las imágenes obtenidas por la cámara de fondo de ojo multispectral ha demostrado ofrecer información cuantitativa y más precisa que la retinografía convencional basada en imágenes RGB, pudiendo contribuir a la mejora del diagnóstico del fondo del ojo. Dicha información podría utilizarse para segmentar de forma automática las diferentes estructuras y favorecer la detección de aquellas asociadas a patologías.

**Agradecimientos:** Este proyecto ha recibido financiación del programa de investigación e innovación Horizon 2020 de la Unión Europea bajo el acuerdo de subvención Marie Skłodowska-Curie No. 801342 (Tecniospring INDUSTRY), así como de la Agència per a la Competitivitat de l'Empresa de la Generalitat de Catalunya (ACCIÓ). Además, esta publicación es parte del proyecto de I+D+i PID2020-112527RB-I00, financiada por MCIN/AEI/10.13039/501100011033.

**Descargo de responsabilidad:** Este trabajo solo expresa la opinión de los autores y ni la Unión Europea ni ACCIÓ son responsables del uso que se ha hecho de la información proporcionada.

#### Bibliografía

- [1] M. Yanoff, J. W. Sassani, *Optic Nerve in Ocular Pathology* (W.B. Saunders, London, 2015).
- [2] X. R. Huang, Y. Zhou, R. W. Knighton, W. Kong, W. J. Feuer, "Wavelength-dependent change of retinal nerve fiber layer reflectance in glaucomatous retinas", *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.*, **53**(9), p. 5869 (2012).
- [3] H. R. Coleman, C.-C. Chan, F. L. 3rd Ferris, E. Y. Chew, "Age-related macular degeneration", *Lancet*, **372**(9652), p. 1835 (2008).
- [4] A. Abdelsalam, L. Del Priore, M. A. Zarbin, "Drusen in age-related macular degeneration: pathogenesis, natural course, and laser photocoagulation-induced regression", *Surv. Ophthalmol.*, **44**(1), p. 1 (1999).
- [5] T. J. M. Berendschot, P. J. DeLintb, D. V Norren. "Fundus reflectance—historical and present ideas", *Prog. Retin. Eye Res.*, **22**(2), p. 171 (2003).
- [6] R. A. Bone, J. T. Landrum, L. H. Guerra, C. A. Ruiz, "Lutein and Zeaxanthin Dietary Supplements Raise Macular Pigment Density and Serum Concentrations of these Carotenoids in Humans", *J. Nutr.*, **133**(4), p. 992 (2003).
- [7] T. Alterini, F. Díaz-Doutón, F. J. Burgos-Fernández, L. González, C. Mateo, M. Vilaseca, "Fast visible and extended near-infrared multispectral fundus camera", *J. Biomed. Opt.*, **24**(9), p. 096007-1 (2019).
- [8] H. Li, W. Liu, B. Dong, J. V. Kaluzny, A. A. Fawzi, H. F. Zhang, "Snapshot hyperspectral retinal imaging using compact spectral resolving detector array", *J. Biophotonics*, **10**(6-7), p. 830 (2017).