



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## FACULTAD DE INGENIERÍA

Análisis del hueso trabecular a partir de imágenes  
MEB mediante fractales para evaluar la  
arquitectura ósea

# TESINA

Que para obtener el título de :  
INGENIERO ELÉCTRICO ELECTRÓNICO

Presenta:  
ENRIQUE CEDILLO RAMÍREZ

Tutora: Dra. Margarita Navarrete Montesinos

Ciudad Universitaria, México D.F.



Febrero, 2012

**Esta tesina fue realizada en el Departamento de Mecánica y Energía del Instituto de Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección de la Dra. Margarita Navarrete Montesinos. El proyecto fue apoyado con beca del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), se registro con el número 9152.**

## **Agradecimientos**

**A Dios, por darme la oportunidad de venir a este mundo, por tener una maravillosa familia, por las bendiciones, dificultades, éxitos y fracasos con los que me ha colmado. Por todos y cada uno de esos días complicados en donde no me desampara y esta conmigo. Por iluminar mi cabeza, aclarar mis ideas y pensamientos guiándome por el camino correcto.**

**A mi madre Lourdes, por ser siempre una mujer ejemplar, de carácter, que con todo su amor me trajo a este mundo. Por ser el pilar de nuestra familia, por todo su apoyo, palabras y amor de madre incondicional que siempre me muestra.**

**A mi padre Enrique, por ser mi gran ejemplo a seguir, hombre trabajador, responsable y entregado por completo a su familia, el cual a pesar de todas las cosas muestra carácter, tenacidad y no se doblega ante nada. Por motivarme a creérmela en la vida, por guiarme y apoyarme incondicionalmente.**

**A mi hermana Lulú, por haber llegado a iluminar mi vida y cambiarla por completo. Por ser una mujer fuente de inspiración, un motor de vida que me motiva a dar lo mejor de mí día con día para sobresalir y llegar a ser una persona exitosa.**

**A mi abuela Ángela, por estar siempre con nosotros, por ser parte importante de este logro apoyándonos siempre y brindándonos todo su amor.**

**A la Dra. Margarita, por incorporarme a su equipo de investigación como prestador de servicio social, por brindarme la confianza y la oportunidad de desarrollar el proyecto de investigación que presento en esta tesina. Por mostrarme que con tenacidad, constancia y disciplina se logran las grandes cosas.**

**A la UNAM, a la Facultad de Ingeniería, a mis sinodales, profesores, amigos y compañeros, porque en esos salones, en esos pasillos y gracias ustedes me he forjado como persona, amigo y profesionalista que tiene toda la gana de poner en alto el nombre de su Facultad y de su país, México.**

**A las autoridades y amigos de la Dirección General de Distribución y Abastecimiento de Energía Eléctrica, y Recursos Nucleares de la Secretaría de Energía, por brindarme la confianza de incorporarme a la Dirección General siendo pasante de Ingeniería, apoyarme en la obtención de mi primer trabajo así como ser parte importante para alcanzar el objetivo de titularme.**

**A todos y cada uno de ustedes que me apoyaron y formaron parte de este gran y anhelado sueño de ser Ingeniero les puedo decir:**

**¡ Lo logramos ¡**

# Índice

<b>Prefacio</b> .....	<b>2</b>
<b>1. Objetivo</b> .....	<b>4</b>
<b>2. Introducción</b> .....	<b>5</b>
2.1 Antecedentes del proyecto.	
2.2 Métodos y muestras para estudiar la naturaleza fractal.	
A. Método del BC (por conteo de cajas).	
B. Método de la FFT (transformada rápida de Fourier).	
<b>3. Definición del problema</b> .....	<b>9</b>
<b>4. Desarrollo</b> .....	<b>10</b>
4.1 Metodología.	
4.2 Preparación y acondicionamiento de muestras.	
<b>5. Adquisición de imágenes MEB</b> .....	<b>13</b>
<b>6. Procesamiento de imágenes</b> .....	<b>16</b>
6.1 Dimensión Fractal a través del método del BC (por conteo de cajas).	
6.1.1 Análisis y resultados del método del BC (por conteo de cajas).	
6.2 Dimensión Fractal a través del método de la FFT (transformada rápida de Fourier).	
6.2.1 Análisis y resultados por el método de la FFT (transformada rápida de Fourier).	
<b>7. Resultados globales y aportaciones</b> .....	<b>30</b>
<b>8. Conclusiones</b> .....	<b>33</b>
<b>9. Participación profesional</b> .....	<b>34</b>
<b>10. Bibliografía y referencias</b> .....	<b>36</b>
<b>Anexos</b> .....	<b>37</b>
<b>Anexo A1:</b> Poster “Characterization of trabecular bone by Fractal Dimension”.	
<b>Anexo A2:</b> Poster “Fractal-based image texture analysis of trabecular bone architecture to assess the bone health: The aging of the bone in Mexican men”.	
<b>Anexo B1:</b> Código del programa para el análisis fractal mediante el método del BC (por conteo de cajas).	
<b>Anexo B2:</b> Código de la subrutina del método del BC (por conteo de cajas).	
<b>Anexo C1:</b> Código del programa para el análisis fractal por el método de la FFT (transformada rápida de Fourier).	
<b>Anexo C2:</b> Código de la subrutina del método de la FFT (transformada rápida de Fourier).	
<b>Anexo D1:</b> Lista de Acrónimos.	
<b>Anexo D2:</b> Índice de tablas.	
<b>Anexo D3:</b> Índice de figuras.	

## Prefacio

La osteoporosis es una condición que actualmente aqueja a 200 millones de personas en el mundo, ocupando el quinto lugar en la escala de padecimientos prevalentes a nivel mundial; entendiéndose la prevalencia de un padecimiento como el número de personas que tienen la condición en cualquier momento. Por lo anterior, se le ha definido como una enfermedad sistémica del esqueleto, caracterizada por alteraciones cuantitativas y cualitativas que condicionan a una disminución de la capacidad mecánica del hueso aumentando el riesgo de su fractura.

Actualmente en nuestro país hay alrededor de 8 millones de adultos mayores y en el 2050 serán 35 millones los cuales serán susceptibles de sufrir osteoporosis; sin embargo, no se poseen estudios epidemiológicos que indiquen la frecuencia de este padecimiento en hombres, es decir no se tiene un índice de calidad ósea, lo cual es sumamente importante ya que la expresión de la enfermedad varía en función de cada grupo étnico.

El término “calidad ósea” resulta de la integración de otras dos calidades: la calidad mecánica del material mineralizado y la calidad arquitectónica del diseño del hueso; por lo que existe una necesidad de evaluar la calidad ósea para tener mayor capacidad de predicción en clínica, tanto en mujeres como en varones. Un primer paso es determinar cómo va evolucionando la microarquitectura en función de la edad, para lo cual se necesita un método de implantación rápida y efectiva, como son los métodos fractales, los cuales indican de forma global como la red trabecular va llenando el espacio.

Se ha demostrado la utilidad de los algoritmos de análisis de texturas óseas con técnicas fractales para la extracción de información relevante en el diagnóstico de imágenes médicas. Para este estudio, las imágenes médicas analizadas con métodos fractales se obtuvieron a partir de microscopio electrónico de barrido (MEB).

Se han seleccionado los métodos del BC (Box-Counting, por conteo de cajas) y el de la FFT (Fast Fourier Transform, transformada rápida de Fourier), debido a que, en cuanto al análisis del hueso trabecular, han proporcionado resultados más consistentes, considerando que el análisis fractal con el método del BC es un método estadístico el cual no incluye las matemáticas Euclidianas, mientras que el método de la FFT evalúa la anisotropía del tejido óseo.

Las vértebras se obtuvieron del Departamento de Anatomía de la facultad de Medicina de la UNAM, Servicio Médico Forense y de la Escuela Médico Militar, de hombres adultos de 30 a 70 años de edad, integrándose seis grupos de seguimiento con cinco vértebras de cada uno. Los criterios de inclusión se establecieron para individuos fallecidos por causa de traumatismo craneo encefálico, heridas por arma de fuego, infarto al miocardio no alcohólico y pancreatitis, todo ello sin historia de enfermedad ósea aparente. Se descartaron individuos muertos por alcoholismo y enfermedades renales.

La metodología que se desarrolló en este proyecto para el análisis de vertebras lumbares abarcó varios niveles: la obtención y acondicionamiento de muestras, la caracterización de las mismas por diferentes métodos, el análisis de datos mediante programas desarrollados y la síntesis con los resultados obtenidos.

La confiabilidad de la evaluación de la dimensión fractal (FD) de ambos métodos fue probada con imágenes sintéticas de una malla cuadrada, aumentando el grosor de las líneas. El resultado de estas pruebas fue que el tamaño y los detalles en la estructura tienen un efecto significativo en el rango en el que se aplica el ajuste de regresión lineal para obtener la FD. Sin embargo, ambos métodos estiman un incremento de la FD al aumentar el grosor de las líneas.

Una vez establecido lo anterior, con los puntos de las dimensiones fractales calculadas de cada segmento de las vertebrales, se construyeron superficies 3D, con el fin de comparar las condiciones normales, osteopenia y osteoporosis.

Todas estas superficies presentan características apreciables como la homogeneidad y la concavidad (hacia arriba y hacia abajo), destacando las líneas paralelas al eje-x que asemejan una distribución de líneas de tensión. Las proyecciones en tres dimensiones de la FD, con ambos métodos, reflejan la arquitectura trabecular multifractal y muestran claramente las diferencias de textura entre las tres condiciones estudiadas: la normal, la osteopenia y la osteoporosis.

Los resultados sugieren que el método de la FFT es aquel que proporciona mayor información, lo anterior se refleja en las figuras 6.10 y 6.20, ya que la curva trazada "Log magnitud vs Log Frecuency" esta construida por 49 puntos, a diferencia del método del BC, en el cual la curva "2D box-count" esta construida únicamente por 10 puntos, a su vez por el numero de puntos que conforma a cada curva se tienen extensiones diferentes de ésta, teniendo una longitud mayor la curva obtenida por el método de la FFT que la obtenida por BC. El hecho de tener pocos puntos con mucha dispersión hace que se presente una inestabilidad en el sistema y trae como resultado una regresión poco precisa con un porcentaje de error grande.

De manera que FFT brinda una estimación más precisa y coherente para la caracterización del hueso trabecular. Como se determina a partir del análisis de las superficies en 3D, en condiciones normales, la superficie tiende a ser cóncava hacia arriba, mientras que la superficie en la condición de osteopenia es casi plana, y finalmente, la condición de osteoporosis presenta una superficie 3D cóncava hacia abajo. Las mismas características fueron encontradas al analizar las otras once muestras de corte. El análisis estadístico de estas muestras será tema para otro artículo.

El desarrollo y el uso de este análisis revelan que, el parámetro de la concavidad de las superficies en 3D es un criterio que puede ser establecido para clasificar la condición de salud de los huesos, específicamente para muestras procedentes de los hombres mexicanos.

## 1. Objetivo

Comprobar la validez de la evaluación de la calidad arquitectónica de diseño del hueso trabecular a través de obtener la dimensión fractal (FD) de imágenes MEB (micrografías adquiridas por microscopio electrónico de barrido) con la aplicación de dos métodos de análisis fractal, BC (Box-Counting, por conteo de cajas) y FFT (Fast Fourier Transform, transformada rápida de Fourier), a muestras de la vértebra lumbar L3 de cadáveres de varones mexicanos con edades de entre los de 30 y los 79 años; lo anterior para determinar los cambios que se presentan en la arquitectura ósea debidos a la edad.

## 2. Introducción

### 2.1 Antecedentes del Proyecto

Debido al incremento en la expectativa de vida a nivel mundial, se ha estimado que en la actualidad hay 323 millones de individuos de 65 años de edad y se espera que para el año 2050 aumente a 1,555 millones. Además, el crecimiento poblacional del adulto en Asia, América Latina y África fue de 190 millones en 1990 y se esperan 1,271 millones en el 2050 [1-3]. En nuestro país actualmente hay alrededor de 8 millones de adultos mayores y en el 2050 serán 35 millones. Este aumento de la población será susceptible de sufrir osteoporosis. Se determinó que hay alrededor de 200 millones de personas en el mundo con este padecimiento, por lo que ocupa el quinto lugar en la escala de padecimientos prevalentes a nivel mundial; entendiéndose la prevalencia de un padecimiento como el número de personas que tienen la condición en cualquier momento.

Las alteraciones óseas son más frecuentes en la mujer, por tres factores como: los cambios hormonales que se presentan en la menopausia, un pico de masa ósea menor que la del hombre y del deterioro normal que sucede con la edad. Aunque en los hombres no se presentan cambios hormonales en la mitad de su vida, sus huesos también se afectan conforme van envejeciendo y son susceptibles de fracturarse. Las zonas más afectadas del cuerpo a sufrir fracturas son: antebrazo distal, columna vertebral, cadera, humero y pelvis [4]. Las fracturas de columna vertebral se presentaron en el año 2000 en una relación 1:6 (hombres-mujeres). Actualmente ha cambiado y es más alta en hombres que en las mujeres en los países europeos [2,5]. Todavía no es posible estimar la prevalencia de osteoporosis en hombres en comparación con las mujeres ya que no se ha acordado algún criterio clínico de diagnóstico para los hombres [5].

En nuestro país no hay estudios epidemiológicos que indiquen la frecuencia de osteoporosis en hombres, esto es importante ya que la expresión de la enfermedad varía en cada grupo étnico (generalmente la masa ósea es menor en personas de ascendencia caucásica y asiática). En 1991 se definió a la osteoporosis como una enfermedad sistémica del esqueleto caracterizada por alteraciones cuantitativas (masa ósea baja) y cualitativas (deterioro de la microarquitectura ósea) que condicionan a una disminución de la competencia mecánica del hueso, lo que lleva a un aumento del riesgo de fractura [6-8]. Esto constituye un gran problema de salud público-sanitario por el incremento de la morbi-mortalidad, mayor demanda de recursos socio-sanitarios y disminución de la calidad de vida.

La osteoporosis es más un síndrome que una enfermedad, ya que es el resultado de múltiples causas, y se manifiesta de diferentes formas en hombres y mujeres y debe considerarse como el producto de varios factores: genéticos, físicos, hormonales, metabólicos, nutricionales y tóxicos, que actúan solos o en combinación [9-10].

El hueso es considerado como un compuesto anisotrópico, poroso y tiene la capacidad de auto-repararse principalmente en dos fases (orgánica e inorgánica) e interfaces que proporcionan sus propiedades mecánicas. Su resistencia y su habilidad para oponerse a la fractura son dependientes de su masa, geometría y las propiedades intrínsecas del material que constituyen el tejido óseo [11,12].

Durante su evolución, el esqueleto de los vertebrados desarrolló una resistencia a la deformación e indirectamente a la fractura, adaptándose a los requerimientos del entorno y a las exigencias mecánicas dentro de los límites fisiológicos.

El hueso como biomaterial se compone de una mezcla de tres fases: la orgánica (p. colágeno), la inorgánica (p. fosfato de calcio) y agua. Debido a que la mujer es propensa a perder calcio en la lactancia y durante la menopausia se ha conducido al concepto de que la "deficiencia de calcio" produce enfermedades como la osteoporosis. Esta enfermedad se caracteriza por que el esqueleto exhibe una masa ósea baja, con alteraciones en su microarquitectura, es anormalmente poroso, frágil y con una tendencia a la fractura. La validez de esta teoría usa la cuantificación de la densidad mineral ósea (BMD), determinando el contenido de minerales en el tejido óseo, para lo cual recurre a la absorción de rayos X.

Sin embargo, usar la osteoporosis como indicador del riesgo de fractura ósea es inapropiada, ya que hay pacientes que sufren fracturas osteoporóticas con una densidad ósea normal, indicándonos que no solo la fase mineral se ve afectada durante el proceso de envejecimiento. El riesgo de fractura se deriva de problemas en alguna o de ambas fases que integran el hueso. Sí consideramos que la "calidad ósea" es sinónimo de la resistencia de cada hueso a la deformación y a la fractura, esta resulta de la integración de otras dos calidades: la calidad mecánica del material mineralizado, y la calidad arquitectónica del diseño del hueso, ambas se derivan de tres procesos esqueléticos fundamentales: el crecimiento endocondral, la modelación y la remodelación. Estos procesos son de origen celular y están genéticamente determinados, por lo que cada recurso terapéutico (fisiátrico, dietético, endocrino, o farmacológico) aplicado con miras a mejorar la calidad ósea cumplirá con su objetivo si y solo si: se modifica el trabajo celular en la dirección adecuada, se equilibra los efectos modelatorios o remodelatorios y si se afecta la calidad mecánica del material mineralizado y/o su distribución espacial.

La técnica de absorciometría dual de rayos X (DXA), está limitada en su habilidad para detectar individuos que sufrirán fractura, ya que BMD no puede medir la *micro-arquitectura* del hueso, la organización cristalina, la talla y la forma, la *conectividad de la red trabecular*, ni la habilidad de reparar micro-grietas, y mucho menos la estructura de las proteínas, por lo que se deben acoplar al menos otras dos técnicas para conocer el estado de salud del hueso.

Por lo anterior, hay una necesidad de evaluar la calidad ósea para tener mayor capacidad de predicción en clínica tanto en mujeres como en varones. Un primer paso es determinar cómo va evolucionando la microarquitectura en función de la edad, para lo cual se necesita un método de implantación rápida y efectiva, como son los métodos fractales, los cuales nos indican en forma global como es que la naturaleza va llenando el espacio [13].

La geometría fractal ha cobrado gran importancia en problemas de análisis de imágenes, especialmente en la medicina. Las imágenes médicas para ser analizadas se obtienen a partir de diferentes procedimientos: Rayos X, Ultrasonido, tomografía computarizada de emisión de fotón único, tomografía por emisión de positrones, resonancia magnética, microscopio electrónico de barrido (MEB) y dispositivos de carga acoplada, entre otros.

Numerosas publicaciones de la última década han demostrado la utilidad de los algoritmos de análisis de texturas óseas con técnicas fractales para la extracción de información relevante en el diagnóstico de imágenes médicas [14]. Estos incluyen la caracterización de la microarquitectura trabecular y su evolución en las enfermedades óseas.

Existen diversas técnicas mediante las cuales las imágenes con textura son examinadas a través de una serie de análisis estructurales que proporcionan información indirecta sobre la microarquitectura trabecular ósea. El análisis de la textura estructural consiste en la caracterización topológica de una proyección de la red trabecular, en la que se determina un umbral y la imagen se convierte en una imagen digital binaria. El valor de umbral es necesario para determinar los parámetros morfológicos, éste se obtiene a partir del valor promedio del histograma de escala de grises o utilizando alguna otra calibración interna [15,16].

En el análisis estadístico, las características diferenciales de las variaciones locales en el nivel de grises pueden ser descritas por medio de métodos tales como matrices de co-ocurrencia o el tiraje del nivel de grises [17,18]. El análisis fractal es un método estadístico el cual no incluye las matemáticas Euclidianas [18-20], mientras que el análisis de la anisotropía utiliza el hecho de que el tejido óseo es anisotrópico, considerando que el valor de anisotropía puede ser evaluado con diferentes métodos, tales como MIL (longitud media de intercepción) [21,22], los métodos basados en volúmenes [23] y la FFT [24].

El carácter fractal del hueso fue descubierto en 1994 por Benhamou, [19, 20] permitiendo el uso de la FD en las aplicaciones médicas. Desde entonces, muchos estudios han sido reportados incluyendo comparaciones entre sujetos sin ningún padecimiento y sujetos enfermos referidos al análisis de la anisotropía trabecular ósea [15-20]. La interpretación del diagnóstico de imágenes médicas es un proceso de varios pasos en los que el objetivo es el reconocimiento de posibles anomalías.

Sin embargo, los diferentes métodos de algoritmos desarrollados en computadora para determinar la FD proveen resultados diferentes. En cuanto al hueso trabecular el método de la FFT y el del BC han proporcionado resultados más consistentes [23,26]. En los estudios de biomecánica, se ha demostrado una clara relación entre las propiedades elásticas del hueso y la densidad ósea, sin embargo, en la práctica clínica utilizando solo el parámetro de densidad, es muy complicado distinguir los individuos con y sin osteoporosis debido a la superposición de los límites de las distribuciones de la densidad ósea de los huesos sanos y enfermos.

Si se tiene en cuenta la evolución y adaptación de los huesos, la estrategia estructural refleja un equilibrio entre la necesidad de mantener la integridad mecánica y la participación en la homeostasis de calcio a través de la formación organizada de células y la actividad de reabsorción [25].

## *2.2 Métodos y muestras para estudiar la naturaleza fractal*

El término fractal se utiliza para describir objetos geométricos o funciones que son invariantes de escala, es por esto que el concepto dimensión fractal tiene múltiples definiciones, pero todas coinciden en un punto: por lo general es un número fraccionario no entero [26]. Las dimensiones fractales

existentes incluyen la dimensión de Hausdorff, dimensión de caja, dimensión de información, dimensión de correlación, entre otros.

### A. Método del BC (por conteo de cajas)

El análisis por el método del BC es adecuado para calcular la FD de imágenes con o sin auto-similitud y de las imágenes fractales lineales y no lineales [17,18]. En este método, cada imagen está cubierta por una secuencia de redes de tamaño descendente, y para cada una de las redes se registran dos valores, el número de cajas que intersectan a la imagen,  $N(s)$ , y la longitud del lado de los cuadrados de la red,  $s$ .

La pendiente de la regresión lineal de  $\log(N(s))$  contra  $\log\left(\frac{1}{s}\right)$  indica el grado de complejidad o FD, este parámetro se encuentra entre 1 y 2 ( $1 \leq FD \leq 2$ ) [29,30]. La regresión lineal es:

$$\log(N(s)) = \log(C) + FD \log\left(\frac{1}{s}\right)$$

donde  $C$  es una constante y  $(N(s))$  es proporcional a  $\left(\frac{1}{s}\right)^{-FD}$ . Mediante un gráfico semi-logarítmico, la pendiente local se define como:

$$FD = - \frac{d \ln(N)}{d \ln(s)}$$

Si la FD es constante en un cierto rango de  $s$ , entonces FD es la dimensión fractal del conjunto  $C$ .

### B. Método de la FFT (transformada rápida de Fourier)

La transformada de Fourier representa una señal en el espacio de frecuencias espaciales. Una imagen puede ser considerada como un reparto de intensidades luminosas en un plano ( $x$  o  $y$ ) y se puede expresar como una función de dos dimensiones  $f(x, y)$ . La transformada de Fourier se expresa por una función  $F(u, v)$  con dos variables,  $U$  y  $V$  correspondientes a las frecuencias espaciales en el plano ( $u$  o  $v$ ). El espectro de la transformada de Fourier en 2D de una imagen se expresa mediante el siguiente modelo matemático:

$$F(u, v) = \frac{1}{N^2} \sum_{y=-\frac{N}{2}}^{\frac{N}{2}-1} \sum_{x=-\frac{N}{2}}^{\frac{N}{2}-1} f(x, y) e^{-2i\pi\left(\frac{ux}{N} + \frac{vy}{N}\right)}$$

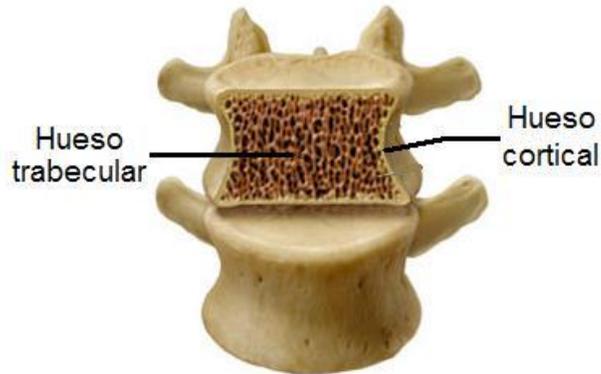
Donde  $u, v$  y  $x$  son las variables de la frecuencia y los dominios espaciales y  $N$  es el tamaño de la imagen. Cualquier estructura periódica en el dominio espacial original de la imagen está representada por los picos en el dominio de la frecuencia a una distancia que correspondiente al periodo en ángulo recto a la orientación original.

### **3. Definición del problema**

Para evaluar la calidad ósea y tener mayor capacidad de predicción en clínica tanto en mujeres como en varones es necesario determinar cómo es que la microarquitectura trabecular va evolucionando en función de la edad, para lo cual se necesita un método de implantación rápida y efectiva, como lo son los métodos fractales, que nos indican en forma global cómo es que la naturaleza va llenando el espacio. Una primera etapa, es determinar cuál es el método fractal que arroja los mejores resultados para de esta manera utilizarlo como uno de los parámetros para determinar la calidad ósea en varones mexicanos.

## 4. Desarrollo

El estudio se realiza en varones de la población mexicana en el intervalo de los 30 a los 79 años, se utiliza la vértebra L3; de acuerdo a la revisión bibliográfica realizada, la información referente a la población mexicana es escasa, la mayoría de los estudios se han realizado con personas de Estados Unidos y Europa. Una imagen 3D de la vértebra lumbar L3 se despliega en la figura 4.1, así como sus cortes para su estudio.



Vértebra lumbar 3, L3



Sección de la vértebra L3.



Corte longitudinal de la vértebra L3, cadáver de varón.

**Fig. 4.1.** Estructura, imagen 3D, sección y corte longitudinal de la vértebra lumbar L3.

### 4.1 Metodología

La metodología que se desarrolló en este proyecto, a diferencia de las utilizadas en la interpretación de diagnósticos de los estudios reportados anteriormente [23, 26], abarcó diferentes niveles: la obtención y acondicionamiento de muestras, la caracterización de las mismas por diferentes métodos, el análisis de datos mediante programas desarrollados y la síntesis con los resultados obtenidos.

Se eligió la vértebra lumbar porque es más evidente la pérdida del volumen óseo (53%), que en las torácicas (41%) y cervicales (24%), en los hombres con edades de 30 a 79 años, además es la de más fácil acceso desde el punto de vista anatómico, ya que no se sobrepone con las costillas ni con la cresta ilíaca.

## 4.2 Preparación y acondicionamiento de muestras

Las vértebras se obtuvieron del Departamento de Anatomía de la facultad de Medicina de la UNAM, Servicio Médico Forense y de la Escuela Médico Militar, de hombres adultos de 30 a 79 años de edad, integrándose cinco grupos de seguimiento con cinco vértebras de cada uno (ver Tabla 4.1).

**Tabla 4.1.** Grupos de seguimiento.

<b>Grupo etario</b>	<b>Edad aparente (años)</b>
<b>I</b>	<b>30-39</b>
<b>II</b>	<b>40-49</b>
<b>III</b>	<b>50-59</b>
<b>IV</b>	<b>60-69</b>
<b>V</b>	<b>70-79</b>

Los criterios de inclusión se establecieron para individuos fallecidos por causa de traumatismo craneo encefálico, heridas por arma de fuego, infarto al miocardio no alcohólico, pancreatitis y sin enfermedad ósea aparente, se descartaron individuos muertos por alcoholismo y enfermedades renales debido a que el consumo excesivo de alcohol provoca la pérdida de masa ósea derivada del daño provocado al hígado, órgano donde se sintetiza la vitamina D, fundamental en la formación de los huesos; y debido a que las enfermedades renales provocan el trastorno de las funciones excretoras y reguladoras de los riñones lo cual da lugar a complicaciones que afectan prácticamente a todos los sistemas orgánicos.

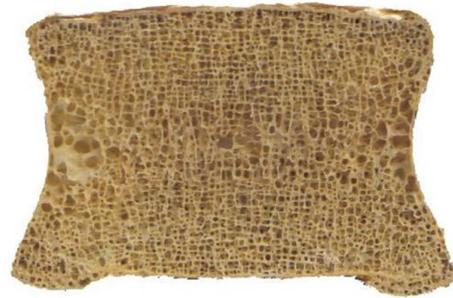
Las muestras se trataron en consideración al capítulo VI del artículo 60 del reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación. A las vértebras se les eliminó manualmente el tejido blando, con un bisturí para no alterar la estructura ósea, una vez limpias de tejido, se fijaron en glutaraldehído al 2.5% en buffer de fosfatos (pH=7.4, 0.1M) durante 48 horas a 4°C y se les realizaron dos lavados con buffer de fosfato salino (PBS), posteriormente las muestras se mantuvieron a -30°C para evitar la formación de artefactos. La BMD se determinó por tomografía axial computarizada (CAT) (SOMATOM AR SIEMENS, Estados Unidos de América), para ello las vértebras se incluyeron en agua que simulaban los tejidos blandos del cuerpo, los resultados se expresaron en mg/ml. A continuación las vértebras se seccionaron por el centro del cuerpo vertebral en cortes longitudinales de 2-4 mm de espesor con una sierra de precisión de avance lineal y disco de diamante (Isomet 4000 Buehler, Estados Unidos de América).

Cada corte longitudinal fue limpiado por medio de ultrasonido (cavitación) en agua (Cole Palmer 1000, Illinois USA) durante una hora, y los restos de médula ósea se eliminaron manualmente, se lijaron y secaron durante 48 horas a 37°C, la vista final de tres vértebras se aprecia en la tabla 4.2 donde se incluyen las figuras 4.2, 4.3 y 4.4.

Es importante mencionar que a diferencia de la densidad [kg/m<sup>3</sup>], el peso [g] y el volumen [cm<sup>3</sup>] no pueden ser considerados parámetros para determinar la condición de la vértebra, esto se muestra en la Tabla 4.3, donde la densidad de la vertebra normal es mayor a la de la osteopénica y a su vez la densidad de ésta última es mayor a la de la osteoporótica. A cada una de estas vertebra se le realizó un barrido micrométrico para la adquisición de las imágenes MEB.

**Tabla 4.2.** Imágenes de las muestras caracterizadas por CAT y tomadas como plataforma para el estudio por fractales.

**Fig. 4.2.** Vértebra BP-372 / Osteopénica.



**Fig. 4.3.** Vértebra BP-424 / Osteoporótica.



**Fig. 4.4.** Vértebra BP-428 / Normal.

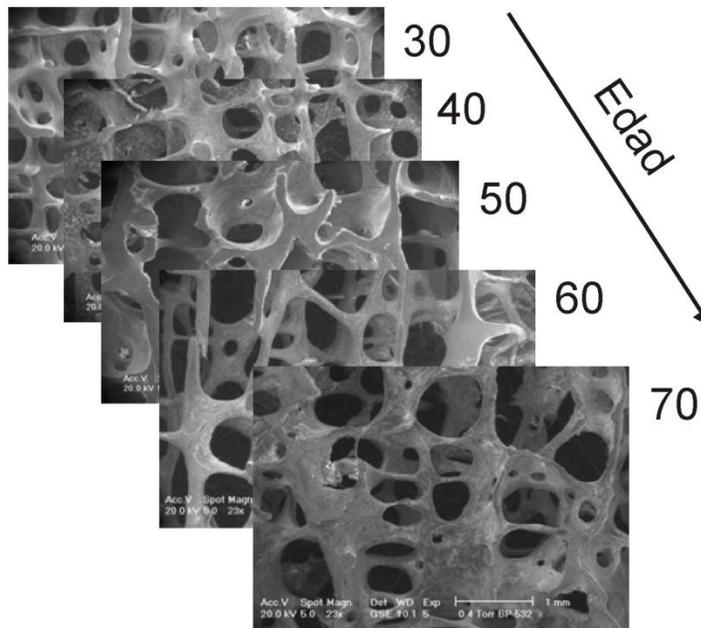


**Tabla 4.3.** Características físicas de las tres muestras que fueron seleccionadas para utilizarlas como plataforma en este estudio con las condiciones de hueso definidas como: sana, osteopénica y osteoporótica mediante CAT.

Vértebra/ condición	Peso, [g]	Volumen, [cm <sup>3</sup> ]	Densidad [kg/m <sup>3</sup> ]	Espesor [mm]	T-score BMD [mg CA/cm <sup>3</sup> ]
BP-372 - 32 años Osteopénica	1.38±0.10E-4	1.08±0.84E-2	1276±91.99	3.31±0.04	-2.4 29.90
BP-424 - 70 años Osteoporótica	0.73±2.00E-4	0.64±0.11	1134±171.20	2.68±0.05	-4.1 39.2
BP-428 - 35 años Normal	1.23±5.02E-4	0.9±0.20	1371±248.86	2.46±0.02	0 146.3

## 5. Adquisición de imágenes MEB

El estudio de las vértebras lumbares L3 se inicia con la obtención de imágenes con calidad de 1.3 Mpx mediante MEB. En la figura 5.1 se despliega una serie de imágenes MEB mismas que denotan cambios microestructurales en función de la edad de las muestras adquiridas y acondicionadas de varones mexicanos. Primeramente, se realiza un barrido micrométrico de la muestra adquiriendo las imágenes MEB, para posteriormente unir cada una de éstas digitalizándolas con el software Photoshop CS3® asistido por el comando Photomerge®. Esta aplicación permite formar imágenes panorámicas a partir de un número determinado de imágenes digitales gracias a que cuenta con la capacidad de vectorizar la imagen por medio de un algoritmo que las dimensiona y con base en la coincidencia de píxeles de una con otra, el programa las empalma, permitiendo fusionarlas sin perder detalle alguno de ellas.



**Fig. 5.1.** Micrografías MEB en donde se observa el deterioro micro-arquitectónico del hueso trabecular en función de la edad.

La aplicación proporciona diferentes formas de realizar esta acción, ya que lo pude realizar de manera automática, construir una imagen panorámica con perspectiva o con forma cilíndrica, además de ofrecer la opción de realizarlo interactivamente, esta última representa la mejor opción para realizar la imagen panorámica debido a la no uniformidad de las imágenes obtenidas por MEB. Para tener una panorámica exitosa, los empalmes entre imágenes deben ser de entre 15% y 40% de la imagen, cosa que no sucedía en todos los casos, de manera que en donde se cumplía con estos parámetros Photomerge realizaba el empalme de las imágenes y en los casos contrarios, la aplicación requería la intervención del usuario, el cual por medio del arrastre y la superposición de la imagen indicaba los puntos de coincidencia; lo anterior aunado al análisis de la aplicación, hizo posible obtener una fusión exitosa de las imágenes MEB.

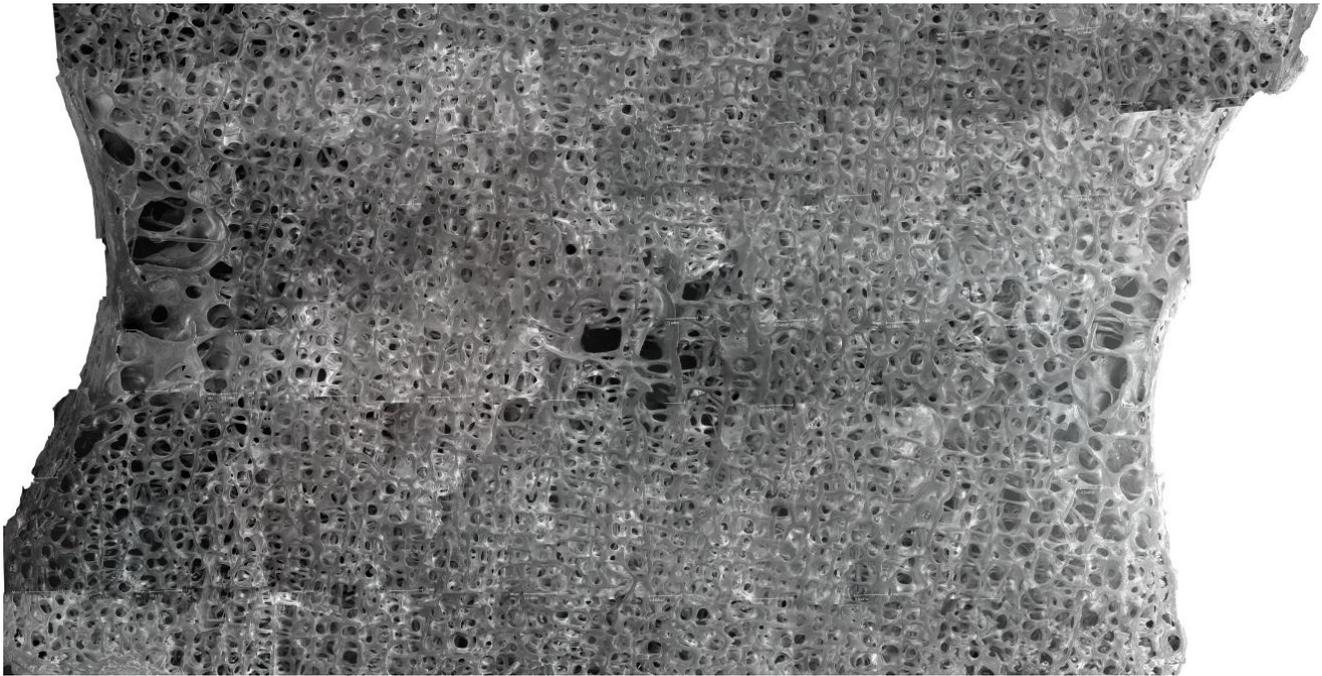
La construcción de la imagen se inició con la obtención de imágenes panorámicas horizontales (P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8...Pn), las cuales al ser obtenidas fueron fusionadas nuevamente, es decir, P1 con P2, P3 con P4, y así sucesivamente, obteniendo nuevas filas de imágenes panorámicas (P12, P34, P56, P78, etc.); este procedimiento se siguió hasta que se obtuvo una imagen formada por todas las filas de imágenes construidas desde el inicio. En la Tabla 5.1 se indican las características de las imágenes panorámicas construidas.

**Tabla 5.1.** Características de las imágenes panorámicas construidas.

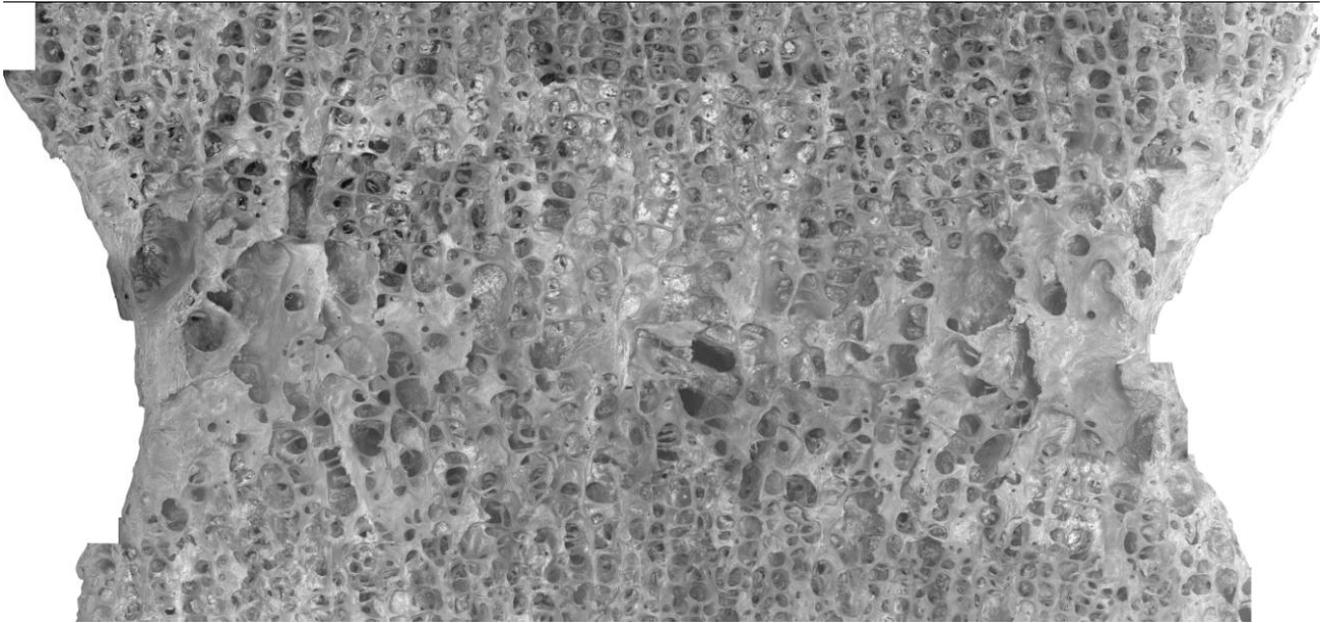
Vértebra/ condición	Núm. de Imágenes	Resolución	Segmentos analizados	Figura
BP-372 - 32 años Osteopénica	108 de 1.3 Mpx.	68.15 Mpx.	276	5.2
BP-424 - 70años Osteoporótica	77 de 1.3 Mpx.	59.83 Mpx.	209	5.3
BP-428 - 35 años Normal	105 de 1.3 Mpx.	68.15 Mpx.	260	5.4

Posteriormente, las imágenes fueron segmentadas como lo indica la cuarta columna de la tabla 5.1, estos segmentos son de una dimensión de 512 x 512 px, a su vez éstas fueron ecualizadas una a una para después analizar su histograma, el cual proporciona el valor medio de la escala de grises, este dato es clave y se utilizó en el procesamiento digital de imágenes mediante algoritmos fractales.

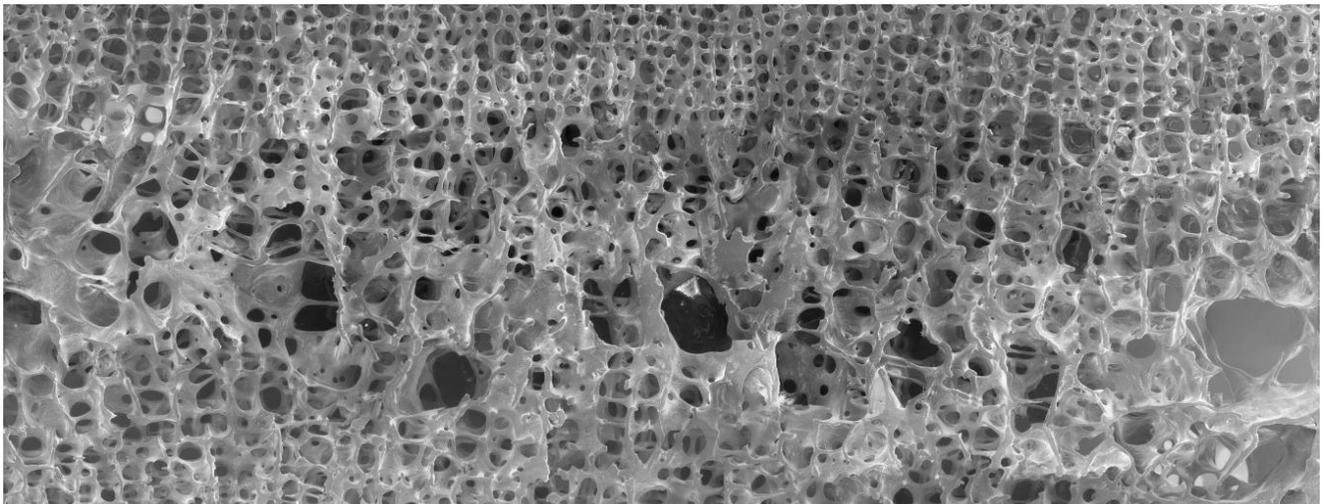
Las Figuras 5.2, 5.3 y 5.4 despliegan las imágenes panorámicas construidas pertenecientes a las vértebras 372, 424 y 428, respectivamente.



**Fig. 5.2.** Vértebra 372 con osteopenia diagnosticada.



**Fig. 5.3.** Vértebra 424 con osteoporosis diagnosticada.



**Fig. 5.4.** Vértebra 428 con ningún padecimiento óseo diagnosticado.

## 6. Procesamiento de imágenes

### 6.1 Dimensión Fractal a través del método del BC (por conteo de cajas)

La FD de cada segmento se obtuvo por medio del software matemático MATLAB®, se desarrolló un programa en donde se emplea, a través de una subrutina el método del BC (ver Anexo B1 y B2). Este método coloca la imagen en un plano con una red que tiene un determinado número de cuadrados (cajas), esta red tiene una dimensión  $h$ . En vez de encontrar el tamaño exacto del fractal, se cuentan el número de cajas que no están vacías, es decir, el número de cajas que cubren a la imagen, a este número de cajas se le denomina  $N$ . Entre más pequeñas se hagan las cajas, el análisis es más fino, esto es lo mismo que aumentar el tamaño de la imagen.

La ampliación de la imagen  $e$ , es igual a  $\frac{1}{h}$ , de manera que la FD está dada por:

$$D = \frac{\log N}{\log\left(\frac{1}{h}\right)}$$

Para el análisis del segmento de cada vértebra se debe asignar una matriz  $i$  a esta, una vez realizado lo anterior, se extrae el fondo de la imagen binarizándola para niveles generalmente mayores de 120 y menores de 130 (este valor es introducido por el usuario al programa y corresponde al valor medio de la escala de grises) haciendo así que los pixeles blancos sean los de interés (pixeles verdaderos).

Para obtener las gráficas de la FD, se utilizan los vectores  $n$  y  $r$  del análisis anterior; al ser graficados los vectores muestran una curva con 3 segmentos de recta perfectamente identificables, de estos el de mayor interés y donde se centra el análisis es el segundo, ya que el primero es un análisis fractal burdo sobre la imagen y la tercera representa una constante para todos los segmentos, ya que al incrementarse el número de cajas que llenan la estructura trabecular se tendrá un valor cercano a dos; de manera que la FD de cada segmento se determina a partir de calcular la pendiente del segundo segmento de la recta (ver Fig. 6.10).

La figura 6.1 muestra la distribución de los datos (número de segmento, posición en el espacio (fila y columna), valor de umbral y dimensión fractal) en las matrices de las figuras 6.2, 6.3 y 6.4, mismas que contienen los datos obtenidos de los análisis efectuados, con el método del BC, a cada segmento de las vértebras en estudio.

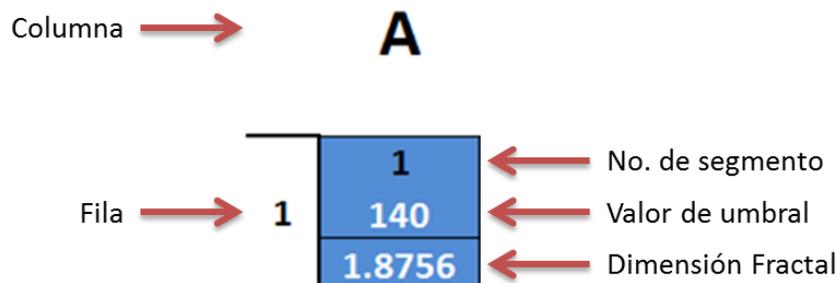


Fig. 6.1. Distribución de datos en matrices, información obtenida a partir del análisis efectuado por el método del BC.

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y

1	125.5	126.3	125.82	125.66	126.28	127.33	127.36	127.37	127.36	127.51	127.43	127.42	127.52	127.46	127.6	127.54	127.55	127.6	127.56	127.6	127.56	127.6	127.5	127.51	127.52
	1.9283	1.9070	1.9223	1.8974	1.8893	1.9070	1.9094	1.9017	1.9188	1.8746	1.8949	1.8920	1.8921	1.8771	1.8912	1.9148	1.9139	1.8984	1.9118	1.8979	1.9057	1.8907	1.8845	1.9096	
2	126.48	126.98	124.44	127.03	127.29	127.23	127.39	127.36	127.38	127.34	127.44	127.56	127.54	127.6	127.54	127.64	127.5	127.54	127.6	127.59	127.56	127.54	127.5	127.52	127.52
	1.8885	1.9056	1.9320	1.9044	1.9136	1.9240	1.9163	1.9046	1.9227	1.9050	1.9125	1.8864	1.8762	1.8915	1.9041	1.9161	1.9089	1.9100	1.9160	1.9116	1.9065	1.9065	1.8940		
3	127.77	126.98	127.47	127.32	127.38	127.47	127.28	127.38	127.36	127.38	127.46	127.55	127.57	127.5	127.63	127.46	127.56	73.62	127.6	127.5	127.52	127.5	127.52	127.53	
	1.9080	1.9056	1.8826	1.9091	1.8989	1.8963	1.8998	1.9024	1.8950	1.9170	1.9271	1.9265	1.8762	1.8954	1.8934	1.9016	1.8934	1.9016	1.8926	1.8875	1.8873	1.8888	1.8888		
4	127.49	127.45	127.47	127.42	127.29	127.21	127.21	127.27	127.26	127.22	127.21	127.21	127.49	127.42	127.63	127.48	127.53	127.61	127.6	127.52	127.48	127.52	127.52	127.52	
	1.9122	1.9133	1.8934	1.9239	1.9148	1.9226	1.9145	1.9017	1.8675	1.9037	1.8843	1.8765	1.9069	1.8929	1.9080	1.9021	1.8919	1.9042	1.8929	1.8929	1.8997	1.9020			
5	127.39	127.51	127.51	127.47	127.3	127.21	127.2	127.08	127.28	127.41	127.49	127.54	127.56	127.62	127.68	127.73	127.75	127.62	127.73	127.69	127.52	127.52	127.53		
	1.9022	1.9133	1.9272	1.9010	1.9101	1.9094	1.9140	1.9196	1.8998	1.9252	1.8965	1.8719	1.8934	1.9205	1.9093	1.9048	1.8943	1.9094	1.8729	1.9105					
6	127.48	127.54	127.39	127.38	127.34	127.32	127.27	126.99	127.13	127.18	127.54	127.71	127.59	127.68	127.76	127.75	127.94	128.08	127.74	128.08	127.74	128.08	127.74		
	1.9007	1.8559	1.8988	1.8941	1.8906	1.9083	1.9150	1.9171	1.8905	1.9260	1.9352	1.9327	1.8956	1.9032	1.9013	1.9035	1.8961	1.8804	1.8824	1.8824	1.8824	1.8824	1.8834		
7	127.44	127.47	127.07	127.42	127.26	127.34	127.16	127.16	127.27	128	127.61	127.57	127.64	127.57	127.76	127.75	127.74	127.86	127.74	127.86	127.74	127.86	127.74		
	1.9263	1.9115	1.9404	1.8872	1.8983	1.9129	1.9058	1.9050	1.9093	1.9338	1.9084	1.9330	1.8957	1.9033	1.8921	1.8989	1.8865	1.8620	1.8878	1.8559					
8	127.45	127.53	126.83	127.56	127.11	127.2	127.04	127.26	127.41	127.57	127.56	127.52	127.61	127.61	127.65	127.63	127.68	127.86	127.79	128.33	127.79	128.33			
	1.9379	1.9172	1.9188	1.8828	1.8920	1.8944	1.9140	1.9014	1.9304	1.9342	1.9406	1.8921	1.9077	1.8903	1.8905	1.8834	1.8787	1.8870	1.8894	1.8708					
9	127.5	127.56	127.31	124.59	126.92	127.18	127.05	127.16	127.22	127.45	127.66	127.58	127.74	127.56	127.63	127.68	127.63	127.73	127.78	127.87	127.78	127.87			
	1.8860	1.9110	1.9290	1.9230	1.9056	1.9043	1.9011	1.9020	1.9001	1.9308	1.9311	1.8718	1.9058	1.9099	1.9067	1.9171	1.8737	1.8953	1.8717	1.8958					
10	127.53	127.39	127.55	127.35	126.5	127.1	127.26	127.45	127.34	127.51	127.65	127.55	127.5	127.52	127.55	127.66	127.71	127.75	127.54	127.69	128.22	127.69	128.22		
	1.8889	1.9103	1.9273	1.9404	1.9040	1.9078	1.9182	1.9015	1.9117	1.9099	1.8920	1.8921	1.9000	1.9026	1.9005	1.9075	1.9178	1.8759	1.8775	1.8772	1.8819				
11	127.47	127.63	127.71	127.56	127.32	127.15	127.25	127.55	127.49	127.6	127.54	127.55	127.53	127.51	127.66	127.73	127.69	127.74	127.6	127.67	128.46	127.67	128.46		
	1.9023	1.8805	1.9067	1.8703	1.8716	1.9044	1.9063	1.8990	1.8921	1.8906	1.8916	1.8916	1.8916	1.8916	1.9076	1.8953	1.8984	1.8764	1.8906	1.8742	1.8809				
12	127.44	127.46	127.58	127.54	127.48	127.39	126.69	127.41	127.48	127.42	127.49	127.53	127.59	127.59	127.72	127.73	127.66	127.55	127.74	128.03	127.74	128.03			
	1.9116	1.9611	1.9130	1.9255	1.9120	1.8679	1.8950	1.8823	1.9031	1.8889	1.8932	1.8863	1.8972	1.8929	1.9051	1.8805	1.8957	1.8796	1.8779	1.8908	1.8760				
13	127.08	127.61	127.67	127.54	127.48	127.48	127.48	127.5	127.46	127.47	127.49	127.56	127.5	127.54	127.72	127.43	127.61	127.86	128.05	127.86	128.05	127.86	128.05		
	1.9030	1.8991	1.8408	1.9120	1.8940	1.8723	1.8977	1.9094	1.9109	1.9032	1.8991	1.8742	1.8945	1.9127	1.9031	1.8955	1.8852	1.8924	1.9049	1.8972					

Fig. 6.2. Datos del análisis, mediante el método del BC, efectuado a cada segmento de la vértebra 372.

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X

1	140	129	136	141	137	135	138	133	120	110	120	111	112	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	1.8756	1.8798	1.8868	1.9046	1.8656	1.8918	1.9018	1.8883	1.8907	1.8088	1.8305	1.8583	1.8656	1.8656	1.9023	1.8573	1.9334	1.8859	1.8121	1.8864	1.8114	1.9156	1.8931	1.9192	1.9300
2	26	138	130	143	113	135	135	140	135	140	140	133	140	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	
2	1.9093	1.9239	1.9112	1.8820	1.7921	1.9047	1.9088	1.9201	1.8875	1.9215	1.9049	1.8790	1.9072	1.9090	1.9130	1.9043	1.8520	1.8923	1.9016	1.8852	1.9098	1.9291	1.9490		
3	48	118	132	153	133	123	138	116	124	138	149	139	138	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68		
3	1.9604	1.8632	1.8695	1.9229	1.8892	1.8537	1.8923	1.8178	1.8434	1.8886	1.9205	1.8901	1.9104	1.8904	1.9076	1.9076	1.9204	1.8813	1.9166	1.8638	1.9002	1.9176			
4																									
4																									
5																									
5																									
6																									
6																									
7																									
7																									
8																									
8																									
9																									
9																									
10																									
10																									
11																									
11																									

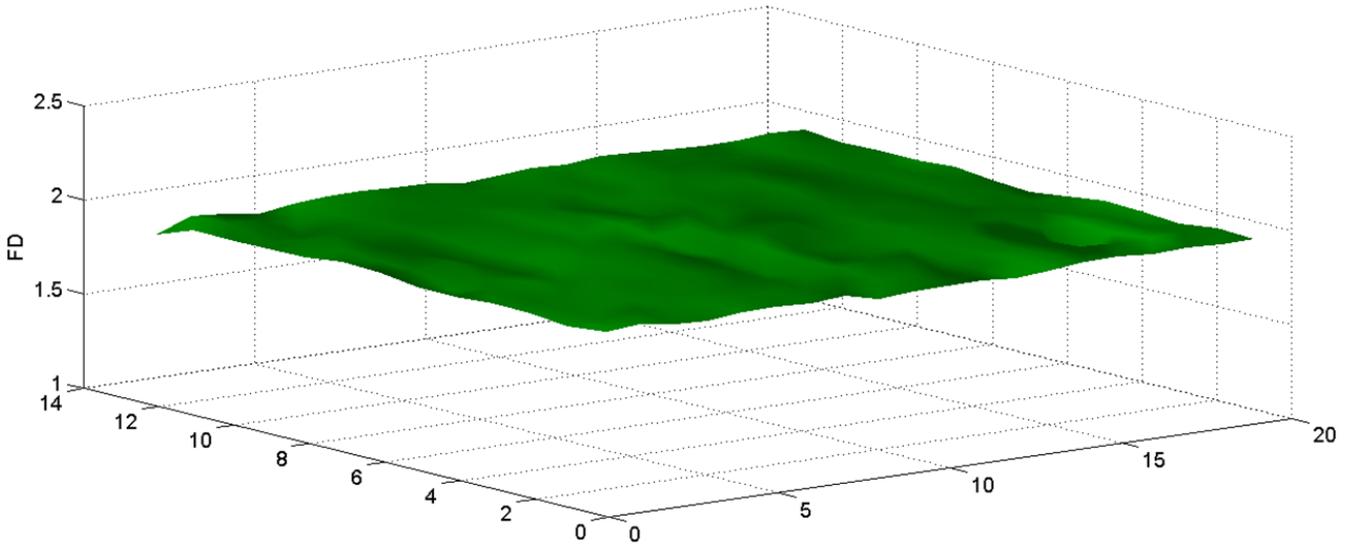
Fig. 6.3. Datos del análisis, mediante el método del BC, efectuado a cada segmento de la vértebra 424.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	
1	145	141	38	37	140	129	34	58	152	153	155	133	131	134	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
1	1.8830	1.8520	1.5297	1.5604	1.8353	1.8333	1.5462	1.6227	1.8664	1.8863	1.8865	1.8818	1.8695	1.8815	1.8990	1.8895	1.8526	1.6068	1.8487	1.7912	1.8629	1.8689	1.8800	1.8523	1.8338	1.8660	
2	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	
2	148	85	128	60	94	113	149	59	163	164	130	144	129	130	163	130	89	149	47	52	127	153	130	173	146	146	
2	1.8750	1.7074	1.8191	1.6561	1.7563	1.7655	1.8651	1.6140	1.8814	1.9065	1.8219	1.8545	1.8195	1.8959	1.8815	1.9094	1.8297	1.7188	1.8617	1.5476	1.5788	1.8082	1.8642	1.8133	1.9077	1.8660	
3	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	
3	166	33	119	122	93	87	119	109	131	165	139	101	132	73	90	149	129	136	152	58	31	20	32	45	87	153	
3	1.8947	1.5310	1.8131	1.8142	1.7534	1.7095	1.8157	1.8048	1.8177	1.9109	1.8400	1.7521	1.8302	1.6897	1.7634	1.8842	1.8214	1.8556	1.8750	1.6550	1.6212	1.4954	1.4556	1.5870	1.7302	1.8745	
4	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	
4	95	126	132	17	12	144	138	72	10	173	129	164	134	126	110	118	14	94	82	114	127	137	155	101	42	133	
4	1.7895	1.8187	1.8185	1.5389	1.6829	1.9056	1.8559	1.6838	1.4561	1.9222	1.8459	1.9147	1.8552	1.8235	1.8168	1.8461	1.5771	1.7398	1.7222	1.8265	1.8340	1.8825	1.8890	1.7966	1.5631	1.8533	
5	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	
5	124	159	49	19	148	19	125	177	139	167	135	96	127	142	128	107	108	163	150	17	84	30	146	19	82	40	
5	1.8280	1.8952	1.7699	1.6131	1.8535	1.6331	1.8415	1.9201	1.8528	1.9201	1.8078	1.7712	1.8777	1.8937	1.8490	1.8203	1.8150	1.9163	1.8814	1.6234	1.7130	1.7216	1.8648	1.4989	1.7603	1.5842	
6	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	
6	151	111	159	132	189	90	26	64	124	127	99	122	154	20	152	123	97	144	176	117	177	141	76	65	37	137	
6	1.8827	1.7993	1.8918	1.8835	1.9412	1.7658	1.6673	1.6968	1.8545	1.8504	1.8402	1.8128	1.8933	1.9114	1.8957	1.8469	1.7855	1.8707	1.9255	1.8260	1.9290	1.8596	1.7007	1.6817	1.6121	1.8637	
7	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	
7	139	117	154	118	132	155	43	158	120	100	84	8	157	87	22	8	129	13	32	98	72	134	21	27	80	62	
7	1.8491	1.8255	1.8988	1.8199	1.8414	1.8715	1.8241	1.9046	1.8456	1.8050	1.7812	1.5645	1.8944	1.8003	1.7423	1.7460	1.8227	1.9378	1.7830	1.7792	1.6956	1.8514	1.4598	1.6877	1.8319	1.7962	
8	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	
8	123	25	115	151	150	18	143	162	59	16	104	105	173	101	174	103	129	106	109	142	15	149	61	25	73	51	
8	1.8039	1.6222	1.7856	1.8782	1.8672	1.6610	1.8516	1.9195	1.8002	1.6483	1.7902	1.8317	1.9364	1.7703	1.9401	1.8406	1.8493	1.8234	1.7926	1.8556	1.4120	1.8764	1.7175	1.4790	1.7601	1.7236	
9	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	
9	132	11	19	17	106	155	139	153	450	13	128	134	172	121	130	103	125	110	143	120	34	13	159	99	20	56	
9	1.8394	1.5988	1.5095	1.4928	1.7664	1.8852	1.8548	1.8926	1.8819	1.5630	1.8762	1.8450	1.9139	1.8392	1.8558	1.7876	1.8551	1.8231	1.8788	1.8149	1.7585	1.5697	1.8958	1.7707	1.6018	1.7683	
10	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	
10	126	163	81	158	128	156	157	146	130	148	156	185	133	159	148	129	72	141	25	106	14	97	103	194	39	39	
10	1.8211	1.8918	1.7150	1.8798	1.8255	1.8969	1.8983	1.8811	1.8567	1.8826	1.8913	1.9408	1.8584	1.8871	1.8738	1.8298	1.7139	1.8852	1.5550	1.7821	1.5154	1.8586	1.7942	1.9591	1.6516	1.6762	

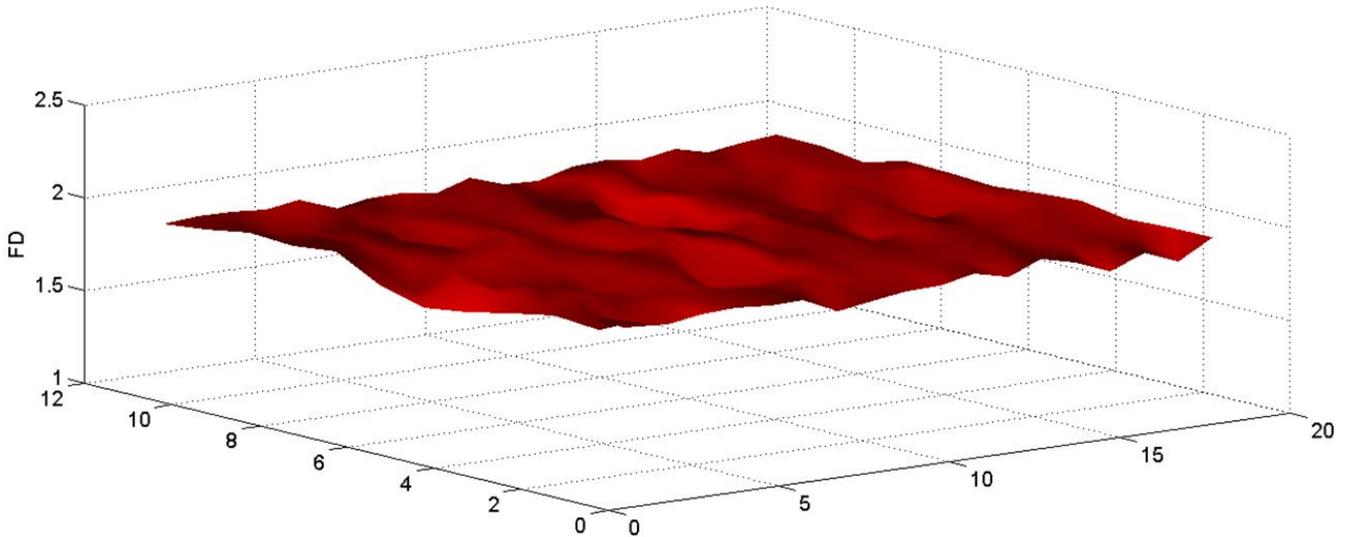
Fig. 6.4. Datos del análisis, mediante el método del BC, efectuado a cada segmento de la vértebra 428.

### 6.1.1 Análisis y resultados del método del BC (por conteo de cajas)

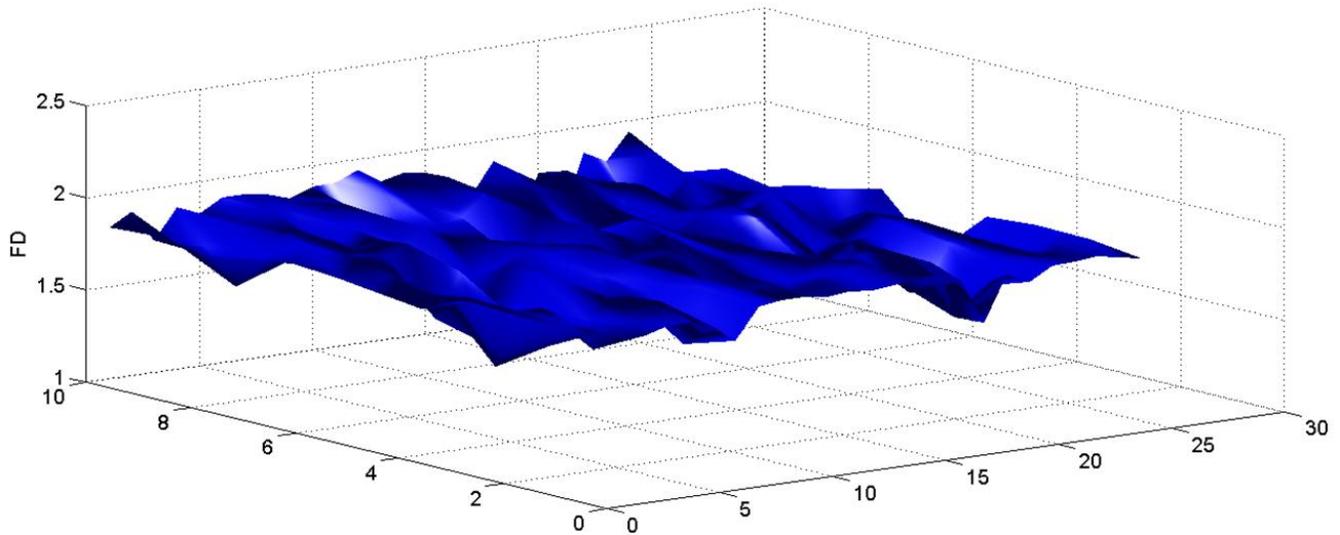
Para la construcción de las superficies en 3D mediante el método del BC (Fig. 6.5, 6.6 y 6.7), fue necesario establecer dos variables,  $X$  e  $Y$ , las cuales relacionan el segmento estudiado con la posición que éste ocupa en el espacio, y a su vez, la proyección en el plano  $Z$  está dada por el valor de la FD obtenida del procesamiento aplicado a los segmentos propios de cada vértebra.



**Fig. 6.5.** Superficie en 3D construida a partir de las dimensiones fractales obtenidas a través del método del BC aplicado a los segmentos de la vértebra 372.



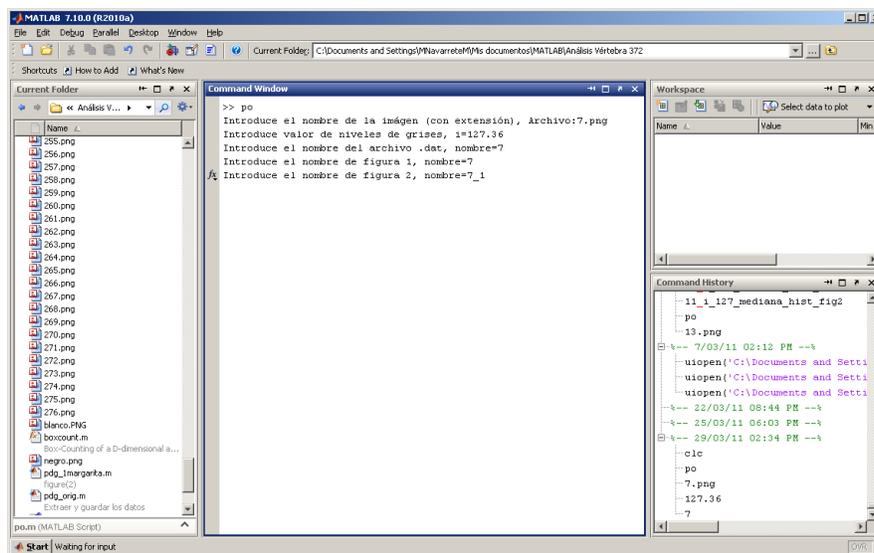
**Fig. 6.6.** Superficie en 3D construida a partir de las dimensiones fractales obtenidas a través del método del BC aplicado a los segmentos de la vértebra 424.



**Fig. 6.7.** Superficie en 3D construida a partir de las dimensiones fractales obtenidas a través del método del BC aplicado a los segmentos de la vértebra 428.

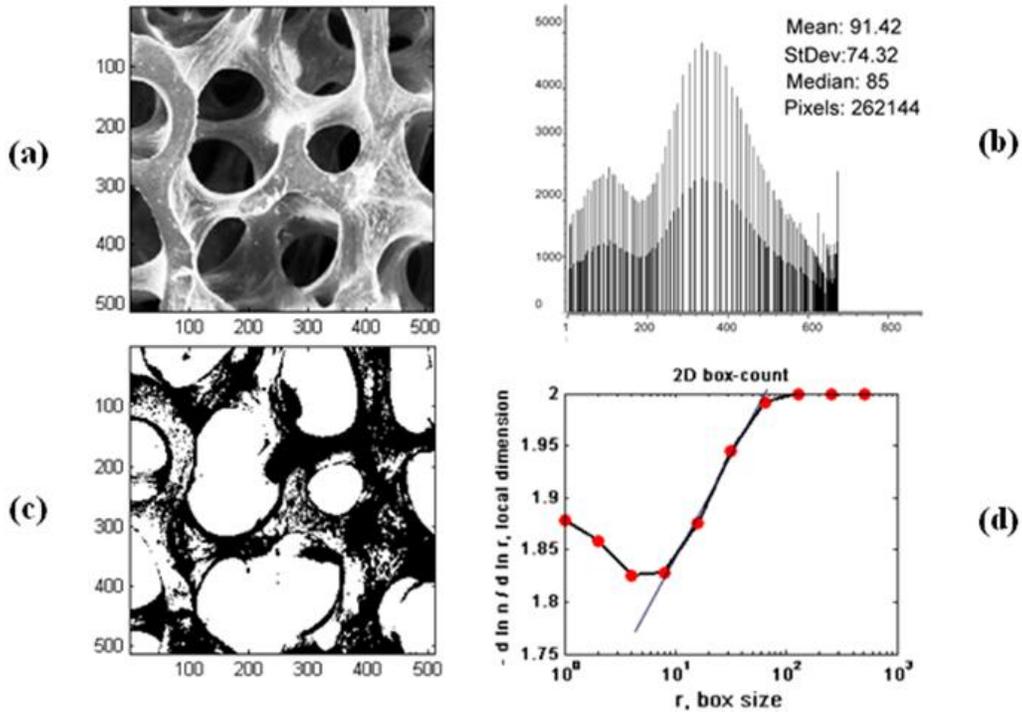
La figura 6.8 muestra la pantalla inicial del programa desarrollado en MATLAB® para el análisis mediante el método del BC. Los campos que el usuario debe introducir son:

- Nombre del archivo de la imagen seguido de la extensión de la misma (.jpg, .jpeg, .tiff, .png, etc.).
- El valor de niveles de grises (Threshold value).
- Nombre del archivo para la figura 1 (ver Fig. 6.9) .
- Nombre del archivo para la figura 2 (ver Fig. 6.10).

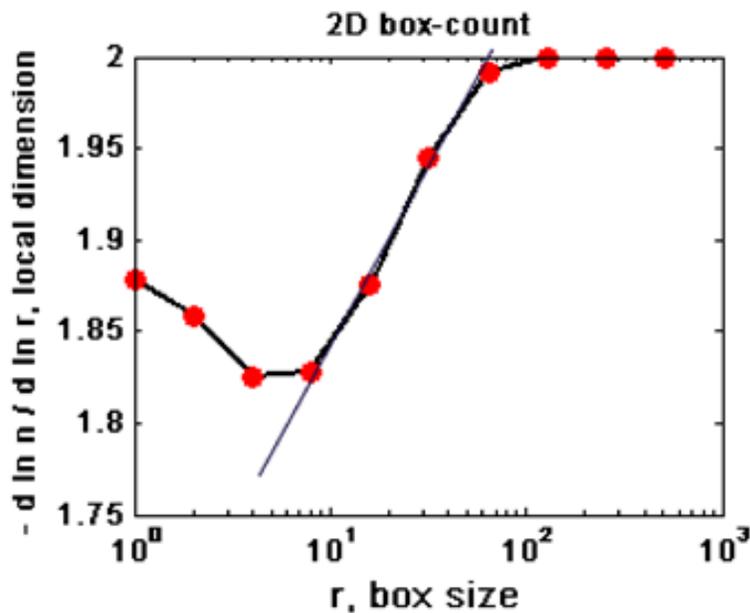


**Fig. 6.8.** Pantalla inicial del programa desarrollado en MATLAB para la obtención de la FD mediante el método por conteo de cajas (Box-Counting).

Para determinar la FD de cada segmento, fue necesario analizar lo que se denominó como Figura 1 (ver Fig. 6.9) la cual describe 4 gráficos correspondientes a: la imagen en blanco y negro ecualizada, el histograma, la imagen banalizada y finalmente la gráfica obtenida al aplicar el método del BC al segmento de la vértebra analizado.



**Fig. 6.9.** (a) Imagen en blanco y negro ecualizada, (b) histograma, (c) imagen banalizada y (d) gráfica de los vectores  $n$  y  $r$  para determinar la FD.



**Fig. 6.10.** Gráfica de los vectores  $n$  y  $r$ ; la FD se determina a partir de calcular la pendiente del segundo segmento de la curva.

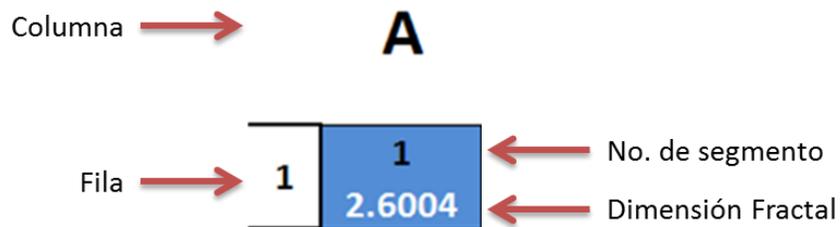
## 6.2 Dimensión Fractal a través del método de la FFT (transformada rápida de Fourier)

El análisis fractal a través de la FFT, se obtuvo por medio del software matemático MATLAB®, se desarrolló un programa en donde se emplea a través de una subrutina, el método de la FFT (ver Anexo B3 y B4).

Este análisis se realiza a partir de los segmentos obtenidos en el inicio del procesamiento digital de las imágenes, es decir, los mismos segmentos acondicionados empleados con el método del BC se utilizan para el análisis fractal del método de la FFT.

Las gráficas de la FD se obtienen a partir de los vectores magnitud y frecuencia, determinados mediante el análisis fractal que se describe en el párrafo anterior; al ser graficados logarítmicamente se obtiene una curva compuesta por 49 puntos (ver Fig. 6.20), esto es una curva compuesta por 49 segmentos de recta con una tendencia lineal y dado que se determina la FD a partir de esta, es necesario aplicar un ajuste lineal a la curva para que de esta manera se calcule su pendiente y se obtenga la FD.

La figura 6.11 muestra la distribución de los datos (número de segmento, posición en el espacio (fila y columna) y dimensión fractal) en las matrices de las figuras 6.12, 6.13 y 6.14, mismas que contienen los datos obtenidos de los análisis efectuados, con el método de la FFT, a cada segmento de las vértebras en estudio.



**Fig. 6.11.** Distribución de datos en matrices, información obtenida a partir del análisis efectuado por el método de la FFT.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	
1	2.7568	2.3082	2.6938	2.5237	2.6878	2.5150	2.6164	2.4751	2.3887	2.5441	2.3345	2.5328	2.5234	2.4315	2.4808	2.4334	2.5675	2.4706	2.5807	2.5399	2.5831	2.4438	2.4655	2.4930	2.3599	
2		2.4572	2.4302	2.6091	2.4680	2.3669	2.3609	2.2201	2.4562	2.5311	2.3819	2.6196	2.3350	2.4436	2.3830	2.4054	2.3290	2.3514	2.5951	2.42	2.43	2.44	2.45	2.46	2.4930	
3		2.4843	2.4302	2.6557	2.3330	2.4063	2.4959	2.4631	2.3329	2.4471	2.4832	2.4512	2.4677	2.3734	2.4846	2.4665	2.3731	2.4220	2.5914	2.64	2.65	2.66	2.67	2.4863	2.4594	
4		2.3766	2.3107	2.4977	2.3267	2.3995	2.2462	2.4134	2.4365	2.3077	2.5839	2.3449	2.4531	2.4389	2.4360	2.3938	2.3032	2.5112	2.4204	2.84	2.85	2.86	2.87	2.4303	2.4209	
5		2.4517	2.5843	2.5150	2.4998	2.3976	2.3637	2.3813	2.2964	2.3441	2.6044	2.3665	2.4889	2.3841	2.3412	2.4546	2.4180	2.5189	2.5619	2.104	2.105	2.106	2.107	2.4322	2.4322	
6		2.3626	2.2397	2.5714	2.4652	2.5489	2.3756	2.3354	2.3507	2.5822	2.5308	2.6472	2.7321	2.3100	2.4174	2.3919	2.3961	2.5105	2.5072	2.124	2.125	2.126	2.127	2.5233	2.5318	
7		2.4129	2.4421	2.7430	2.5971	2.3631	2.4532	2.4528	2.3884	2.5570	2.4861	2.6803	2.6718	2.4337	2.3685	2.5445	2.3720	2.6004	2.6924	2.144	2.145	2.146	2.147	2.5237	2.5799	
8		2.4915	2.5824	2.5224	2.5948	2.5137	2.6499	2.3825	2.5523	2.7634	2.7448	2.7418	2.7630	2.4046	2.4208	2.4935	2.4717	2.6584	2.6553	2.164	2.165	2.166	2.167	2.4280	2.4195	
9		2.3092	2.6829	2.6459	2.4712	2.4893	2.3949	2.4446	2.4880	2.4208	2.6030	2.5059	2.6717	2.3444	2.4255	2.4299	2.3385	2.7623	2.4270	2.184	2.185	2.186	2.187	2.4675	2.4675	
10		2.3986	2.6010	2.5035	2.4365	2.3377	2.4633	2.3847	2.3975	2.5691	2.3579	2.4360	2.4134	2.3406	2.4229	2.3343	2.6683	2.6868	2.5438	2.204	2.205	2.206	2.207	2.4857	2.4857	
11		2.3579	2.4825	2.6480	2.5877	2.4693	2.4684	2.4236	2.3180	2.4856	2.3972	2.3652	2.5877	2.3162	2.4104	2.4807	2.3991	2.6761	2.5470	2.224	2.225	2.226	2.227	2.5063	2.5063	
12		2.33	2.34	2.35	2.36	2.37	2.38	2.39	2.40	2.41	2.42	2.43	2.44	2.45	2.46	2.47	2.48	2.49	2.50	2.248	2.249	2.250	2.251	2.252	2.5063	2.5063
13		2.255	2.256	2.257	2.258	2.259	2.260	2.261	2.262	2.263	2.264	2.265	2.266	2.267	2.268	2.269	2.270	2.271	2.272	2.273	2.274	2.275	2.276	2.277	2.4634	2.4634
		2.3053	2.3428	2.0981	2.6915	2.7566	2.8021	2.6453	2.6028	2.5831	2.6160	2.6772	2.4413	2.3066	2.3181	2.2947	2.4831	2.5525	2.5937	2.5946	2.273	2.274	2.275	2.276	2.5253	2.5253

Fig. 6.12. Datos del análisis, mediante el método de la FFT, efectuado a cada segmento de la vértebra 372.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	
1	2.6004	2.2114	2.6578	2.5077	2.8356	2.5030	2.6190	2.4523	2.2870	2.5944	2.6532	2.6159	2.6808	2.5058	2.7808	2.4451	2.7902	2.7434	2.6959	2.7266	2.4821	2.3347	2.4295	2.3523	
2	2.2114	2.3831	2.2850	2.5405	2.6437	2.4861	2.3688	2.3460	2.5987	2.3494	2.5036	2.5398	2.4181	2.4083	2.2488	2.5384	2.5288	2.6388	2.4856	2.5327	2.5649	2.2939	2.3495		
3		48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68			
		2.1289	2.4637	2.3775	2.5013	2.3463	2.6360	2.5696	2.6289	2.6434	2.5394	2.3422	2.5980	2.3930	2.5999	2.4421	2.4213	2.6992	2.4623	2.6013	2.4261	2.4842			
4			69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88			
			2.4541	2.3120	2.3000	2.2996	2.6769	2.6198	2.3131	2.8376	2.2809	2.5361	2.6032	2.3938	2.5253	2.3860	2.5783	2.6709	2.6063	2.5177	2.3832	2.0121			
5			89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107				
			2.6213	2.3018	2.6766	2.4942	2.5861	2.7851	2.5067	2.5372	2.3782	2.4093	2.6910	2.4506	2.7850	2.8741	2.4659	2.6042	2.4618	2.5063	2.4025				
6			108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126				
			2.1851	2.8837	2.4270	2.5151	2.2871	2.3480	2.7131	2.6245	2.2982	2.4910	2.6144	2.3230	2.6338	2.5457	2.5156	2.6706	2.6996	2.2151	2.3468				
7			127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145				
			1.7431	2.4751	2.4810	2.3034	2.8043	2.2281	2.7022	2.6410	2.1954	2.5348	2.7912	2.5409	2.5629	2.7616	2.4881	2.5783	2.5714	2.0741	2.2109				
8			146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164				
			2.0514	2.2492	2.5849	2.4992	3.1089	2.7134	2.5959	2.4919	2.5451	2.4557	2.8736	2.4686	2.4933	2.7310	2.6304	2.6927	2.6530	2.6789	2.5519				
9			165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183				
			1.9885	2.6067	2.8137	2.6288	2.5186	2.5113	2.6837	2.5443	2.7765	2.5032	2.9131	2.6868	2.4226	2.8723	2.3867	3.0826	2.6054	2.6328	2.7228				
10			184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203			
			2.4183	2.4115	2.5908	2.4742	2.4729	2.4571	2.8748	2.5611	2.6663	2.3479	2.7345	2.9469	2.3315	2.8802	2.5734	2.7194	2.5941	2.7618	2.6662	2.4858			
11			204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224		
			2.3993	2.5232	2.5137	2.5183	2.4738	2.6033	2.8704	2.4731	2.6823	2.5013	2.4476	2.6587	2.6927	2.6216	2.6704	2.8104	2.5863	2.7825	2.8736	2.7508	2.7115		

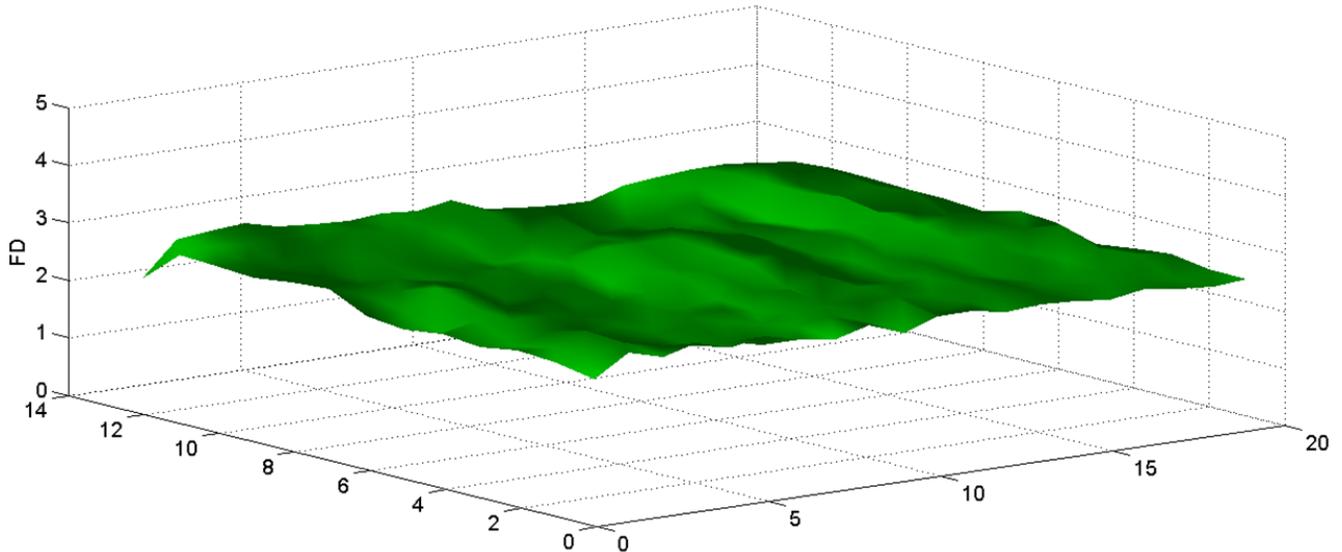
Fig. 6.13. Datos del análisis, mediante el método de la FFT, efectuado a cada segmento de la vértebra 424.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z
1	2.9704	2.9571	3.1985	3.0222	3.091	2.9636	3.2108	3.0623	3.2034	2.9338	2.9986	3.2081	2.9468	3.0867	2.7831	2.9001	3.0758	2.9971	3.0888	2.9682	3.0748	3.0682	2.9851	2.9953	2.8849	3.0385
2	2.9919	2.9603	3.2558	3.0927	3.0758	3.1764	3.0732	3.2577	3.1552	2.9232	3.0949	3.0896	3.1205	2.9267	3.0577	2.8619	3.0181	2.9617	3.0998	3.112	3.0922	3.1922	3.1065	3.2302	3.1245	2.9378
3	2.9763	3.2995	3.1179	3.1835	3.1144	3.1679	3.0082	3.123	3.0841	2.7461	2.8384	2.8088	2.875	2.6935	2.5532	2.615	2.8172	2.8103	2.7975	2.7238	2.8645	2.7957	2.8851	2.6489	2.8882	2.8606
4	2.6357	2.8289	2.9183	2.7578	2.917	2.4316	2.7059	2.8108	2.5924	2.7256	2.833	2.6132	2.6103	2.8971	2.6117	2.5571	2.7421	2.6783	2.6731	2.5693	2.6321	2.5722	2.8434	2.4602	2.7447	2.6937
5	2.7889	2.7493	3.1393	2.574	2.9642	2.7186	2.8335	2.8617	2.7758	2.6216	2.5206	2.6538	2.5128	2.5483	2.5702	2.4824	2.5776	2.5385	2.7361	2.8223	2.6579	2.6664	2.7069	2.6854	2.6959	2.7811
6	2.6438	2.6793	2.8151	2.2664	2.8181	2.5815	2.6835	2.7927	2.3873	2.6078	2.3354	2.7794	2.558	3.0815	2.5769	2.3062	2.7149	2.7189	2.6641	2.6428	2.6113	2.7427	2.7086	2.742	2.5294	2.603
7	2.6944	2.6444	2.6009	2.6514	2.7942	2.936	2.665	2.7103	2.5438	2.6225	2.5173	2.4389	2.6093	2.4327	2.7278	2.7455	2.8261	2.776	2.7853	2.6209	2.8492	2.8062	2.6569	2.8712	2.61278	2.4222
8	2.921	2.785	3.0036	2.9394	3.0608	2.9687	2.8873	2.4752	2.9218	2.4184	2.5793	2.4887	2.9338	2.649	2.4883	2.921	2.7415	2.8821	2.6811	2.6277	2.9098	2.8533	2.5983	2.8201	2.6283	2.4589
9	2.7411	2.944	2.9601	2.9486	2.9073	2.8087	2.8613	2.655	2.736	2.7414	2.4442	2.8182	2.8185	2.6076	2.5756	2.24	2.25	2.26	2.27	2.28	2.29	2.30	2.31	2.32	2.33	2.34
10	2.8505	3.131	3.0115	2.9165	3.0212	2.731	2.7811	2.7869	2.8706	2.7494	2.7188	2.8296	2.8196	2.8093	2.7726	2.8298	2.6502	2.8387	2.8769	2.8619	2.7827	2.5612	2.8432	2.854	2.7632	2.4879

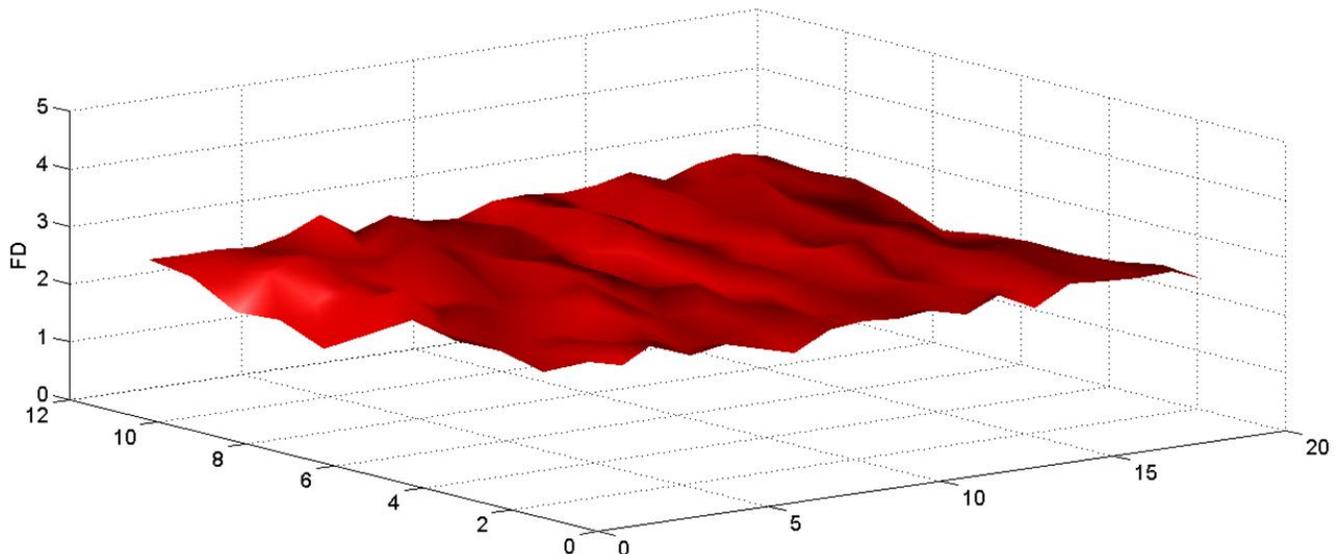
Fig. 6.14. Datos del análisis, mediante el método de la FFT, efectuado a cada segmento de la vértebra 428.

### 6.2.1 Análisis y resultados por el método de la FFT (transformada rápida de Fourier)

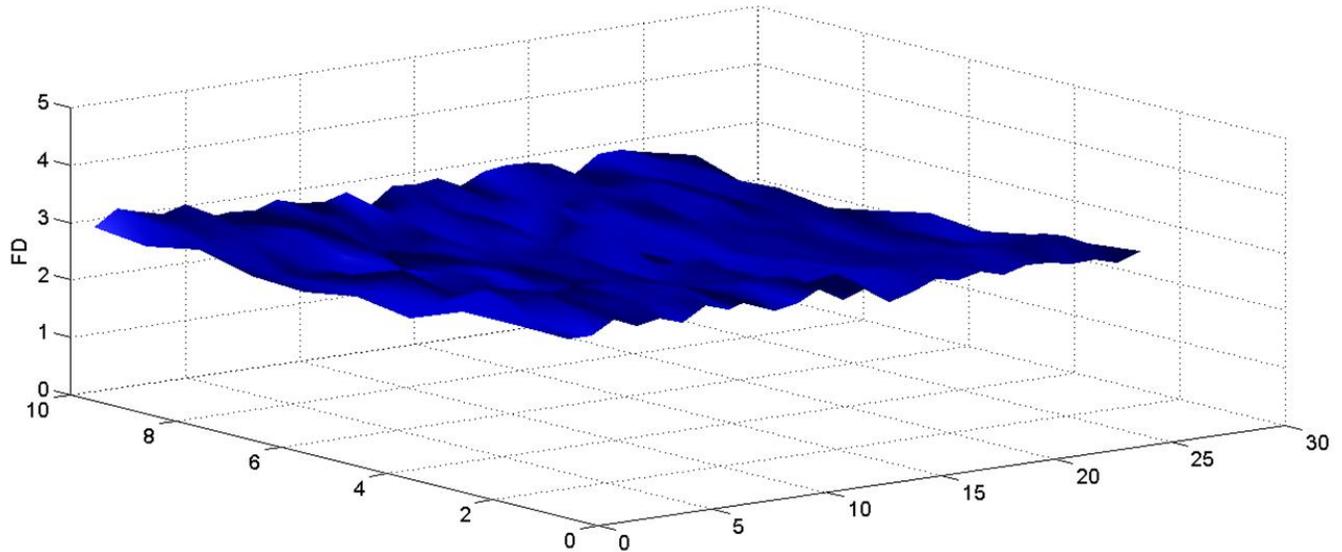
Para la construcción de las superficies en 3D mediante el método de la FFT (ver Fig. 6.15, 6.16 y 6.17), fue necesario establecer dos variables,  $X$  e  $Y$ , las cuales relacionan el segmento estudiado con la posición que éste ocupa en el espacio, y a su vez, la proyección en el plano  $Z$  está dada por el valor de la FD obtenida del procesamiento aplicado a los segmentos propios de cada vértebra.



**Fig. 6.15.** Superficie en 3D construida a partir de las dimensiones fractales obtenidas por el método de la FFT aplicado a los segmentos de la vértebra 372.



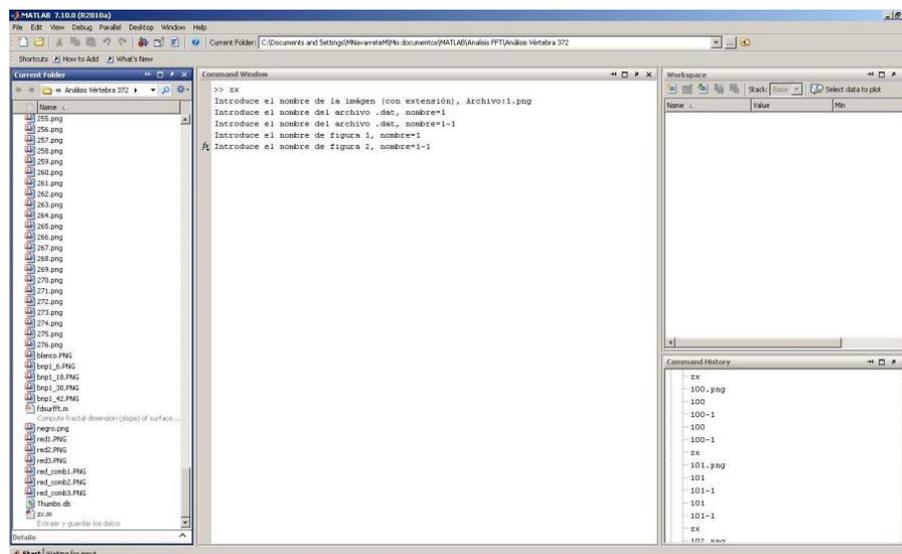
**Fig. 6.16.** Superficie en 3D construida a partir de las dimensiones fractales obtenidas por el método de la FFT aplicado a los segmentos de la vértebra 424.



**Fig. 6.17.** Superficie en 3D construida a partir de las dimensiones fractales obtenidas por el método de la FFT aplicado a los segmentos de la vértebra 428.

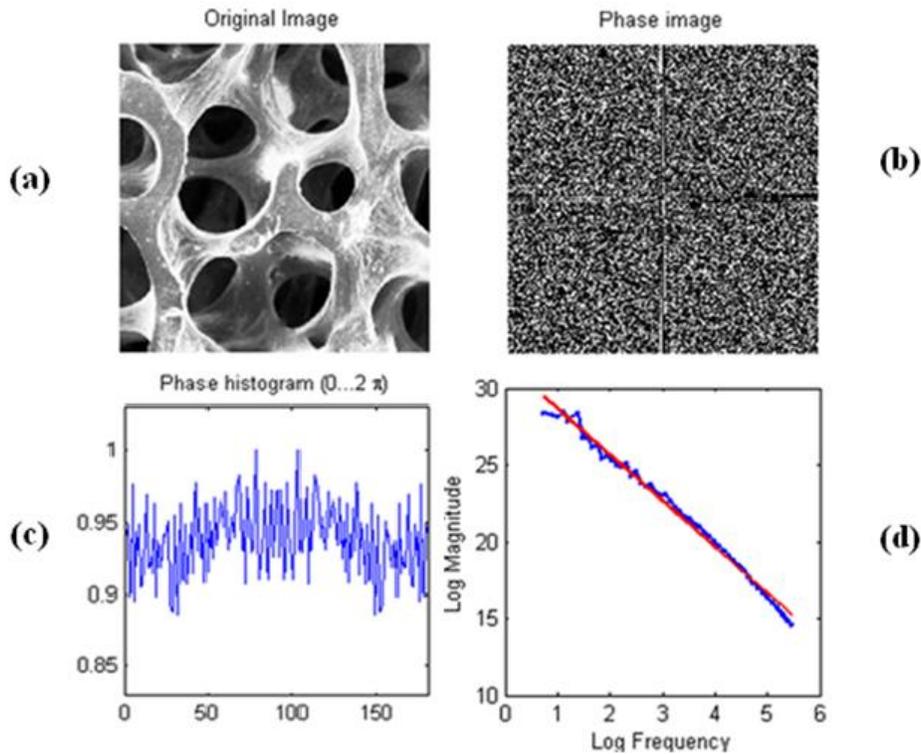
La figura 6.18 muestra la pantalla inicial del programa desarrollado en MATLAB® para el análisis mediante el método de la FFT. Los campos que el usuario debe introducir son:

- Nombre del archivo de la imagen seguido de la extensión de la misma (.jpg, .jpeg, .tiff, .png, etc.).
- Nombre para el archivo de datos que incluirá los puntos graficados de la curva “Log magnitude vs Log Frequency”.
- Nombre para el archivo de datos que incluirá los valores graficados de la curva de ajuste lineal aplicado a la curva “Log magnitude vs Log Frequency”.
- Nombre del archivo de la Figura 1 (ver Fig. 6.19).
- Nombre del archivo para la figura 2 (ver Fig. 6.20).

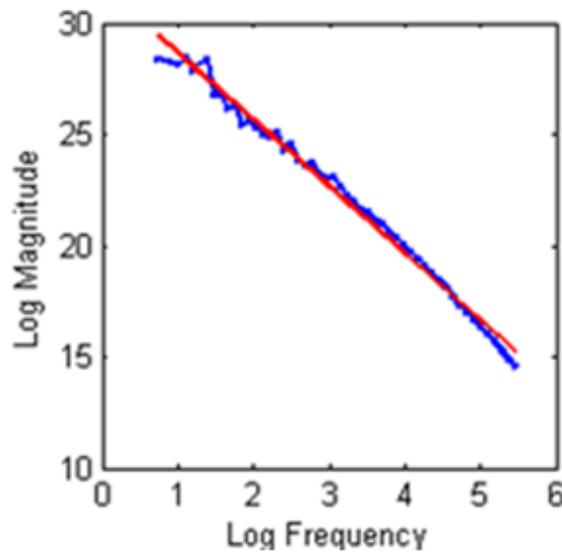


**Fig. 6.18.** Pantalla inicial del programa desarrollado en MATLAB para la obtención de la FD mediante el método de FFT.

Para determinar la FD de cada segmento, fue necesario analizar lo que se denominó como Figura 1 (ver Fig. 6.19) la cual describe 4 gráficos correspondientes a: la imagen en blanco y negro ecualizada, el gráfico de fase, el histograma de fase y finalmente la gráfica de los vectores magnitud y frecuencia para determinar la FD.



**Fig. 6.19.** (a) Imagen en blanco y negro ecualizada, (b) gráfico de fase, (c) histograma de fase y (d) gráfica de los vectores magnitud y frecuencia para determinar la FD.



**Fig. 6.20.** Gráfica de los vectores *magnitud* y *frecuencia*, la FD se determina a partir de aplicar un ajuste lineal a la curva con tendencia lineal de 49 puntos.

## 7. Resultados globales y aportaciones

Para comprobar la confiabilidad de la evaluación de la FD, ambos métodos fueron probados con imágenes sintéticas de una malla cuadrada, aumentando el grosor de las líneas. Los resultados se muestran en las figuras 7.1 y 7.2. Como se esperaba, el tamaño y los detalles en la estructura tienen un efecto significativo en el iterato en el que se aplica el ajuste de regresión lineal para obtener la FD. Sin embargo, ambos métodos estiman un incremento de la FD al aumentar el grosor de las líneas.

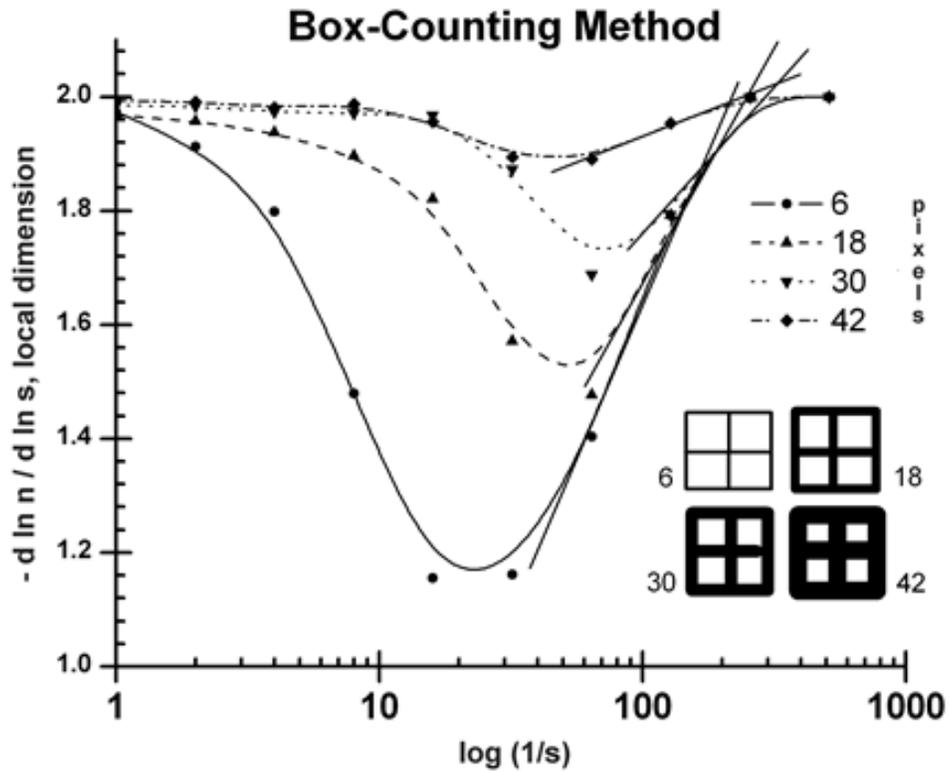
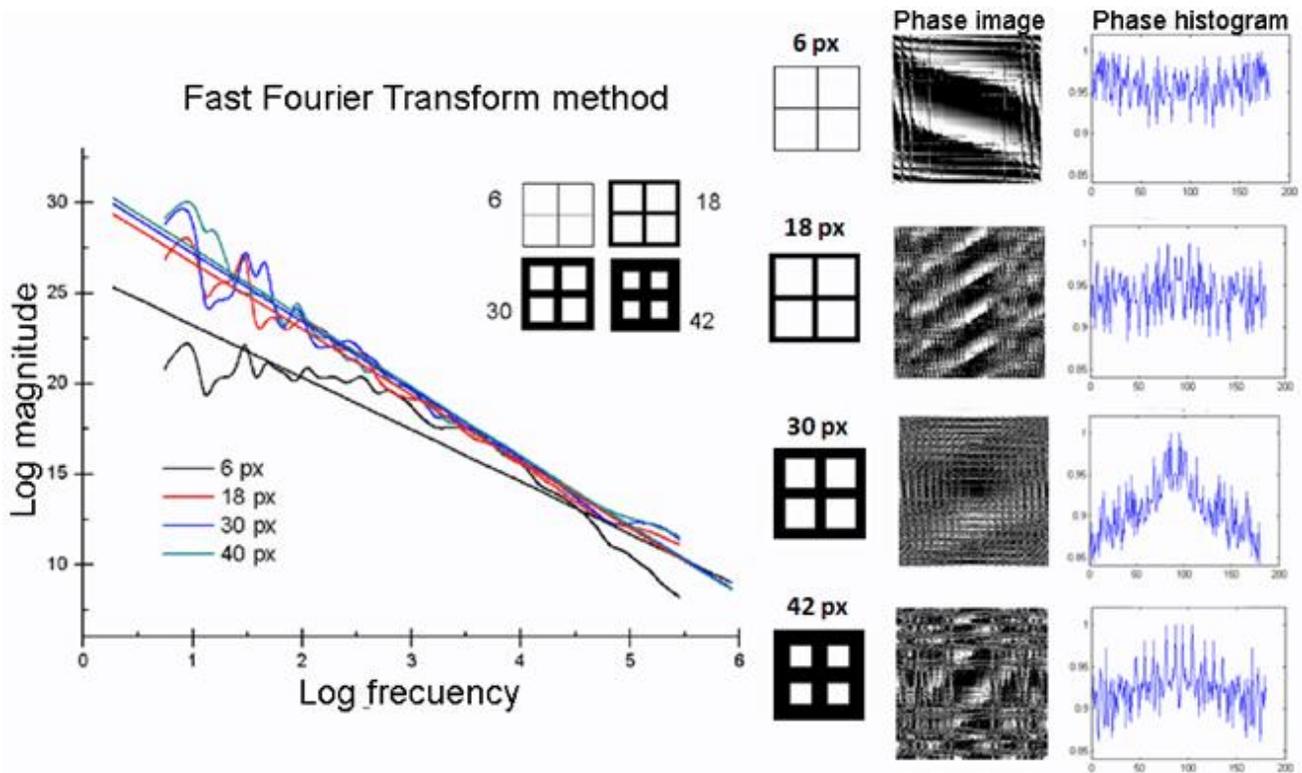


Fig. 7.1. Calibración y comprobación del método del BC para la evaluación de la FD.



Pixeles	6	18	30	42
Dimensión Fractal	2.546	3.667	3.753	3.830

Operación	Descripción	Diferencia	(DF <sub>42</sub> - DF <sub>6</sub> ) - On	%
O <sub>1</sub>	DF <sub>42</sub> - DF <sub>6</sub>	<b>1.284</b>	0	100%
O <sub>2</sub>	DF <sub>30</sub> - DF <sub>6</sub>	1.207	0.077	6.0%
O <sub>3</sub>	DF <sub>18</sub> - DF <sub>6</sub>	1.121	0.163	12.7%
O <sub>4</sub>	DF <sub>42</sub> - DF <sub>18</sub>	0.163	1.121	87.3%
O <sub>5</sub>	DF <sub>30</sub> - DF <sub>18</sub>	0.086	1.198	93.3%
O <sub>6</sub>	DF <sub>42</sub> - DF <sub>30</sub>	0.077	1.207	94.0%

**Fig. 7.2.** Calibración y comprobación del método de la FFT para la evaluación de la FD.

Con el método de la FFT la FD aparentemente no muestra grandes diferencias conforme aumenta el grosor de la malla cuadrada, sin embargo, se debe tener presente que en el análisis fractal las variaciones no son tan considerables como en otros análisis matemáticos.

Para demostrar la validez de los resultados obtenidos a través de este método, se determinó el porcentaje con el que varía la FD conforme aumenta el grosor de la malla de la siguiente manera: Se obtuvieron las diferencias entre todas las FD de las mallas, encontrándose que la mayor diferencia se da entre la FD de 6 píxeles y la FD de 42 píxeles, y es de 1.284, se establece este valor como el 100%.

Como puede observarse en la Fig. 7.2, las demás diferencias se encuentran dentro del rango del 0 al 1.284; de manera que se calcula la diferencia de todas las FD con respecto a la del valor del 100%, para finalmente por medio de una relación lineal obtener el porcentaje de variación de las FD.

Una vez hecho lo anterior, se establece que a pesar de presentarse pequeñas diferencias, en algunos casos del orden de las centésimas, se tienen variaciones por arriba del 5% por lo que no se está cayendo en el error.

Las figuras 6.5, 6.6 y 6.7, del método del BC, y las figuras 6.15, 6.16 y 6.17, del método de la FFT, muestran las superficies en 3D generadas con los puntos de la FD, lo anterior con el fin de comparar las condiciones normales, osteopenia y osteoporosis. Todas estas superficies presentan características apreciables.

Por ejemplo, las líneas paralelas al eje-x son notables, se asemeja a la distribución de líneas de tensión. Las proyecciones en tres dimensiones de la FD con ambos métodos reflejan la arquitectura trabecular multifractal y muestran claramente las diferencias de textura entre las tres condiciones estudiadas: la normal, la osteopenia y la osteoporosis.

Además, los resultados sugieren que el método de la FFT proporciona información adicional que brinda una estimación más precisa y coherente para la caracterización del hueso trabecular. Como se observa en las superficies en 3D, en condiciones normales la superficie tiende a ser cóncava hacia arriba, mientras que la superficie en la condición de osteopenia era casi plana y finalmente, la condición de osteoporosis presenta una superficie 3D cóncava hacia abajo. Las mismas características fueron encontradas al analizar las otras once muestras de cortes longitudinales de la vértebra L3, el análisis estadístico de estas muestras será el tema para otro artículo.

## 8. Conclusiones

Con el presente estudio se ha evaluado la calidad arquitectónica de diseño del hueso trabecular, a su vez se ha determinado como es que va evolucionando la microarquitectura trabecular en función de la edad en las vertebrae lumbares L3. Lo anterior se realizó con la implantación de los métodos fractales del BC y de la FFT, los cuales tal y como se esperaba, debido a la revisión bibliográfica realizada para desarrollar el proyecto, proporcionaron los resultados más consistentes.

Estos métodos se calibraron haciendo pruebas con imágenes sintéticas de una malla cuadrada, aumentando el grosor de las líneas, para de esta manera evaluar la confiabilidad del análisis fractal a partir de estos dos métodos.

Las superficies en 3D generadas a partir de este análisis fractal presentan características apreciables, las proyecciones en tres dimensiones de la FD con ambos métodos reflejan la arquitectura trabecular multifractal y muestran claramente las diferencias de textura que existen entre los tres padecimientos óseos estudiados, en condiciones normales la superficie tiende a ser cóncava hacia arriba, mientras que la superficie en la condición de osteopenia es casi plana, y finalmente la condición de osteoporosis presenta una superficie 3D cóncava hacia abajo.

Finalmente y de acuerdo a los resultados, se establece que el método de la FFT es aquel que proporciona mayor información, lo anterior se refleja en las figuras 6.10 y 6.20, ya que la curva trazada "Log magnitud vs Log Frecuency" esta construida por 49 puntos, a diferencia del método del BC, en el cual la curva "2D box-count" esta construida únicamente por 10 puntos, a su vez por el numero de puntos que conforma a cada curva se tienen extensiones diferentes de ésta, teniendo una longitud mayor la curva obtenida por el método de la FFT que la obtenida por BC. El hecho de tener pocos puntos con mucha dispersión hace que se presente una inestabilidad en el sistema y trae como resultado una regresión poco precisa con un porcentaje de error grande.

En estudios posteriores, será necesario analizar la concavidad de las superficies en 3D obtenidas con las dos técnicas fractales utilizadas, así como el desarrollar un análisis en 3D para aplicarlo a las vertebrae de este estudio, esto permitirá obtener nuevas variables; por lo que derivado de la comparación de los métodos y la relación de los estudios que se realicen, se tendrán resultados que permitirán conocer de manera integral como es que va evolucionando la microarquitectura trabecular en función de la edad.

## 9. Participación profesional

Se desarrolló el proyecto de investigación dentro del programa de servicio social del departamento de Mecánica y Energía del Instituto de Ingeniería de la UNAM, durante el periodo del 5 de abril del 2010 al 5 de abril del 2011, siendo la directora de este proyecto la Dra. Margarita Navarrete Montesinos, el coordinador del programa de servicio social el Dr. David Morrillón Gálvez. El proyecto se realizó en dos etapas:

1. La primer etapa del proyecto se llevó a cabo en el periodo del 5 de abril del 2010 al 13 de agosto de 2010, en la cual se desarrolló un programa en el software matemático MATLAB®, para obtener la FD basada en la textura de la arquitectura trabecular ósea con imágenes MEB, mediante el método por conteo de cajas (Box-Counting); a su vez, en esta etapa se procedió a generar las imágenes panorámicas, así como la segmentación y acondicionamiento de las mismas para ser analizadas.

Al concluir esta primera etapa, el proyecto se presentó mediante la modalidad de poster con el título *“Characterization of trabecular bone by fractal dimension”* (Ver Anexo A1) en el *“XIX International Materials Research Congress”*, el cual tuvo lugar en la ciudad de Cancún, Quintana Roo, del 16 al 20 de agosto de 2010, obteniéndose constancia de participación en el mismo.

2. La segunda etapa del proyecto se llevó a cabo en el periodo del 23 de agosto del 2010 al 5 de abril de 2011, en la cual se desarrolló un programa, en el software matemático MATLAB®, para obtener la FD basada en la textura de la arquitectura trabecular ósea con imágenes MEB mediante el método de la FFT; esta etapa también comprendió el estudio de los resultados (datos y gráficos) obtenidos mediante los dos métodos, el del BC y el de la FFT, para de esta manera comprobar la validez de la evaluación de la FD utilizando estos dos métodos de análisis.

Al concluir esta etapa, el proyecto se presentó mediante la modalidad de poster con el título *“Fractal-based image texture analysis of trabecular bone architecture to assess the bone health: The aging of the bone in Mexican men”* (Ver Anexo A2) en el *“XX International Materials Research Congress”* el cual tuvo lugar en la ciudad de Cancún, Quintana Roo del 15 al 19 de agosto de 2011, se obtuvo constancia de participación sobre el mismo.

En un periodo extraordinario al del programa de servicio social en el departamento de Mecánica y Energía del Instituto de Ingeniería de la UNAM, se colaboró con la Dra. Margarita Navarrete Montesinos en la publicación de un artículo referente a esta actividad de investigación desarrollada, la cual se realizó mediante el otorgamiento de una beca ordinaria de tipo regular de grado L1 la cual fue ejercida en el periodo del 1 de abril al 1 de octubre del 2011.

El recurso tanto para el desarrollo del proyecto como el de la beca recibida se obtuvo a través del “Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica” (PAPIIT) el cual es un programa que tiene como objetivo el apoyar y fomentar el desarrollo de la investigación fundamental y

aplicada, la innovación tecnológica y la formación de grupos de investigación en y entre las entidades académicas, a través de proyectos de investigación y de innovación tecnológica, cuyo diseño conduzca a la generación de conocimientos que se publiquen en medios del más alto impacto y calidad, así como a la producción de patentes y transferencia de tecnología.

El presente proyecto de investigación se registró en el PAPIIT con el nombre de “Estudio integral para desarrollar un índice de calidad ósea en varones mexicanos” con el número de proyecto 9152.

Los resultados de este proyecto de investigación fueron expuestos ante los directivos del Instituto de Ingeniería dentro del marco de la “Reunión Informativa Anual 2010”, dicho evento tuvo lugar en el Auditorio José Luis Sánchez Bribiesca de la Torre de Ingeniería de la UNAM los días 14 y 15 de febrero de 2011.

A su vez, en el mes de abril de 2011 como parte de la evaluación del Impacto de los Proyectos de Investigación desarrollados en el Instituto de Ingeniería de la UNAM en 2010, se publicó un artículo de este proyecto en la Gaceta Núm. 69, página 20, de dicho Instituto.

Por lo que respecta a la publicación del artículo de investigación, se realizaron una serie de envíos a la *Materials Research Society (MRS)*, ésta sometió a revisión el artículo enviado desprendiéndose algunas correcciones para realizarle al mismo.

El 26 de septiembre de 2011 se realizó el envío de la versión final del artículo se recibió la notificación de su aceptación el día 27 de diciembre de 2011, en donde la MRS enuncia que el artículo ha sido aceptado para incluirlo en los Proceedings a publicar como una versión en línea en 2012 y establece que es un hecho que el artículo ha sido aceptado para su publicación.

En un último comunicado recibido el 04 de febrero de 2012 por parte de la *Materials Research Society (MRS)*, se informa que se le ha dado seguimiento al proceso de publicación, habiendo una serie de retrasos en las publicaciones de Cambridge, sin embargo se notificará a la brevedad la publicación del artículo enviado en los Proceedings del 2012.

## 10. Bibliografía y Referencias

- [1] Melton, L.J. **Epidemiology of fractures.** In: **Osteoporosis: etiology, Diagnosis and Management.** 2nd ed. Riggs, BL and Melton LJ. III Eds. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1995: 225-247.
- [2] Lin, J.T., Lane, J.M. **Osteoporosis a review.** *Clin Orthop.* **425**,126 (2004)
- [3] Sundeep Khosla, Shreyasee Amin and Eric Orwoll, **Osteoporosis in Men,** *Endocrine Reviews* **29**(4), 441 (2008)
- [4] Melton, L.J. **Epidemiology of hip fractures: implications of the exponential increase with age.** *Bone* **18**,121S (1996)
- [5] Zanchetta, J.B. **Osteoporosis, fisiología, diagnóstico, prevención y tratamiento.** Edit. Panamericana. 2001. 445p.
- [6] Bikley, N., Krueger, D. **Consensus development conference diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis.** *Am J Med.* 1993; **94**: 646-650.
- [7] Brow, P.J., Josse, R.G. **Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada.** *CMAJ.* 2002; **167**:S1-S34.
- [8] Felsenberg, D.M.D., Boonen, S. PhD MD. **The bone Quality framework: Determinants of bone strength and their interrelationships, and implications for Osteoporosis management.** *Clinical Therapeutics.* 2005; **27**:1-9.
- [9] Marcus, R. **The nature of Osteoporosis.** *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1996; **81**:1-5.
- [10] Talbot, J.R., Zanchetta, J.R. **Diagnóstico de la osteoporosis.** *PRODIA.* 1997; **1**:2-16.
- [11] Burr, D.B. **The Contribution of the Organic Matrix to Bone's Material Properties,** **31:** 8-11 (2002)
- [12] Forwood, M.R. **Mechanical Effects on the Skeleton: Are There Clinical Implications?,** **12:**77–83 (2001)
- [13] Lopes, R., Betrouni, N. **Fractal and multifractal analysis: A review,** **13:** 634–649 (2009)
- [14] Lopes, R., Betrouni, N. **Image Analysis** **13** 634 (2009).
- [15] Cortet, D., Colin, P., Dubois, B., Delecambre, X., Marchandise, **Rev. Rhum.** **62:**84(1995).
- [16] Legrand, E., Chappard, D., Basle, M.F., Audran, M. **Rev. Rhum.** **66,** 619 (1999).
- [17] Durand, E.P., Ruegsegger, P.J. **Compt. Assist. Tomogr.** **115,** 133 1991.
- [18] Lespessailles, E., Chappard, C., Bonnet, N., Benhamou, C.L. **Joint Bone Spine** **73,** 254 (2006).
- [19] Benhamou, C.L., Lespessailles, E., Jacquet, G. **Rev. Rhum.** **61,** 297 (1994).
- [20] Benhamou, C.L., Lespessailles, E., Jacquet, G, Harba, R., Jennane, R. et al. *J. Bone Miner. Res.* **9,** 1909 (1994).
- [21] Whitehouse, W.J. *J. Microsc,* **1** (1), 153 (1974).
- [22] Odgaard, A. *Bone* **20,** 315 (1997).
- [23] Odgaard, A., Jensen, E.B., Gundersen, H.L., *J. Microsc.,* **157,** 149 (1990).
- [24] Wigderowitz, C.A., Abel, E.W., Rowley, D.I. *Clin. Orthop. Relat. Res.,* **335,** 152 (1997).
- [25] Paraffit, A.M., Matthews, C.H.E., and et al. *J. Clin. Invest.* **72,** 1396 (1983).
- [26] Peitgen, H.O., Jurgens, H., Saupe D. **Chaos and Fractals New Frontiers of Science,** Springer, New York, 1992.
- [27] Foroutan-pour, K., Dutilleul, P., Smith, D. L. *Appl. Math. Compt.* **105,** 195 (1999).
- [28] De Souza, J., Pires Rostirolla, S. *Computers & Geosciences* **37,** 241(2011).
- [29] Mandelbrot, B. B. **The Fractal Geometry of Nature,** Freeman, New York, (1983).
- [30] Navarrete, M., Pineda, J., Vera-Graciano, R. *J. Applied Polymer Science,* **111,** 1199 (2009).

- **Anexo A1:**  
*Poster “Characterization of trabecular bone by Fractal Dimension”.*



# CHARACTERIZATION OF TRABECULAR BONE BY FRACTAL DIMENSION

M. Navarrete<sup>1</sup>, L. Solís<sup>2</sup>, E. Martínez<sup>2</sup>, C.H. Villegas<sup>2</sup>, J. R. Alvarado<sup>1</sup>, E. Cedillo<sup>1</sup>



<sup>1</sup>Instituto de Ingeniería; Universidad Nacional Autónoma de México; Av. Universidad 3000, C.P.04510, D.F. México, <sup>2</sup>Laboratorio Morfología celular y molecular, <sup>3</sup>Servicio de Tomografía; Instituto Nacional de Rehabilitación; Calzada México Xochimilco No. 289, C.P. 14389, D.F. México. E-mail: mmm@pumas.iigen.unam.mx

## Abstract

Bones are constantly remodeled through the synthesis of bone matrix by osteoblasts and the resorption of bone by osteoclasts. Perturbations in inflammatory cytokines, growth factors and hormones cause an imbalance between them and can result in skeletal abnormalities, such as osteoporosis and osteopetrosis. Osteoporosis is a devastating disease characterized by lower bone density, frequently found in older people, immobilized patients, or even astronauts as a result of experiencing zero gravity, and ultimately results in bone fractures. Most of the current techniques to monitor bone condition use bone mass measurements. However, bone mass measurements do not completely describe the mechanisms to distinguish between osteoporotic and normal subjects. Structural parameters such as trabecular connectivity have been proposed as features for assessing bone conditions. As such structure can be seen as an important feature in assessing bone condition. In this article, the trabecular structure is characterized with the aid of the fractal dimension. This approach assumes only the self-similarity property of fractals and box-counting method. The fractal analysis was applied on scanning electron microscope images from prepared samples of the vertebra L3. The L3-vertebrae samples were removed from autopsy of Mexican donors.

Experimental results demonstrate the efficacy of the fractal dimension model in discriminating normal from osteoporosis cases.

## Introduction

Mexico is facing an increase in the cases of osteoporosis due to the growing number of elderly people and an increase in life expectancy [1]. Osteoporosis and fragility fractures have recently become a focus of research in Mexico, where, the prevalence of vertebral fractures in the population 50 years of age and over was found to be 19.5 % for women and 9.6 % for men [3, 4]. In the lumbar vertebrae the loss of bone volume is more evident than in lumbar (53 %), thoracic (41 %) and cervical (24 %) in men of 30 of 80 years old [8]. Recent studies have shown that the minerals contribute to bone stiffness [5]. Additionally, it was found that osteoporosis is not a simple loss of the bone mass, but also involves significant changes in biochemical and physical properties [6]. Trabecular bone is a highly complex material. The actual elastic modulus of a trabeculum, the tissue level modulus, has been measured over the last century with values between 1 and 14 GPa [7]. The variation in the ME is dependent upon many factors, including anatomic site, age and disease state.

## Fractal dimension

Fractal dimensions have multiple definitions, but all have a thing in common: the fractal dimension is usually a noninteger, fractional number; hence, this dimension is referred to as fractal. The existing fractal dimensions include Hausdorff dimension, box dimension, information dimension, correlation dimension, and so on.

Geometric dimension of an object which includes fractal objects For a smooth (i.e., nonfractal) line, an approximate length  $L(r)$  is given by the minimum number  $N$  of segments of length  $r$  needed to cover the line:  $L(r) \approx Nr$ . As  $r$  goes to zero,  $L(r)$  approaches a finite limit, the length  $L$  of the curve. Similarly, it is possible to define the area  $A$  or the volume  $V$  of nonfractal objects as the limit of an integer power law of  $r$ :

$$A = \lim_{r \rightarrow 0} Nr^2, V = \lim_{r \rightarrow 0} Nr^3$$

where the integer exponent is the Euclidean dimension  $E$  of the object. However, this definition cannot be used for fractal objects: as  $r$  tends to 0, however, a real number  $D$  exists so that the limit of  $Nr^D$  stays finite. The exponent is called the Hausdorff Dimension  $DH$  or  $D$ :

$$D_H = \lim_{r \rightarrow 0} \frac{\log N}{\log(1/r)}$$

## Sample BP-424

Frontal view		Rear view	
Width [mm] $\sigma = 0.10$			
4.45	4.37	4.38	4.45
5.14	5.08	5.19	5.33
5.97	5.88	5.85	5.94
Weight factor $\sigma = 0.31$			
1.06	1.07	1.00	0.95
1.04	1.03	0.96	0.98
1.04	1.03	0.99	0.98
Age [years]	70		
Weight [g]	2.523 ± 0.07-3		
Volume [cm <sup>3</sup> ]	2.1610.11		
Density [kg/m <sup>3</sup> ]	11.6679 ± 0.68.2		
DMD [mgCa/cm <sup>3</sup> ]	3.92		
T-score	-4.1 Osteoporosis		
Ca (w/w)	29.25 ± 1.60		
P (w/w)	13.75 ± 1.44		
Mg (w/w)	0.4310.20		
Na (w/w)	0.7310.46		

## Methodology

In order to obtaining the fractal dimension that presents the composition trabecular bone of a sample from lumbar vertebra L3, it is necessary the serial acquisition of images through an electronic microscope. Given the vertebra size, seventy seven images of dimension 1424 x 968 pixels are acquired.

Again, the image is integrated using the application Photomerge of PhotoShop CS3 TM for image processing to correct the misalignment and exposition effects. The final dimension of the integrated image is 12904 x 6088 pixels. This new image is cut in 224 segments of 512 x 512 pixels equalized before. By means of Matlab TM each image is digitized. The image in white and black give us the threshold by means of the histogram. Starting from the generated matrix the algorithm boxcounting 2D is applied and the dimension fractal is obtained of each one of the images.

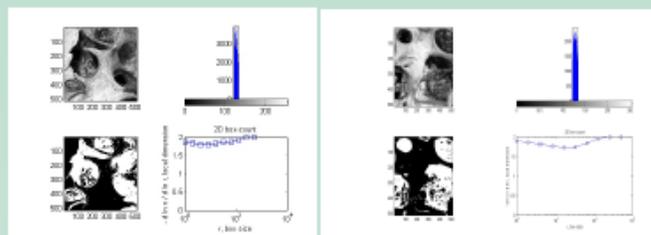


Figure 2 shows the original image, their histogram, the threshold and the fractal dimension profile.

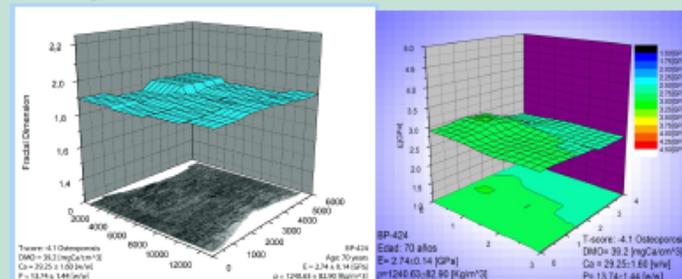


Figure 3. Left image shows the surface fractal with regard to the position in the vertebra. Right image shows the surface behaviour of the elastic module obtained by ultrasonic technique.

## Results

The trabecular structure is characterized with the aid of the fractal dimension. This approach assumes only the self-similarity property of fractals and box-counting method. The fractal analysis was applied on scanning electron microscope images from prepared samples of the vertebra L3. A comparison between fractal dimension and elastic module in 3D is very similar as shown in the figure 3 right.

## Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the financial support of PAPIIT under grant IN107509 and 9152 from Instituto de Ingeniería, UNAM.

1. Patricia Clark, Salud Pública de México. 51, 2 (2009).
2. Clark P, Cons-Molina F, Deleze M, Ragi S, Haddock L, Zanchetta JR, et al Osteoporos Int (2008).
3. Clark P, Deleze M, Cons Molina F, Ragi S, J Bone Miner Res, 18, 244 (2003)
4. M. Navarrete, J. Pinoda, R. Vera-Graciano, Multifractality in the copolymerization of Bis-GMA/TEGDMA by pulsed photoacoustics. J. Applied Polymer Science, 111 (2009) 1199.

- **Anexo A2:**

*Poster “Fractal-based image texture analysis of trabecular bone architecture to assess the bone health: The aging of the bone in Mexican men”.*



# Fractal-based image texture analysis of trabecular bone architecture to assess the bone health: The aging of the bone in Mexican men



M. Navarrete <sup>1</sup>, E. Cedillo <sup>1</sup>, L. Solís <sup>2</sup>, CH Villegas <sup>2</sup>, JR Alvarado <sup>1</sup>, FA Godínez <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad N° 3000, Universidad Nacional Autónoma de México, C. U., 04510, D. F., México.

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Rehabilitación; Calzada México Xochimilco No. 289, CP 14389, DF. México.

E-mail: mnm@pumas.iingen.unam.mx

## ABSTRACT

Two analysis methods based fractal image analysis were applied to extract the architecture features of the anisotropic structure of trabecular bone from SEM images the bone samples sliced in order to assess the bone medical condition. Box-Counting and Fast Fourier Transform were applied. Tests with synthetic images of known fractal dimension help us to the interpretation of the fractal dimension, FD, profiles. Samples from L3 vertebrae were removed at necropsy of Mexican male donors and evaluated by using CT scan. Three sliced samples in normal, osteopenic and osteoporotic conditions were identified two compare both methods.

## INTRODUCTION

Fractal geometry has gradually established its importance in images analysis problems in general and especially in medical field, the medical images come from the diverse procedures such as: X rays, ultrasound, computed tomography, CT, single photon emission computed tomography, positron emission tomography, magnetic resonance imaging, MRI, SEM, CCD, among others. Textured images are examined through a series of structural analysis techniques that provide indirect information on bone microarchitecture, several techniques available for this subject included:

- Structural texture analysis*; that involves topological characterization of a projection of the trabecular network, in which is determining a threshold and conversion to a binary digital image, the threshold is required to determine morphological parameters and can be achieved using a gray-level histogram or other internal calibration.
- Statistical analysis*; in which the differential characteristics of local gray level variations can be described by methods such as co-occurrence matrices or gray level run length.
- Fractal analysis* is a statistical method which does not include Euclidean mathematics.
- Analysis of anisotropy*. Bone tissue is anisotropic and the degree of anisotropy can be evaluated with different methods such as: MIL (Mean intercept length), Volume-based methods, Fast Fourier Transform.

The diagnostic interpretation of medical images is a multi-steps task where aim is the recognition of potential abnormalities. However, the importance of the selected method, concerning the FD computing algorithms, it is that each method can provide different results. Regarding to trabecular bone, the methods of Fourier transform and Box-counting have been those that have provided more stable results.

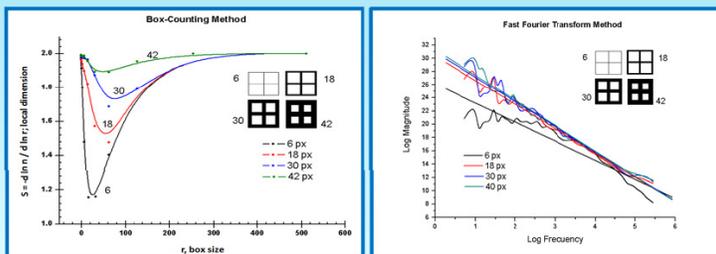
In terms of biomechanical studies, it has been shown a clear association between bone elastic properties and bone density. However in clinical practice, is very difficult to separate individuals with and without osteoporosis using only the density parameter, due the overlap boundaries the bone density distribution between healthy and the unwell bone.

The fracture risk for any bone of the human skeleton is determined by bone quality that subdivides in two: the material quality and quality design (micro and macro architecture).

## METHODOLOGY

Calibration is a fundamental part in this analysis; both algorithms should be tested in stable and controlled conditions. Some windows with the same size of the study images were developed, the difference between each one of these windows is that the width of the line varies, it simulates the trabecular grid. Box-counting method shows a curve which contains a segment that varies constantly; the study is based in this segment.

On the other hand, FFT method shows a curve variation, the fractal dimension of the linear adjustment applied to the curve increases when the line width does the same.

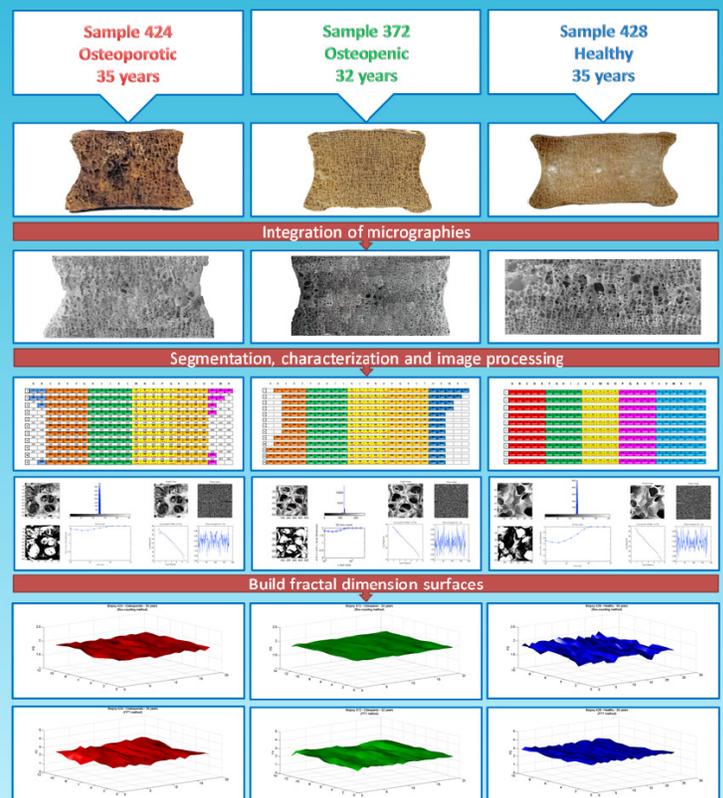


The process for determine fractal dimension of a sample from lumbar vertebrae L3 starts with the serial acquisition of images through an scanning electron microscope that shows the trabecular bone composition, images are with dimension 1424 x 968 pixels, they are integrated using the application Photomerge of Photoshop CS3® in order to merge the images, this process involves build rows of images that then will merge again to obtain images with the sizes that specifies the next table.

Vertebrae	Number of images	Obtained resolution	Analyzed segments
372	108 of 1.3 Mpx.	68.15 Mpx	276
424	77 of 1.3 Mpx.	59.83 Mpx	209
428	105 of 1.3 Mpx.	68.15 MPx	260

As the table shows, new images are cut in segments of 512 x 512 pixels, and then they are processed one by one to correct the exposition effects at the same time that the threshold of the image is obtained.

By means of Matlab® each image is digitized. Starting from the generated data matrix, the algorithms box-counting 2-D and Fast Fourier Transform 2D are applied for finally obtain the fractal dimension of each one of the images.



## RESULTS

The three-dimensional projection of FD reflects a multifractal behavior of the trabecular architecture and clearly observed the changes in texture among conditions: normal, osteopenic and osteoporosis. In addition, the results suggest that the Box-counting method provides a more accurate and consistent estimation for characterizing trabecular bone.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge the financial support of PAPIIT under grant IN107509 and 9152 from Instituto de Ingeniería, UNAM.

- Patricia Clark. Salud Pública de México. 51, 2 (2009).
- Clark P, Cons-Molina F, Deleze M, Ragi S, Haddock L, et al Osteoporos Int (2008).
- Clark P, Deleze M, Cons Molina F, Ragi S, J Bone Miner Res, 18, 244 (2003)
- M. Navarrete, J. Pineda, R. Vera-Graciano, Multifractality in the copolymerization of Bis-GMA/TEGDMA by pulsed photoacoustics. J. Applied Polymer Science, 111 (2009) 1199.

- **Anexo B1:**

*Código del programa para el análisis fractal mediante el método del BC (por conteo de cajas).*

```
clear all
name=input('Introduce el nombre de la imagen (con extensión), Archivo:', 's');
y=input('Introduce valor de niveles de grises, i=');
nomarch=input('Introduce el nombre del archivo .dat, nombre=', 's');
nomfig1=input('Introduce el nombre de figura 1, nombre=', 's');
nomfig2=input('Introduce el nombre de figura 2, nombre=', 's');

figure(1)

LN=imread (name);
axis image
subplot(2,2,2);
LN1=rgb2gray(LN);
imhist(LN1,256);
axis image
subplot(2,2,1);
c = imread(name);
image(c)
axis image
subplot(2,2,3);
i = c(1:512, 1:512, 3);
bi = (i<y);
imagesc(bi)
colormap gray
axis image
subplot(2,2,4);
[n,r] = boxcount(bi,'slope');
df = -diff(log(n))./diff(log(r));
disp(['Dimensión Fractal, DF = ' num2str(mean(df(7:9))) ' +/- ' num2str(std(df(7:9)))]);
axis([1 1000 1 2])

saveas(1,nomfig2,'fig');

figure(2)

c = imread(name);
image(c)
axis image
i = c(1:512, 1:512, 3);
bi = (i<y);
imagesc(bi)
colormap gray
axis image
[n,r] = boxcount(bi,'slope');
```

```

df = -diff(log(n))./diff(log(r));
disp(['Dimensión Fractal, DF = ' num2str(mean(df(7:9))) ' +/- ' num2str(std(df(7:9)))]);
axis([1 1000 1 2])

xdata=1:10;
ydata=rand(size(xdata));

saveas(2,nomfig1,'fig');

figure(2)
lh=findall(gcf,'type','line');
isempty(lh)

    xd=get(lh,'xdata')
    yd=get(lh,'ydata')

%Extraer y guardar los datos

filename=strcat(nomarch,'.dat');
fid=fopen(filename, 'w');

for i=1:(length(xd))

fprintf(fid,'%g \t %g \n', xd(i),yd(i));
end;
fclose(fid);

```

- **Anexo B2:**

- Código de la subrutina del método del BC (por conteo de cajas).*

```
function [n,r] = boxcount(c,varargin)
%BOXCOUNT Box-Counting of a D-dimensional array (with D=1,2,3).
% [N, R] = BOXCOUNT(C), where C is a D-dimensional array (with D=1,2,3),
% counts the number N of D-dimensional boxes of size R needed to cover
% the nonzero elements of C. The box sizes are powers of two, i.e.,
% R = 1, 2, 4 ... 2^P, where P is the smallest integer such that
% MAX(SIZE(C)) <= 2^P. If the sizes of C over each dimension are smaller
% than 2^P, C is padded with zeros to size 2^P over each dimension (e.g.,
% a 320-by-200 image is padded to 512-by-512). The output vectors N and R
% are of size P+1. For a RGB color image (m-by-n-by-3 array), a summation
% over the 3 RGB planes is done first.
%
% The Box-counting method is useful to determine fractal properties of a
% 1D segment, a 2D image or a 3D array. If C is a fractal set, with
% fractal dimension DF < D, then N scales as R^(-DF). DF is known as the
% Minkowski-Bouligand dimension, or Kolmogorov capacity, or Kolmogorov
% dimension, or simply box-counting dimension.
%
% BOXCOUNT(C,'plot') also shows the log-log plot of N as a function of R
% (if no output argument, this option is selected by default).
%
% BOXCOUNT(C,'slope') also shows the semi-log plot of the local slope
% DF = - dlnN/dlnR as a function of R. If DF is constant in a certain
% range of R, then DF is the fractal dimension of the set C. The
% derivative is computed as a 2nd order finite difference (see GRADIENT).
%
% The execution time depends on the sizes of C. It is fastest for powers
% of two over each dimension.
%
% Examples:
%
% % Plots the box-count of a vector containing randomly-distributed
% % 0 and 1. This set is not fractal: one has N = R^-2 at large R,
% % and N = cste at small R.
% c = (rand(1,2048)<0.2);
% boxcount(c);
%
% % Plots the box-count and the fractal dimension of a 2D fractal set
% % of size 512^2 (obtained by RANDCANTOR), with fractal dimension
% % DF = 2 + log(P) / log(2) = 1.68 (with P=0.8).
% c = randcantor(0.8, 512, 2);
% boxcount(c);
% figure, boxcount(c, 'slope');
%
% F. Moisy
```

```

% Revision: 2.10, Date: 2008/07/09
% History:
% 2006/11/22: v2.00, joined into a single file boxcountn (n=1,2,3).
% 2008/07/09: v2.10, minor improvements

% control input argument
error(nargchk(1,2,nargin));

% check for true color image (m-by-n-by-3 array)
if ndims(c)==3
    if size(c,3)==3 && size(c,1)>=8 && size(c,2)>=8
        c = sum(c,3);
    end
end

warning off
c = logical(squeeze(c));
warning on

dim = ndims(c); % dim is 2 for a vector or a matrix, 3 for a cube
if dim>3
    error('Maximum dimension is 3.');
```

```

end

% transpose the vector to a 1-by-n vector
if length(c)==numel(c)
    dim=1;
    if size(c,1)~=1
        c = c';
    end
end

width = max(size(c)); % largest size of the box
p = log(width)/log(2); % nbre of generations

% remap the array if the sizes are not all equal,
% or if they are not power of two
% (this slows down the computation!)
if p~=round(p) || any(size(c)~=width)
    p = ceil(p);
    width = 2^p;
    switch dim
        case 1
            mz = zeros(1,width);
            mz(1:length(c)) = c;
            c = mz;
        case 2
            mz = zeros(width, width);
            mz(1:size(c,1), 1:size(c,2)) = c;

```

```

        c = mz;
    case 3
        mz = zeros(width, width, width);
        mz(1:size(c,1), 1:size(c,2), 1:size(c,3)) = c;
        c = mz;
    end
end

```

n=zeros(1,p+1); % pre-allocate the number of box of size r

switch dim

case 1 %----- 1D boxcount -----%

```

n(p+1) = sum(c);
for g=(p-1):-1:0
    siz = 2^(p-g);
    siz2 = round(siz/2);
    for i=1:siz:(width-siz+1)
        c(i) = ( c(i) || c(i+siz2));
    end
    n(g+1) = sum(c(1:siz:(width-siz+1)));
end

```

case 2 %----- 2D boxcount -----%

```

n(p+1) = sum(c(:));
for g=(p-1):-1:0
    siz = 2^(p-g);
    siz2 = round(siz/2);
    for i=1:siz:(width-siz+1)
        for j=1:siz:(width-siz+1)
            c(i,j) = ( c(i,j) || c(i+siz2,j) || c(i,j+siz2) || c(i+siz2,j+siz2) );
        end
    end
    n(g+1) = sum(sum(c(1:siz:(width-siz+1), 1:siz:(width-siz+1))));
end

```

case 3 %----- 3D boxcount -----%

```

n(p+1) = sum(c(:));
for g=(p-1):-1:0
    siz = 2^(p-g);
    siz2 = round(siz/2);
    for i=1:siz:(width-siz+1),
        for j=1:siz:(width-siz+1),
            for k=1:siz:(width-siz+1),
                c(i,j,k)=( c(i,j,k) || c(i+siz2,j,k) || c(i,j+siz2,k) ...
                    || c(i+siz2,j+siz2,k) || c(i,j,k+siz2) || c(i+siz2,j,k+siz2) ...

```

```

        || c(i,j+siz2,k+siz2) || c(i+siz2,j+siz2,k+siz2));
    end
end
end
n(g+1) = sum(sum(sum(c(1:siz:(width-siz+1),1:siz:(width-siz+1),1:siz:(width-siz+1)))));
end

end
n = n(end:-1:1);
r = 2.^(0:p); % box size (1, 2, 4, 8...)

if any(strncmpi(varargin,'slope',1))
    s=-gradient(log(n))./gradient(log(r));
    semilogx(r, s, 's-');
    ylim([0 dim]);
    xlabel('r, box size'); ylabel('- d ln n / d ln r, local dimension');
    title([num2str(dim) 'D box-count']);
elseif nargout==0 || any(strncmpi(varargin,'plot',1))
    loglog(r,n,'s-');
    xlabel('r, box size'); ylabel('n(r), number of boxes');
    title([num2str(dim) 'D box-count']);
end
if nargout==0
    clear r n
end
end

```

- **Anexo C1:**

*Código del programa para el análisis fractal por el método de la FFT (transformada rápida de Fourier).*

```
clear all
name=input('Introduce el nombre de la imagen (con extensión), Archivo:', 's');
nomarch1=input('Introduce el nombre del archivo .dat, nombre=', 's');
nomarch2=input('Introduce el nombre del archivo .dat, nombre=', 's');
nomfig1=input('Introduce el nombre de figura 1, nombre=', 's');
nomfig2=input('Introduce el nombre de figura 2, nombre=', 's');
LN=imread (name);
axis image
im=rgb2gray(LN);
fdsurfft(im)

figure (1);
saveas(1,nomfig1,'fig');

figure (2);
saveas(2,nomfig2,'fig');

figure(3);

lh=findall(gcf,'type','line');
isempty(lh)

    xd=get(lh,'xdata');
    yd=get(lh,'ydata');

%Extraer y guardar los datos

filename=strcat(nomarch1, '.dat');
fid=fopen(filename, 'w');

for i=1:(length(xd))

fprintf(fid,'%d \t %d \n', xd(i),yd(i));
end;
fclose(fid);

figure(4);

lh=findall(gcf,'type','line');
isempty(lh)

    xe=get(lh,'xdata');
    ye=get(lh,'ydata');
```

```
%Extraer y guardar los datos

filename=strcat(nomarch2, '.dat');
fid=fopen(filename, 'w');

for i=1:(length(xd))

fprintf(fid, '%d \t %d \n', xe(i), ye(i));
end;
fclose(fid);

%Pendiente de la recta ajustada
polyfit(xe, ye, 1)
```

- **Anexo C2:**

*Código de la subrutina del método de la FFT (transformada rápida de Fourier).*

```
function [slope, intercept, averslope, averIC] = fdsurfft(im)
% FDSURFFT Compute fractal dimension (slope) of surface image im and draw rose plots
%   of slope and intercept
%   im: input array of surface image (grayvalue or range image)
%   slope: an array of size 24 which stores the average slopes in 24
%   directions
%   intercept: an array of size 24 which stores the average intercepts in 24
%   directions
%   averslope: average slope for all directions
%   averIC: average intercept for all directions

% This is a matlab version of John C. Russ 's program

% Written by Mr. Jianbo Zhang, J.Zhang@ewi.utwente.nl
% 2 Nov, 2004

tic
NUM_DIR = 24; % number of directions that the frequency space is uniformly divided
NUM_RAD = 30; % number of points that the radius is uniformly divided
if nargin < 1,
    error('Missed input argument which must be an array!')
end

figure (1)

[M N] = size(im);
xctr = 1 + bitshift(N, -1); % x coordinate of center point
yctr = 1 + bitshift(M, -1); % y coordinate of center point
imMean = mean(im(:));
fim = fftshift(fft2(double(im) - imMean));

% power spectrum
mag = log(fim .* conj(fim)+ 10 ^ (-6));
sumBrite = zeros(NUM_DIR, NUM_RAD); %accumulation magnitude for each direction and radius
nCount = zeros(NUM_DIR, NUM_RAD); %number of magnitude
radius = zeros(2 * NUM_RAD,1);%accumulation magnitude for all directions
radCount = zeros(2 * NUM_RAD,1);% number of magintude for all directions

%Compute phase image and phase histogram
phaseim = zeros(M,N);
phase = zeros(180);
for j = 1:M
    for i = 1:N
        realv = real(fim(j,i));
```

```

    imagv = imag(fim(j,i));
    if realv == 0
        value = pi/2;
    else
        value = atan((imagv / realv));
        phaseim(j, i) = value;
        ang = floor(180 * (pi / 2 + value) / pi);
    end
    if ang < 0
        ang = 0;
    end
    if ang > 179
        ang = 179;
    end
    phase(ang + 1) = phase(ang + 1) + 1;
end
end
maxphase = max(phase);

subplot(2,3,1);
imshow(im);
title('Original Image');

subplot(2,3,2);
imshow(phaseim);
title('Phase image');

subplot(2,3,3);
plot(phase / maxphase);
title('Phase histogram (0...2 \pi)');%
axis on
%accumulation of magnitude for each direction and radius
rmax = log(min(M,N)/2);% maximum radius
for j = 1:M
    if j ~= yctr
        yval = yctr - j;
        y2 = yval * yval;
        for i = 1:N
            if i ~= xctr
                xval = i - xctr;
                rho = log(sqrt(y2 + xval * xval));
                if rho > 0 & rho <= rmax
                    mval = mag(j,i);
                    temp = yval /xval;
                    theta = atan(temp);
                    if xval < 0
                        theta = theta + pi;
                    end
                    if theta < 0

```

```

        theta = theta + 2 * pi;
    end
    ang = floor(NUM_DIR * theta / (2 * pi));
    if ang > NUM_DIR - 1 | ang < 0
        ang = NUM_DIR - 1;
    end
    k = floor(2 * NUM_RAD * rho / rmax);
    h = floor(k / 2);
    if k > 2 * NUM_RAD - 1
        h = NUM_RAD - 1;
        k = 2 * NUM_RAD - 1;
    end

    if h >= 5
        sumBrite(ang + 1, h + 1) = sumBrite(ang + 1, h + 1) + mval;
        nCount(ang + 1, h + 1) = nCount(ang + 1, h + 1) + 1;
    end
    if k >= 5
        radius(k + 1) = radius(k + 1) + mval;
        radCount(k + 1) = radCount(k + 1) + 1;
    end
end
end
end
end
end

%linear regression
for ang = 1:NUM_DIR
    sumx = 0;
    sumy = 0;
    sumx2 = 0;
    sumxy = 0;
    sumn = 0;
    for range = 6:NUM_RAD
        if nCount(ang, range) > 0
            yval = sumBrite(ang, range) / nCount(ang, range);
            xval = (range - 1) * rmax / NUM_RAD;
            sumx = sumx + xval;
            sumy = sumy + yval;
            sumx2 = sumx2 + xval * xval;
            sumxy = sumxy + xval * yval;
            sumn = sumn + 1;
        end
    end
    slope(ang) = (sumn * sumxy - sumx * sumy) / (sumn * sumx2 - sumx * sumx);
    intercept(ang) = (sumy - slope(ang) * sumx) / sumn;
end
end

```

```

%compute average slope over all directions and scales
sumn = 0;
for k = 6:(2 * NUM_RAD)
    if radCount(k) > 0
        sumn = sumn + 1;
        yval(k) = radius(k) / radCount(k);
        tempr(sumn) = (k - 1) * rmax / (2 * NUM_RAD);
    end
end
p = polyfit(tempr,yval,1);
averslope = p(1);
averIC = p(2);

fitln = polyval(p,tempr);

subplot(2,3,4);
plot(tempr,yval,tempr,fitln,'r-');
title('Log Log plot of Magn. vs Freq.');
```

ylabel('Log Magnitude');

xlabel('Log Frequency');

```

slope(NUM_DIR + 1) = slope(1);
intercept(NUM_DIR + 1) = intercept(1);

%draw rose plot of slope and intercept
ang = 1: (NUM_DIR + 1);

subplot(2,3,5);
polar(pi/NUM_DIR + (ang - 1) * 2* pi / NUM_DIR, intercept(ang), 'r-');
title('Rose plot of intercept');
```

```

subplot(2,3,6);
polar(pi/NUM_DIR + (ang - 1) * 2 * pi / NUM_DIR, abs(slope(ang)), '-');
title('Rose plot of slope');
```

disp(['Elapsed time: ' num2str(toc)]);

figure (2)

```

plot(tempr,yval,tempr,fitln,'r-');
title('Log Log plot of Magn. vs Freq.');
```

ylabel('Log Magnitude');

xlabel('Log Frequency');

```

slope(NUM_DIR + 1) = slope(1);
intercept(NUM_DIR + 1) = intercept(1);

figure (3)

plot(tempr,yval,'r-');
```

```
title('Log Log plot of Magn. vs Freq.');
```

```
ylabel('Log Magnitude');
```

```
xlabel('Log Frequency');
```

figure (4)

```
plot(tempr,fitln,'r-');
```

```
title('Log Log plot of Magn. vs Freq.');
```

```
ylabel('Log Magnitude');
```

```
xlabel('Log Frequency');
```

- **Anexo D1:**  
*Lista de Acrónimos*

MEB – Micrografía electrónica de barrido.

CAT – Tomografía axial computarizada.

PBS – Buffer de fosfato salino.

FFT, método de la: Método de la transformada rápida de Fourier (Fast Fourier Transform).

BC, método de la: Método del conteo de cajas (Box-Counting).

FD – Dimensión fractal.

BMD – Densidad mineral ósea.

MIL – Longitud media de intercepción

- **Anexo D2:**  
*Índice de figuras.*

Tabla	Descripción	Pág.
Tabla 4.1.	Grupos de seguimiento.	11
Tabla 4.2.	Imágenes de las muestras caracterizadas por CAT y tomadas como plataforma para el estudio por fractales.	12
Tabla 4.3.	Características físicas de las tres muestras que fueron seleccionadas para utilizarlas como plataforma en este estudio con las condiciones de hueso definidas como: sana, osteopénica y osteoporótica mediante CAT.	12
Tabla 5.1.	Características de las imágenes panorámicas construidas.	14

- **Anexo D3:**  
*Índice de figuras.*

<b>Figura</b>	<b>Descripción</b>	<b>Pág.</b>
<b>Fig. 4.1.</b>	Estructura, imagen 3D, sección y corte longitudinal de la vértebra lumbar L3.	10
<b>Fig. 4.2.</b>	Vértebra BP-372 / Osteopénica.	12
<b>Fig. 4.3.</b>	Vértebra BP-424 / Osteoporótica.	12
<b>Fig. 4.4.</b>	Vértebra BP-428 / Normal.	12
<b>Fig. 5.1.</b>	Micrografías MEB en donde se observa el deterioro micro-arquitectónico del hueso trabecular en función de la edad.	13
<b>Fig. 5.2.</b>	Vértebra 372 con osteopenia diagnosticada.	14
<b>Fig. 5.3.</b>	Vértebra 424 con osteoporosis diagnosticada.	15
<b>Fig. 5.4.</b>	Vértebra 428 con ningún padecimiento óseo diagnosticado.	15
<b>Fig. 6.1.</b>	Distribución de datos en matrices, información obtenida a partir del análisis efectuado por el método del BC.	16
<b>Fig. 6.2.</b>	Datos del análisis, mediante el método del BC, efectuado a cada segmento de la vértebra 372.	17
<b>Fig. 6.3.</b>	Datos del análisis, mediante el método del BC, efectuado a cada segmento de la vértebra 424.	18
<b>Fig. 6.4.</b>	Datos del análisis, mediante el método del BC, efectuado a cada segmento de la vértebra 428.	19
<b>Fig. 6.5.</b>	Superficie en 3D construida a partir de las dimensiones fractales obtenidas a través del método del BC aplicado a los segmentos de la vértebra 372.	20
<b>Fig. 6.6.</b>	Superficie en 3D construida a partir de las dimensiones fractales obtenidas a través del método del BC aplicado a los segmentos de la vértebra 424.	20
<b>Fig. 6.7.</b>	Superficie en 3D construida a partir de las dimensiones fractales obtenidas a través del método del BC aplicado a los segmentos de la vértebra 428.	21
<b>Fig. 6.8.</b>	Pantalla inicial del programa desarrollado en MATLAB para la obtención de la FD mediante el método por conteo de cajas (Box-Counting).	21
<b>Fig. 6.9.</b>	(a) Imagen en blanco y negro ecualizada, (b) histograma, (c) imagen banalizada y (d) gráfica de los vectores $n$ y $r$ para determinar la FD.	22
<b>Fig. 6.10.</b>	Gráfica de los vectores $n$ y $r$ ; la FD se determina a partir de calcular la pendiente del segundo segmento de la curva.	22
<b>Fig. 6.11.</b>	Distribución de datos en matrices, información obtenida a partir del análisis efectuado por el método de la FFT.	23
<b>Fig. 6.12.</b>	Datos del análisis, mediante el método de la FFT, efectuado a cada segmento de la vértebra 372.	24
<b>Fig. 6.13.</b>	Datos del análisis, mediante el método de la FFT, efectuado a cada segmento de la vértebra 424.	25
<b>Fig. 6.14.</b>	Datos del análisis, mediante el método de la FFT, efectuado a cada segmento de la vértebra 428.	26

<b>Fig. 6.15.</b>	Superficie en 3D construida a partir de las dimensiones fractales obtenidas por el método de la FFT aplicado a los segmentos de la vértebra 372.	27
<b>Fig. 6.16.</b>	Superficie en 3D construida a partir de las dimensiones fractales obtenidas por el método de la FFT aplicado a los segmentos de la vértebra 424.	27
<b>Fig. 6.17.</b>	Superficie en 3D construida a partir de las dimensiones fractales obtenidas por el método de la FFT aplicado a los segmentos de la vértebra 428.	28
<b>Fig. 6.18.</b>	Pantalla inicial del programa desarrollado en MATLAB para la obtención de la FD mediante el método de FFT.	28
<b>Fig. 6.19.</b>	(a) Imagen en blanco y negro ecualizada, (b) gráfico de fase, (c) histograma de fase y (d) gráfica de los vectores magnitud y frecuencia para determinar la FD.	29
<b>Fig. 6.20.</b>	Gráfica de los vectores <i>magnitud</i> y <i>frecuencia</i> , la FD se determina a partir de aplicar un ajuste lineal a la curva con tendencia lineal de 49 puntos.	29
<b>Fig. 7.1.</b>	Calibración y comprobación del método del BC para la evaluación de la FD.	30
<b>Fig. 7.2.</b>	Calibración y comprobación del método de la FFT para la evaluación de la FD.	31