

DETERMINACION DE POROSIDAD EN MUESTRAS OSEAS DESCALIFICADAS EMPLEANDO ANALISIS DE IMAGEN

Fernando Ireta M. René Martínez C. Bárbara González R. Eduardo Morales S.
 Miguel Hernandez F. Jesús Martínez P. Rogelio Castro S. Donato Hernandez F.
 Universidad de Guanajuato - Cicata IPN Qro.
 División de Ingenierías campus Irapuato-Salamanca
 Carretera Salamanca-Valle de Santiago Km 3.5+1.8, Salamanca, Gto.
 Tel: (464) 6479940 ext: 2351 Fax: ext:2311
 fireta@salamanca.ugto.mx

RESUMEN.

En la División de Ingenierías Campus Irapuato Salamanca y en el Cicata IPN Qro. se realiza un estudio de caracterización de muestras óseas descalcificadas, a fin de simular el proceso de la perdida de calcio en hueso; esto con el fin de reproducir lo que ocasiona la osteoporosis en un hueso. Parte del estudio es la caracterización de las muestras por el grado de porosidad que se obtiene en las muestras óseas con diferente grado de descalcificación; para relacionar dicho valor con la impedancia, densidad y permitividad de las mismas.

Para la determinar el grado de porosidad se ha utilizando un proceso de análisis de contorno y filtrado de la imagen la cual es obtenida por medio de un microscopio óptico con cámara digital.

1. INTRODUCCIÓN.

La osteoporosis es la perdida de calcio en huesos y se determina por la variación en la densidad ósea, lo que indica que a mayor grado de descalcificación el tamaño de los poros en el hueso aumenta como se aprecia en la figura 1 donde se muestra un hueso sano y uno con cierto grado de osteoporosis.

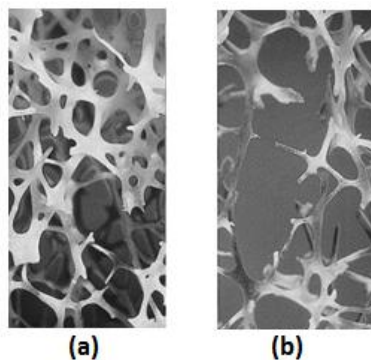


Figura 1. Hueso sano (a), con osteoporosis (b)

Las muestras para simular la descalcificación se obtuvieron de huesos de cerdo, ya que es el hueso de animal que más parece al humano[1] los huesos se cortaron y se limpiaron y se sometieron a un tratamiento químico[2] con ácido para provocar la descalcificación, se prepararon 30 muestras cada una con diferente tiempo en la solución ácida, ya que el ácido empleado solo ataca el calcio; lo cual provoca que en las muestras aumente el tamaño de los poros[3] conforme aumenta el grado de descalcificación, en la figura 2 se indica el proceso de preparación de las muestras las cuales al final



Figura 2. Proceso de preparación de muestras óseas descalcificadas

se pulverizan y se forma una pastilla en una celda especial, dentro de la cual las muestras son prensadas y sometidas a estudios de espectroscopia de impedancia[4]; en la figura

3 se aprecia la celda con la cual se obtienen las pastillas de hueso con diferente grado de descalcificación.

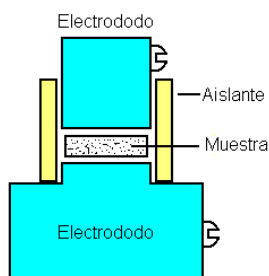


Figura 3. Celda de prueba para obtener muestras descalcificadas en forma de pastilla.

Estas pastillas son las que se emplean para realizar el análisis de porosidad en la superficie, ya que las diferentes muestras al tener distinto grado de descalcificación, se refleja esto en la superficie de las pastillas de hueso la que tendrá diferente tamaño de poro, el cual deberá ser mayor conforme aumenta el grado de descalcificación, dicha cantidad de poros se miden como porcentaje de porosidad.

Las muestras para realizar el estudio se colocaron en un sistema de prensado con presión controlada de 5 kilogramos fuerza mostrado en la figura 4 a fin de mantener la



Figura 4. Sistema de prensado de las muestras óseas descalcificadas

misma consistencia en todas las muestras, ya que si modificamos la presión se modifica el

tamaño de los poros al ser más compacta la muestra.

1.1 Porosidad

La porosidad es una medida de la capacidad de almacenamiento de fluidos, que posee un material poroso y se define como la fracción del volumen total del material que corresponde a espacios[5] que pueden almacenar los fluidos.

Una forma aproximada de cuantificar la porosidad es por medio de la técnica óptica; que consiste en la relación en porcentaje del área de los poros con respecto al área total analizada, es aproximada porque en la muestra existen poros internos los cuales no se ven en la imagen, mas sin embargo los poros superficiales evaluados nos dan la aproximación de la porosidad, que en nuestro caso es necesaria una evaluación cuantitativa.

2. DESARROLLO.

Para la evaluación de la porosidad se requiere obtener la imagen de la muestra con un microscopio y captura de imágenes con cámara digital dado que en el procesamiento de las imágenes, consiste en obtener una fotografía de cada una de las muestras vistas al microscopio a 10x, con iguales características de iluminación para lo cual se ilumina la muestra con dos leds de alta luminosidad a un ángulo de 45 grados a fin lograr la iluminación uniforme y es mostrado en la figura 5

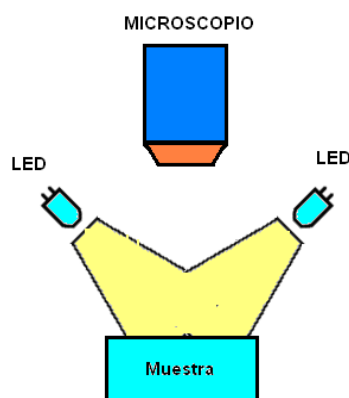


Figura 5. Iluminación de la muestra ósea para captura de la imagen con microscopio

2.1 Filtrado para resaltar los contornos de los poros en la Muestra Ósea

El tamaño de la imagen capturada es de 770×670 píxeles, en tonos de gris donde a acorde al nivel de gris se considera un valor de 0=negro y 255=blanco.

Este método está basado en el procesamiento digital de imágenes, donde en una imagen capturada para resaltar los contornos de los poros, se emplea un filtro tipo Canny, el resultado de aplicar este filtro a la imagen original da como resultado una imagen en donde se resalta el contorno[6] de los poros, esto nos ayuda para determinar en que partes de la imagen tendremos poros. En la figura 6a se muestra la imagen original y en figura 6b el resultado después de aplicar el filtro de contorno.

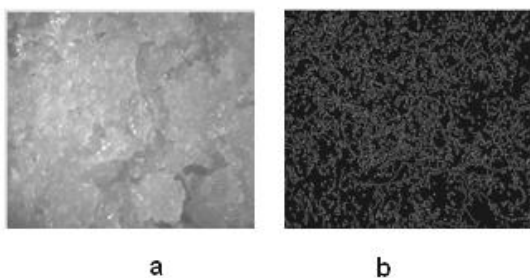


Figura 6. Imagen original (a), imagen después de aplicar el filtro Canny (b).

Para resaltar los poros en la imagen original convertida a niveles de gris y en base a las características morfológicas de la imagen se estima una imagen de fondo (background), con un nivel de iluminación el cual se resta de la imagen original para resaltar los poros, en la figura 7a se muestra la imagen de background y en 7b la resta con respecto a la imagen original en escala de grises.

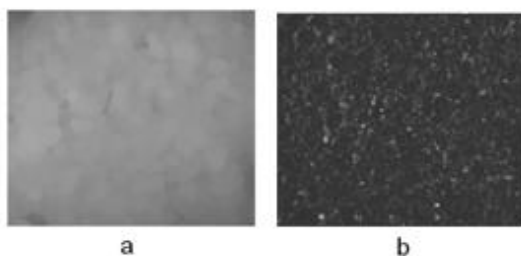


Figura 7. Imagen de fondo background de nivel luminoso (a), resta de la imagen background y la original (b)

La imagen obtenida de la resta figura 7b como es una imagen muy oscura, se incrementa su nivel de contraste con la función `imadjust` del software Matlab, la cual aumenta el contraste de la imagen mediante la saturación del 1% de los datos, tanto a intensidades bajas y altas para aprovechar al máximo los valores de intensidad para llenar el rango dinámico 0 a 255 de niveles de gris y el resultado esta dado en la figura 8a, pero para realizar un análisis de los poros se requiere una imagen solo en blanco y negro por tanto para apreciar los poros se ajustó esta imagen con un valor de nivel de umbral de 0.05(threshold) en el nivel de gris, y la imagen resultante se muestra en la figura 8b, en la cual se aprecian los poros cuyos contornos se resaltaron en la figura 6a con el filtro Canny.

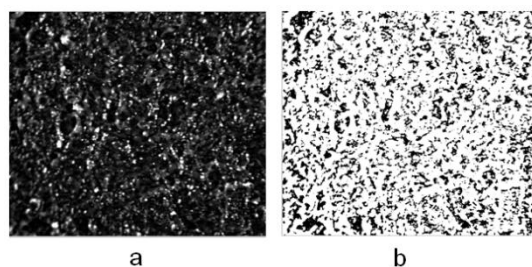


Figura 8. Imagen ajustada con nivel de contraste (a), imagen ajustada con valor de umbral de gris 0.05 (b).

2.2 Determinación de la Porosidad

Para determinar la porosidad que tiene la imagen superficial de la muestra ósea descalcificada, se desarrollo un programa en Matlab que procesa la imagen aplicando el filtro Canny, restar la imagen de background y ajustar el nivel de contraste y gris para obtener la imagen de la figura 8b, en dicha imagen de blanco y negro que es una imagen binaria, el programa desarrollado cuenta los unos en la imagen binaria donde el 1 corresponde al color blanco y el 0 al color negro; con el programa se calcula el valor del porciento del área total que corresponde a los poros. En el caso de esta imagen (fig. 8b) correspondiente a la muestra 15, cuyas dimensiones son 670 píxeles \times 770 píxeles, el total de píxeles es de 515900 que sería el 100% que correspondería al 0% de poros, por ejemplo para la Muestra 15 al realizar el conteo contiene 396,201 pixel de valor 1, que sería el 76.7631 % del área, así el % de porosidad en la imagen sería $100 - 76.7631 = 23.2369$, en la tabla I se

muestran los valores de porosidad para solo 6 de las 30 muestras.

Tabla I Por ciento de porosidad

Muestra	% Porosidad
0	19.5571
1	19.8564
4	19.9893
7	21.4567
10	22.6057
13	22.8456
15	23.2369
18	25.2343
21	28.3423
24	30.2712
27	30.8965
30	32.9882

En la tabla anterior se observa el incremento de la porosidad conforme se incrementa los días de descalcificación, ya que la muestra 0 tiene cero hasta la 30 que son 8 días que sería la de mayor descalcificación, en la figura 9 se grafican los valores y se aprecia como varia el porcentaje de porosidad con respecto al número de muestra, y esto indica conforme aumentan los días de descalcificación el % de porosidad aumenta

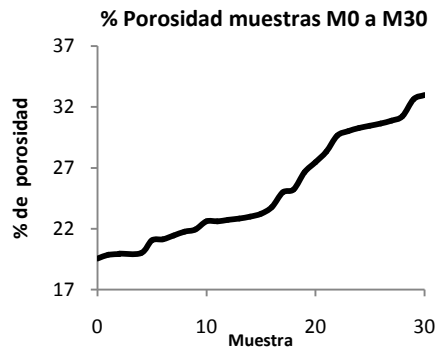


Figura 9. valores del % de descalcificación con respecto a las muestras de varios días de descalcificación

Se muestra el programa en Matlab desarrollado para el cálculo de la porosidad.

```
% porosidad en muestras óseas
% la imagen es de 770X670 pixeles
close all;
% leer la imagen del archivo esta en color
im = imread('IM15.jpg');
figure(1),imshow(im)
I = rgb2gray(im); % convierte a gris (0 a 255)
figure(2),imshow(I)
% filtro canny
BW2 = edge(I,'canny');
figure(3),imshow(BW2)
% Display the Background as a Surface
background = imopen(I,strel('disk',15));
figure(4),imshow(background)
% resta original (I) de fondo (background)
% detectar lo superficial eliminando el fondo
I2 = imsubtract(I,background);
figure(6),imshow(I2)
I3 = imadjust(I2); % ajusta el nivel de gris
figure(7),imshow(I3);
% level = graythresh(I3);
% bw = im2bw(I3,level);
bw = im2bw(I3,0.05); % resaltar los poros
figure(8),imshow(bw)
b=bw
for i=1:1:670,
% Imagen de 393X476 (1,1) (770,1)
% coordenadas (1,670) (770,670)
d = sum(b(i,:)); db(i) = d; % suma una línea
end
T = sum(db)/1; %
T;
R=T*(100)/515900;
P=(100-R);
R;
P;
% 100% = 770X670=515,900.00
% por tanto los 1 (unos) de la matriz son:
% en % X=T(100)/515,900.00
% y la porosidad o (ceros) sera 100%-X=%
porosidad
```

Resultados:
T = 396021
R = 76.7631
P = 23.2369

3. Resultados.

Se aplicó el cálculo del nivel de porosidad a las 30 muestras óseas y se determinó que conforme aumentó el porcentaje de descalcificación, se incrementó el % de porosidad, en la tabla II se muestra el resultado del tratamiento de la imagen original y la imagen obtenida por el análisis de imágenes con el programa desarrollado en Matlab, y se compara con respecto al % de pérdida de calcio obtenido con un proceso químico para seis de las 30 muestras.

4. Conclusiones.

Conforme a los resultados obtenidos del tratamiento de las imágenes superficiales en las muestras óseas descalcificadas; y aunque en el material el incremento del tamaño en los poros creados por el proceso de descalcificación se conoce que dentro del material los poros pueden estar interconectados, no interconectados, poros no accesibles, por tanto la porosidad por este método visual es un valor aproximado y dado que en nuestro estudio solo se requiere un cálculo aproximado del porcentaje de porosidad se concluye que este método de análisis de imágenes para determinar el % de porosidad cumple satisfactoriamente con lo requerido.

5. Bibliografía.

[1] Gartner, Leslie P. et James L. Hiatt. *Texto Atlas de Histología*. 3 ed. Editorial Mc Graw Hill. USA, 2007

[2] Ramzi S. Cotran, Vinay Kumar: Robbins, Patología estructural y funcional, 6ta edición 1999, Mac Graw Hill Interamericana


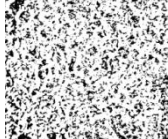

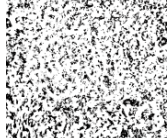

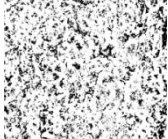
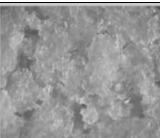
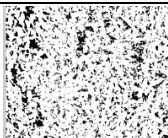

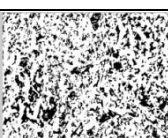
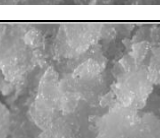
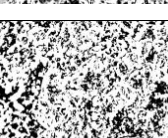
[3] Duck F.A. Physical Properties of Tissues. A comprehensive Reference Book. Ed. Academic Press:San Diego,1990.

[4] Ireta Moreno F., "Espectroscopia Eléctrica aplicada para determinar Osteoporosis en muestras Óseas", Congreso Electro/ 2010, Chihuahua, Chihuahua.

[5] Martinez M., Taud H., Brambila F., Porosidad de los Yacimientos naturalmente fracturados: una clasificación fractal. Revista Mexicana de ciencias Geológicas, Vol 23, num 2, 2006.

[6] J. Canny. A Computational Approach to Edge Detection, IEEE Trans. on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 8(6), pp. 679-698 (1986).

Tabla II. Valores de % porosidad en la imagen binarizada y pérdida de calcio en 6 de las 30 muestras descalcificadas

Muestra	Imagen Tonos de gris	Imagen binarizada	% Porosidad	Pérdida calcio (g)
M0			19.5571	0.0000
M5			21.0384	0.03003
M10			22.6057	0.0338
M15			23.2369	0.03592
M20			27.4769	0.04101
M30			32.9882	0.05603