



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID
ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA Y
DISEÑO INDUSTRIAL

Grado en Ingeniería Electrónica y Automática Industrial

TRABAJO FIN DE GRADO

DETECCIÓN TEMPRANA DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON MEDIANTE BIOMARCADORES EN LA SUSTANCIA NIGRA Y EL LOCUS COERULEUS A TRAVÉS DE IMÁGENES DE RESONANCIA MAGNÉTICA EN T1 Y SENSIBLES A NEUROMELANINA

Irene Sánchez Altable

Cotutor: José Ángel Pineda
Pardo

Tutor: Carlos Platero Dueñas
Departamento: Eléctrica,
Electrónica y Física aplicada

Madrid, Junio, 2019



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA Y
DISEÑO INDUSTRIAL

Grado en Ingeniería Electrónica y Automática Industrial

TRABAJO FIN DE GRADO

DETECCIÓN TEMPRANA DE LA
ENFERMEDAD DE PARKINSON
MEDIANTE BIOMARCADORES EN LA
SUSTANCIA NIGRA Y EL LOCUS
COERULEUS A TRAVÉS DE IMÁGENES
DE RESONANCIA MAGNÉTICA EN T1 Y
SENSIBLES A NEUROMELANINA

Firma Autor

Firma Tutor

Título: Detección temprana de la enfermedad de Parkinson mediante biomarcadores en la sustancia nigra y el locus coeruleus a través de imágenes de resonancia magnética en T1 y sensibles a neuromelanina

Autor: Irene Sánchez Altable

Tutor: Carlos Platero Dueñas

Cotutor: José Ángel Pineda

EL TRIBUNAL

Presidente:

Vocal:

Secretario:

Realizado el acto de defensa y lectura del Trabajo Fin de Grado el día de de ... en, en la Escuela Técnica Superior de Ingeniería y Diseño Industrial de la Universidad Politécnica de Madrid, acuerda otorgarle la CALIFICACIÓN de:

VOCAL

SECRETARIO

PRESIDENTE

Agradecimientos

En primer lugar me gustaría agradecer y dedicar este trabajo a mi tutor Carlos Platero. Gracias Carlos por haberme dado la oportunidad de participar en este gran proyecto de neurociencia. Durante estos meses, además de dedicar tú tiempo y esfuerzo en este estudio, me has enseñado con pasión la importancia de tener inquietud por aprender algo nuevo cada día y de poder ser capaz de transmitirlo. Espero que el resultado haya estado a la altura de tus expectativas.

A todo el equipo del Centro Integral de Neurociencias (CINAC) del Hospital HM de Móstoles y en especial a mi cotutor José Ángel, gracias por haberme ayudado desde el primer día que empecé las prácticas, este proyecto también ha sido posible gracias a vosotros.

Por supuesto, a mis padres. Gracias mamá y papá por absolutamente todo. Gracias por apoyo incondicional durante todos estos años, en los momentos buenos y en los no tan buenos. Por todo lo que hacéis día a día por mí y por enseñarme a no rendirme nunca.

Este proyecto supone el fin de una de las etapas más importantes de mi vida. Estos últimos años de universidad han sido todo un reto que he podido compartir, disfrutar y también sufrir con buenos amigos. Solo nosotros sabemos lo importante que es apoyarnos los unos a los otros en los malos momentos y estar juntos también para celebrar los logros. En especial a ti Irene, mi amiga para toda la vida. Hemos sabido llegar hasta aquí y como tú bien dices “si quieres llegar rápido ve solo, si quieres llegar lejos, ve acompañado” y yo, no podría haber tenido más suerte contigo.

A mis amigas de siempre, a las que están día tras día. Gracias por estar en las buenas, en las mejores y sobre todo, en esos momentos en los que se necesita un buen amigo. Con vosotras a mi lado, todo se hace más fácil.

Por último, pero no menos importante, gracias a todo aquel que haya llegado hasta este proyecto y dedique su tiempo en leerlo.

Resumen

La enfermedad de Parkinson es un trastorno neurodegenerativo que afecta al sistema nervioso de manera crónica y progresiva. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) esta enfermedad afecta a 1 de cada 100 personas mayores de 60 años.

Este proyecto se resume en la búsqueda de biomarcadores de la enfermedad de Parkinson en estadios tempranos a través de imágenes de resonancia magnética (MRI) ponderadas en T1 sensibles a neuromelanina. Las medidas que se evalúan como posibles biomarcadores se extraen de la segmentación de dos regiones cerebrales que se ven afectadas por la enfermedad: la sustancia nigra y el locus coeruleus. Ambas regiones sufren una pérdida de neuromelanina. Esta pérdida es debido a la degeneración de las neuronas dopaminérgicas y puede verse reflejada en las imágenes de resonancia magnética.

La calidad de diagnóstico se basa en el poder de discriminación entre sujetos sanos y pacientes con la enfermedad de Parkinson en etapas tempranas de la enfermedad. Los biomarcadores se evaluarán mediante el análisis de la varianza con un factor (ANOVA) y el análisis de la validación cruzada dejando uno fuera (LOO) a partir del cual se obtiene la información necesaria para realizar el análisis de las características operativas del receptor (ROC) y su correspondiente rendimiento a través del área bajo la curva.

Palabras clave: Parkinson, T1, neuromelanina, MRI, sustancia nigra, locus coeruleus, segmentación, biomarcadores, ANOVA, LOO, ROC.

Abstract

Parkinson's disease is a progressive neurodegenerative disorder that according to the World Health Organization (WHO) affects 1 in 100 people older than 60 years old.

In this project it is summarized in the search for biomarkers of Parkinson's disease in early stages of the disease through T1-weighted neuromelanin-sensitive magnetic resonance imaging (MRI). The measurements, as possible biomarkers, are taken from the segmentation of two cerebral regions that are affected by the disease: substantia nigra and locus coeruleus. There is a loss of neuromelanin in these two regions due to the degeneration of dopaminergic neurons that can be reflected in magnetic resonance imaging.

The quality of the diagnosis is based on the discrimination power between healthy subjects and patients with Parkinson's disease in early stages. The biomarkers will be evaluated with the analysis of variance with one factor (ANOVA) and cross-validation analysis Leave-One-Out (LOO). With the information gathered from the last one, Receiver operating characteristics (ROC) analysis will be carried out to obtain the performance through the area under the curve.

Keywords: Parkinson's disease, T1, neuromelanin, MRI, substantia nigra, locus coeruleus, segmentation, biomarkers, ANOVA, LOO, ROC.

Índice general

Agradecimientos	VII
Resumen	IX
Abstract	XI
Índice	XV
1. Introducción	1
1.1. La Enfermedad de Parkinson.	1
1.2. El papel de la neuroimagen en la Enfermedad de Parkinson.	6
1.3. Objetivos	11
1.4. Estructura del documento	12
2. Estado del arte	13
2.1. <i>Ogisu et al. 2013</i>	13
2.1.1. Resultados.	14
2.1.2. Discusión.	15
2.2. <i>Chen et al. 2014</i>	16
2.3. <i>Castellanos et al. 2015</i>	18
2.3.1. Contenido	18
2.3.2. Resultados	19
2.3.3. Discusión.	20
2.4. <i>Isaias et al. 2016</i>	21
2.4.1. Análisis de las imágenes T1 sensibles a neuromelanina	21
2.4.2. Resultados de la MRI-NM.	23
2.4.3. Discusión.	23
2.5. <i>Schwarz et al. 2017</i>	24
2.5.1. Propósitos	24
2.5.2. Introducción.	24
2.5.3. Métodos.	25
2.5.4. Resultados.	25
3. Materiales del proyecto	27
3.1. Datos demográficos empleados	27
3.1.1. Estudio estadístico de los datos demográficos	29
3.2. Herramientas de software utilizadas.	31
3.2.1. LATEX	31
3.2.2. MATLAB	31

3.2.3.	ITK-SNAP	32
3.2.4.	EXCEL	33
4.	Métodos	35
4.1.	Adquisición de las imágenes de resonancia magnética	36
4.2.	Pre-procesamiento de imágenes MRI	37
4.2.1.	Conversión del formato de la imágenes	38
4.2.2.	Pre-procesamiento imágenes en formato T1.	39
4.2.3.	Pre-procesamiento de imágenes en formato T1 sensibles a neuromelanina.	41
4.3.	Registro de imágenes MRI	46
4.3.1.	Registro de imágenes MRI del espacio nativo al espacio estándar MNI-152	47
4.3.2.	Registro de imágenes MRI del espacio estándar MNI-152 al espacio nativo	53
4.4.	Segmentaciones de la SN y del LC	55
4.4.1.	Segmentación de la sustancia nigra	55
4.4.2.	Segmentación del locus coeruleus	84
4.5.	Obtención de biomarcadores	92
4.5.1.	Obtención del volumen de la SN.	92
4.5.2.	Obtención del volumen de los hiperintensos de la SN.	93
4.5.3.	Obtención de la intensidad de señal (CNR) de la SN	101
4.5.4.	Obtención del volumen deL LC	102
4.5.5.	Obtención de la intensidad de señal (CNR) del LC	103
5.	Resultados	105
5.1.	Evaluación de los biomarcadores obtenidos con las segmentaciones semiautomáticas de la SN.	106
5.1.1.	Evaluación de la volumetría de la SN como biomarcador diferencial de la enfermedad de Parkinson	108
5.1.2.	Evaluación de la volumetría de los hiperintensos de la SN como biomarcador diferencial de la enfermedad de Parkinson	109
5.1.3.	Evaluación de contraste señal a ruido (CNR) de la SN como biomarcador diferencial de la enfermedad de Parkinson	112
5.2.	Evaluación de los biomarcadores obtenidos con las segmentaciones automáticas de la SN.	113
5.2.1.	Evaluación de la volumetría de la SN como biomarcador diferencial de la enfermedad de Parkinson	113
5.2.2.	Evaluación de la volumetría de los hiperintensos de la SN como biomarcador diferencial de la enfermedad de Parkinson	115
5.2.3.	Evaluación de la intensidad de señal de la SN como biomarcador diferencial de la enfermedad de Parkinson	117
5.3.	Evaluación de los biomarcadores obtenidos con las segmentaciones semiautomáticas del LC	119
5.3.1.	Evaluación de la volumetría del LC como biomarcador diferencial de la enfermedad de Parkinson	119
5.3.2.	Evaluación de la intensidad de señal del LC como biomarcador diferencial de la enfermedad de Parkinson	121

6. Discusión y conclusiones	123
6.1. Discusión	123
6.2. Conclusión	126
6.3. Impacto social y económico	127
6.4. Desarrollos futuros	127
A. Anexo A: TABLAS	131
A.1. Tablas volumetría de la SN segmentada automáticamente y sus estadísticos como biomarcadores de la enfermedad.	131
A.2. Tablas volumetría de los vóxeles más hiperintensos la SN segmentada de manera automática y sus estadísticos.	135
A.3. Tablas de intensidades de la SN segmentada automáticamente y la calidad como biomarcadores de la enfermedad	138
B. Anexo B: ESTADÍSTICA	143
B.1. Contraste de hipótesis	143
B.2. Pruebas diagnósticas	145
B.3. Análisis ROC	147
B.3.1. Área bajo la curva (AUC)	147
B.4. Análisis ANOVA	148
B.5. Validación cruzada	150
B.6. Coeficiente DICE.	151
C. Anexo C: Escalas de valoración	153
C.1. Escala de Hoehn y Yahr	153
C.2. Estadios de Braak	154
C.3. Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS)	155
D. Anexo D: Terminología anatómica	157
D.1. Planos anatómicos	157
D.2. Terminología para la orientación anatómica	158
Bibliografía	159

Índice de figuras

1.1.	Ilustración de la parte media del cerebro donde se localiza la SN que contiene neuronas dopaminérgicas. Imagen modificada de [47].	2
1.2.	Ilustración de los diferentes niveles de conducción de dopamina en un sujeto sano y en un sujeto con la enfermedad de Parkinson. Imagen modificada de [46].	2
1.3.	Ilustración de imágenes PET de la sustancia nigra. En la fila superior se muestran sujetos control (HC) y en la fila inferior sujetos con EP (PD). La escala de color muestra la relación de valor de captación estandarizada (SUVR) con el cerebelo como referencia [9].	7
1.4.	Imágenes para el diagnóstico diferencial. (A) Diferenciación EP y temblor esencial por la medición de la actividad DAT a través de SPECT. (B) Las imágenes DAT-SPECT pueden utilizarse para diferenciar PD del parkinsonismo inducido por medicamentos (DIP)[35].	8
1.5.	Imágenes de resonancia magnética T1, T2 y densidad protónica [52].	9
1.6.	Imágenes de resonancia magnética sensibles a neuromelanina de la SNc (A-C) y del LC (D-F). A y D: sujeto control. B y E: sujeto en etapa temprana de la EP. C y F: sujeto en etapa avanzada de la EP [29].	10
2.1.	Distribución del volumen de la SNc. Los diamantes de color negro representan la SNc de los sujetos con EP, y los diamantes de color blanco los sujetos control para un umbral de 2.0. La línea punteada representa el valor de corte (285mm^3) determinado por el análisis ROC. Hay solapamiento entre los dos grupos; sin embargo, la sensibilidad y la especificidad son de 0.83 y 0.82, respectivamente.	15
2.2.	Segmentación del LC. El círculo azul es la ROI de referencia. El círculo rojo marca el apéndice del cuarto ventrículo. Los círculos amarillos son las regiones donde se encuentra el LC.	17
2.3.	Segmentación de la SN.	17
2.4.	Segmentaciones automáticas de la SNc y del LC. En las figuras A las de un sujeto control. En las figuras C las de un paciente con EP.	19
2.5.	Medidas del volumen bilateral de la SNc y del LC y comparaciones entre grupos. HS: sujetos control. iPD: pacientes con enfermedad idiopática.	20
2.6.	Definición de las ROIs para la SN. (A) Colocación de las ROIs en los pedúnculos cerebrales. (B) Creación del mapa binario con los vóxeles hiperintensos. (C) Aislamiento de los vóxeles que pertenecen a la SN.	22
2.7.	Definición de las ROIs para el LC.	23

2.8.	Datos listados como: media \pm desviación típica.	23
2.9.	Curvas ROC del análisis del volumen de neuromelanina en SN, ATV y LC. (A) Antes de la normalización y (B) después de normalizar utilizando umbrales ajustados a cada secuencia específica. Las diferentes curvas son del volumen de la SN anterior y posterior, toda la SN, el volumen del ATV y del LC	26
3.1.	Imágenes T1 y T1 sensible a neuromelanina.	27
3.2.	Análisis ANOVA de la edad de los sujetos utilizados en el estudio. . .	30
3.3.	Logotipo de L ^A T _E X.	31
3.4.	Logotipo de MATLAB.	31
3.5.	Logotipo de ITK-SNAP.	32
3.6.	Segmentación de una imagen con ITK-SNAP en los tres planos y el volumen tridimensional[55].	32
3.7.	Logotipo de Microsoft Excel.	33
4.1.	Imágenes T1 y T1 sensible a neuromelanina.	36
4.2.	La imagen A muestra la colocación utilizada para adquirir los datos de las imágenes T1 sensibles a NM. La línea azul es la posición aproximada de la sustancia nigra y la azul, del locus coeruleus. Las imágenes B y C del plano axial muestran la SN y el LC, respectivamente [15] .	36
4.3.	En la imagen superior se observa la MRI de T1 en formato <i>nii</i> en los tres planos, en la imagen inferior los tres planos de una MRI T1 NM con el formato <i>nii</i>	38
4.4.	Imagen T1 antes y después de aplicarle la función <i>robustfov</i>	39
4.5.	Imagen T1 antes y después de aplicarle la función <i>N4BiasFieldCorrection</i>	40
4.6.	Imagen T1 antes y después de aplicarle la función <i>denoising</i>	40
4.7.	Pre-procesamiento de una imagen T1 en formato NIfTI.	41
4.8.	Imagen T1 NM después de aplicarle la función <i>fsloreorient2std</i>	41
4.9.	Registro rígido de las imágenes 2 y 3 de neuromelanina a la imagen 1.	43
4.10.	Promediado de las imágenes de neuromelanina. (A) Imagen T1_Nmel_1, imagen de referencia para los registros. (B) Imagen T1_Nmel_2 registrada sobre la A, Imagen_registrada_2to1. (C) Imagen T1_Nmel_3 registrada sobre la imagen A, Imagen_registrada_3to1. (D) Imagen promediada (avg).	44
4.11.	Transformación rígida en dos dimensiones.	46
4.12.	Transformación afín en dos dimensiones.	46
4.13.	Transformación elástica en dos dimensiones.	46
4.14.	Imagen T1 NM antes y después de aplicarle el registro con <i>WarpImageMultiTransform</i> para reorientarlo al espacio T1.	48
4.15.	Máscara binaria del slab de T1 NM reorientado al espacio T1.	49
4.16.	Máscara del slab de T1.	49
4.17.	En la parte superior: Imagen T1 del cerebro completo una vez se ha realizado la extracción del cráneo y del tejido no cerebral con la función <i>bet</i> . En la parte inferior: Máscara binaria de la imagen T1 después de aplicar la extracción del cráneo gracias a la opción <i>-m</i> . . .	51
4.18.	Imagen T1 NM registrada al espacio estándar MNI-152.	52
4.19.	Esquema del procedimiento de la segmentación de la SN.	56

4.20. Imagen anatómica del tronco encefálico. Imagen modificada de [49].	58
4.21. Vista posterior del tronco encefálico y plano axial del mesencéfalo. Imagen modificada de [49].	58
4.22. Diferencia de intensidades de la escala de grises en la frontera de distintas regiones en una imagen de neuromelanina.	59
4.23. Ajuste de contraste mediante la herramienta de ITK-SNAP.	59
4.24. Ampliación de la región del mesencéfalo.	60
4.25. Etiquetado de la SN en el espacio nativo.	60
4.26. Máscara de la SN en los tres planos anatómicos sobre imagen de neuromelanina. Reconstrucción 3D.	61
4.27. Localización de los pedúnculos cerebrales. (A) Vista anterior y (B) vista lateral. [60]	62
4.28. Partes del mesencéfalo en la vista axial. Imagen modificada de [49].	62
4.29. Etiquetado de los pedúnculos cerebrales en el espacio nativo.	63
4.30. ROI de los pedúnculos cerebrales en los tres planos anatómicos sobre imagen de neuromelanina en el espacio nativo. Reconstrucción 3D.	64
4.31. Imágenes obtenidas después de la segmentación previa de un sujeto con 4 slices segmentados, visualizadas con ITK-SNAP. El color rojo representan los vóxeles que han superado el umbral establecido.	67
4.32. Imágenes obtenidas después de la segmentación previa de un sujeto con 3 slices segmentados, visualizadas en MATLAB.(A) Imagen um- bralizada. (B) Imagen después de aplicar <i>imopen</i> . (C) Imagen después de aplicar <i>imclose</i>	68
4.33. (A) Imagen umbralizada en el script <i>segPrev</i> . (B) Imagen de la máscara de la SN. (C) Imagen con la que se va a trabajar.	70
4.34. La imagen izquierda representa la segmentación final de las SN de los dos hemisferios, en sujeto cuya SN se visualizaba en tres slices. En la imagen de la derecha aparece la segmentación etiquetada. Visualiza- ción con la herramienta MATLAB.	72
4.35. Imagen final de una segmentación semiautomática de la región de la SN de un sujeto en el que la SN se visualizaba en cuatro slices. Imagen visualizada con ITK-SNAP.	73
4.36. Etiquetado de la SN en el espacio estándar MNI-152.	76
4.37. ROI de la SN en los tres planos anatómicos sobre imagen de neuro- melanina en espacio estándar MNI-152. Reconstrucción 3D.	76
4.38. Modelos de pedúnculos cerebrales realizados slice a slice PC1 y PC2.	77
4.39. Modelos de pedúnculos cerebrales PC3, PC4 y PC5.	78
4.40. Slices etiquetados para el modelo de pedúnculo PC3.	78
4.41. Slices etiquetados para el modelo de pedúnculo PC4.	78
4.42. Slices etiquetados para el modelo de pedúnculo PC5.	79
4.43. Modelos de pedúnculos cerebrales PC6 y PC7.	79
4.44. ROI de la sustancia nigra resultado de haber sido registrada desde el espacio estándar al espacio nativo de un sujeto.	80
4.45. ROIs de los distintos modelos de pedúnculos cerebrales resultado de haber sido registradas desde el espacio estándar al espacio nativo de un sujeto.	80
4.46. Imagen final de un slice las segmentaciones automáticas de la región de la SN con los distintos modelos de ROI de PC.	83

4.47. Imagen anatómica del tronco encefálico. Imagen modificada de [49].	84
4.48. Vista axial del LC en un (A) corte histológico del tronco encefálico post-mortem y (B) imagen in vivo de alta resolución con T1-TSE scan [13]	84
4.49. Reconstrucción del volumen del tronco cerebral y (en color verde) el locus coeruleus [41].	85
4.50. ROIs para la segmentación del LC. (A) Metodología Chen et al. [2], el círculo azul es la ROI de referencia. El círculo rojo marca el apéndice del cuarto ventrículo. Los círculos amarillos son las regiones donde se encuentra el LC. (B) Metodología Tona et al. [42],	86
4.51. Ajuste de contraste mediante la herramienta ITK-SNAP.	87
4.52. Ampliación de la región del puente. (A) Localización del cuarto ventrículo y el LC. (B) ROI del LC (círculos rosa y verde) y del cuarto ventrículo (círculo rojo).	87
4.53. (A) Imagen sin etiquetar del puente. (B) Imagen etiquetada con la ROI de referencia situada el puente tegmento (círculo de color amarillo). (C) Imagen etiquetada con la ROI de referencia situada en el MCP (color amarillo).	88
4.54. Ilustración de variabilidad de volumen global en 3D de LC [4].	89
4.55. Segmentación del LC. (A) Imagen sin etiquetar. (B) Segmentación obtenida con la ROI de referencia en el tegmento pontino. (C) Segmentación obtenida con la ROI de referencia en los pedúnculos cerebrales medios.	91
4.56. Localización del mesencéfalo. Imagen modificada de [51] y [50].	95
4.57. Plano axial del mesencéfalo y sus partes.	95
4.58. Segmentación manual del mesencéfalo en el espacio nativo de un sujeto.	96
4.59. Segmentación manual del mesencéfalo en el espacio nativo de un sujeto después de haberse registrado desde el espacio MNI-152.	96
4.60. Imagen de la selección de vóxeles hiperintensos etiquetados para los dos hemisferios.	100
5.1. Diagrama caja-bigotes del volumen de la segmentación semiautomática de la sustancia nigra del lado contralateral al clínicamente más afectado (SN_CONTRA).	109
5.2. Diagrama caja-bigotes del volumen de los hiperintensos de la sustancia nigra del lado izquierdo (HSN_I) y del lado contralateral al clínicamente más afectado (HSN_CONTRA).	111
5.3. Diagrama caja-bigotes del CNR de la sustancia nigra del lado contralateral al clínicamente más afectado (CNR_CONTRA).	113
5.4. Diagrama caja-bigotes de la volumetría de la segmentación automática con el modelo PC2 SAS de la sustancia nigra del lado contralateral al clínicamente más afectado (CNR_CONTRA).	114
5.5. Diagrama caja-bigotes del volumen de los hiperintensos de la sustancia nigra del lado contralateral al clínicamente más afectado (HSN_CONTRA) del modelo PC1 VOL (izquierda) y PC2 VOL (derecha).	117
5.6. Diagrama caja-bigotes del CNR de la sustancia nigra del lado contralateral al clínicamente más afectado (CNR_CONTRA) con el modelo de segmentación automática PC2 VOL.	118

6.1. Cada paciente gasta de media más 23.000 euros al año. Las enfermedades neurodegenerativas suponen un coste total de 32.372 millones de euros anuales en España [25].	128
B.1. De izquierda a derecha: contraste bilateral y contrastes unilaterales [64].	144
B.2. Representación del nivel mínimo de significación o p-valor [64].	144
B.3. Curvas de distribución de sujetos enfermos y sanos y curvas ROC. Discriminación perfecta (A), ninguna discriminación (B), ejemplo de discriminación intermedia (C).	147
B.4. Diagrama de caja bigotes [48].	149
B.5. Validación cruzada dejando uno fuera. Imagen modificada de [53].	150
C.1. Modelo de los seis estadios de Braak [24].	154
D.1. Planos anatómicos situados en el cerebro humano. Imagen modificada de [40].	157
D.2. Términos direccionales en anatomía. Imagen modificada de [54].	158

Índice de tablas

3.1.	Datos demográficos de los sujetos utilizados en el proyecto.	28
3.2.	Resumen de los datos demográficos.	29
3.3.	Número de pacientes con la enfermedad en función del <i>onset side</i> . . .	30
3.4.	Datos estadísticos para los sujetos cuando la variable de estudio es continua.	30
3.5.	Datos estadísticos para los sujetos cuando la variable de estudio es discreta.	30
5.1.	Coefficientes DICE promedio entre las ROIs y las segmentaciones de este trabajo y el estudio previo.	107
5.2.	Valores promedio del volumen de la segmentación semiautomática de la SN de los sujetos control (HC) y de los pacientes con la enfermedad de Parkinson <i>de novo</i> (EP) en mm ³	108
5.3.	Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	108
5.4.	Valores promedio del volumen de los vóxeles más hiperintensos de la segmentación semiautomática de la SN de los sujetos control (HC) y de los pacientes con la enfermedad de Parkinson <i>de novo</i> (EP) en mm ³	110
5.5.	Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos de la SN. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	110
5.6.	Valores promedio del CNR de la segmentación semiautomática de la SN de los sujetos control (HC) y de los pacientes con la enfermedad de Parkinson <i>de novo</i> (EP).	112
5.7.	Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO del CNR de las segmentaciones de la SN. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	112
5.8.	Resumen de los resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO sobre la volumetría de la SN del lado contralateral al clínicamente más afectado. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	114
5.9.	Valor promedio de los coeficientes DICE entre la segmentación semiautomática y las diferentes segmentaciones automáticas.	115
5.10.	Valores del multiplicador de la desviación estándar (β) y el volumen que se obtiene con dicho umbral para los sujetos control (HC).	115

5.11. Tabla resumen de los resultados de la volumetría de los hiperintensos del lado contralateral al clínicamente más afectado como biomarcador de la enfermedad.	116
5.12. Valores estadísticos para los modelos con mejores resultados.	117
5.13. Tabla resumen de los resultados del CNR del lado contralateral al clínicamente más afectado de la SN como biomarcador de la enfermedad.	118
5.14. Valores promedio del volumen sin normalizar del locus coeruleus segmentado con la metodología de Chen et al. de los sujetos control (HC) y de los pacientes con la enfermedad de Parkinson <i>de novo</i> (EP) en mm ³	119
5.15. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO del volumen de las segmentaciones del LC con la primera metodología. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	120
5.16. Valores promedio del volumen sin normalizar del locus coeruleus segmentado con la metodología de Tona et al. de los sujetos control (HC) y de los pacientes con la enfermedad de Parkinson <i>de novo</i> (EP) en mm ³	120
5.17. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO del volumen de las segmentaciones del LC con la segunda metodología. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	121
5.18. Valores promedio del CNR de la segmentación semiautomática del LC basada en la primera metodología de los sujetos control (HC) y de los pacientes con la enfermedad de Parkinson <i>de novo</i> (EP).	121
5.19. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO del CNR de las segmentaciones del LC con la primera metodología. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	122
5.20. Valores promedio del CNR de la segmentación semiautomática del LC basada en la segunda metodología de los sujetos control (HC) y de los pacientes con la enfermedad de Parkinson <i>de novo</i> (EP).	122
5.21. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO del CNR de las segmentaciones del LC con la segunda metodología. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	122
A.1. Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC1 SAS para su segmentación.	131
A.2. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC1 SAS. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	131
A.3. Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC1 VOL para su segmentación.	132

A.4. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC1 VOL. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	132
A.5. Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC2 SAS para su segmentación.	132
A.6. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC2 SAS. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	132
A.7. Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC2 VOL para su segmentación.	132
A.8. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC2 VOL. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	133
A.9. Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC3 para su segmentación.	133
A.10. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC3. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	133
A.11. Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC4 para su segmentación.	133
A.12. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC4. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	133
A.13. Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC5 para su segmentación.	133
A.14. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC5. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	134
A.15. Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC6 para su segmentación.	134
A.16. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC6. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	134
A.17. Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC7 para su segmentación.	134
A.18. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC7. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	134
A.19. Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC1 SAS para su segmentación.	135

A.20. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC1 SAS. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	135
A.21. Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC1 VOL para su segmentación.	135
A.22. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC1 VOL. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	135
A.23. Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC2 SAS para su segmentación.	135
A.24. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC2 SAS. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	136
A.25. Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC2 VOL para su segmentación.	136
A.26. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC2 VOL. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	136
A.27. Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC3 para su segmentación.	136
A.28. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC3. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	136
A.29. Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC4 para su segmentación.	137
A.30. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC4. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	137
A.31. Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC5 para su segmentación.	137
A.32. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC5. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	137
A.33. Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC6 para su segmentación.	137
A.34. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC6. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	138
A.35. Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC7 para su segmentación.	138

A.36. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC7. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*. 138

A.37. Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC1 SAS para su segmentación. 138

A.38. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC1 SAS. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*. 138

A.39. Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC1 VOL para su segmentación. 139

A.40. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC1 VOL. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*. 139

A.41. Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC2 SAS para su segmentación. 139

A.42. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC2 SAS. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*. 139

A.43. Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC2 VOL para su segmentación. 139

A.44. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC2 VOL. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*. 140

A.45. Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC3 para su segmentación. 140

A.46. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC3. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*. 140

A.47. Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC4 para su segmentación. 140

A.48. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC4. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*. 140

A.49. Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC5 para su segmentación. 141

A.50. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC5. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*. 141

A.51. Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC6 para su segmentación. 141

A.52. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC6. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	141
A.53. Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC7 para su segmentación.	141
A.54. Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC7. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP <i>de novo</i>	142
B.1. Cuatro casos posibles de resultados en el contraste de hipótesis. . . .	144
B.2. Relación entre el resultado de una prueba diagnóstica y la presencia o ausencia de una enfermedad.	145

Capítulo 1

Introducción

1.1. La Enfermedad de Parkinson.

La enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno neurodegenerativo que afecta al sistema nervioso de manera crónica y progresiva. Esto significa que persiste durante un extenso período de tiempo y que sus síntomas empeoran con el tiempo. Es la segunda enfermedad más prevalente en la actualidad después del Alzheimer y pertenece a los llamados Trastornos del Movimiento [59].

Se conoce comúnmente como enfermedad de Parkinson en referencia a James Parkinson, el doctor que la describió por primera vez en 1817 en su monografía *Un ensayo sobre la parálisis agitante* (An essay on the shaking palsy). Parkinson la describía como una condición que, al determinar una progresiva ralentización motora, forzaba a los pacientes a la parálisis (*palsy*) y se caracterizaba también por su temblor (*shaking*) en reposo.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la enfermedad de Parkinson afecta a 1 de cada 100 personas mayores de 60 años. Actualmente, hay unos 7 millones de personas con esta enfermedad en el mundo y la OMS prevé que para el 2030 llegarán a ser más de 12 millones. Por otra parte, datos de la Sociedad Española de Neurología (SEN) indican que en España afecta a unas 120.000-150.000 personas y que cada año se diagnostican unos 10.000 nuevos casos de la enfermedad de Parkinson. No obstante, los pacientes con Parkinson tardan una media de entre 1 y 3 años en obtener un diagnóstico y se cree que hasta un 25% de los pacientes diagnosticados tienen en realidad otra enfermedad.

En España, la prevalencia del Parkinson se ha incrementado considerablemente en las últimas décadas, fundamentalmente por el aumento de la esperanza de vida y los avances diagnósticos. Por esta razón la SEN estima que el número de afectados se duplicará en 20 años y se triplicará en 2050 [20].

La EP se caracteriza por la pérdida o degeneración de neuronas en la sustancia nigra (SN), una estructura situada en la parte media del cerebro. Esta pérdida provoca una falta de dopamina en el organismo, una sustancia que transmite información necesaria para realizar movimientos con normalidad.

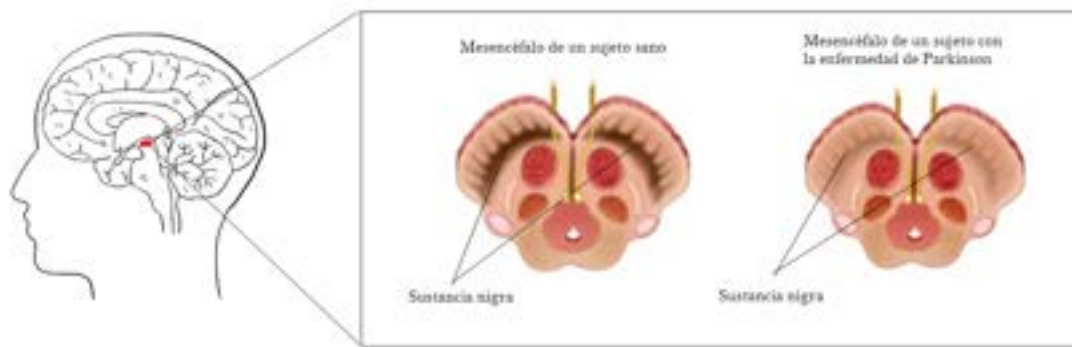


Figura 1.1: Ilustración de la parte media del cerebro donde se localiza la SN que contiene neuronas dopaminérgicas. Imagen modificada de [47].

La dopamina es un neurotransmisor producido por las neuronas dopaminérgicas, que son menos del 0.3 % de las células nerviosas. Su función principal es transmitir información en forma de señales eléctricas entre una neurona y otra. Este proceso de comunicación entre neuronas se conoce con el nombre de sinapsis.

La dopamina regula varias funciones en el cerebro como el comportamiento, la memoria, el aprendizaje, la sensación de recompensa y la actividad motora, entre otras funciones.

Las neuronas dopaminérgicas abundan en la vía nigroestriada que está constituida por un grupo de neuronas que comunican la sustancia nigra del mesencéfalo con el cuerpo estriado. En la enfermedad de Parkinson, gran cantidad de estas neuronas se pierde haciendo que los niveles de dopamina sean menores. Esta disminución de los niveles de dopamina es la que produce los desórdenes en el movimiento característicos de la enfermedad, como el temblor en reposo o la rigidez.

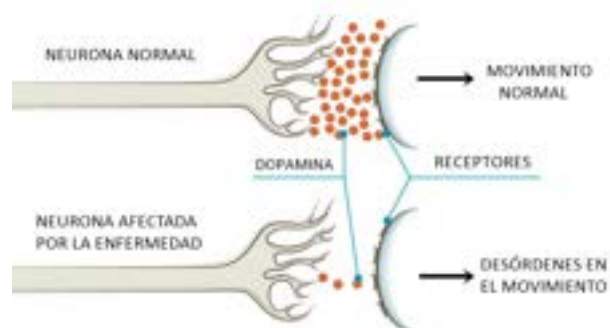


Figura 1.2: Ilustración de los diferentes niveles de conducción de dopamina en un sujeto sano y en un sujeto con la enfermedad de Parkinson. Imagen modificada de [46].

La enfermedad de Parkinson se produce debido a un proceso neurodegenerativo multisistémico que afecta al sistema nervioso central, lo que provoca la aparición de síntomas motores y no motores.

- **Síntomas no motores.** Aparecen en una fase temprana de la enfermedad pero no se utilizan para el diagnóstico clínico. Algunos de estos síntomas son la depresión, el estreñimiento, la alteración del olfato o el trastorno de conducta del sueño (REM).
- **Síntomas motores.** Aparecen cuando se ha perdido alrededor de un 60 % de las neuronas dopaminérgicas de la SNc [10]. A diferencia de los síntomas no motores, sí son utilizados para el diagnóstico clínico.

La enfermedad de Parkinson no afecta de la misma manera a todos los individuos que la padecen. Los síntomas pueden diferir de unas personas a otras y la manera en que evolucionan también. Por lo general, los síntomas comienzan en un lado del cuerpo y frecuentemente suelen empeorar en mayor medida en ese lado, incluso cuando comienzan a afectar en ambos lados. Los síntomas motores que destacan por caracterizar esta enfermedad son principalmente [28]:

- **Temblor.** Este es el síntoma más característico de la enfermedad y aparece generalmente cuando los músculos están relajados o en reposo. Un temblor generalmente comienza en una extremidad como la mano o los dedos, aunque a veces afecta primero a un pie o a la mandíbula. El temblor toma la forma de un movimiento rítmico hacia adelante y hacia atrás de unos 4 o 6 Hz. El dedo pulgar y el índice pueden verse involucrados y parecer un temblor de *rodamiento de píldora*.
- **Rigidez muscular.** La rigidez o resistencia al movimiento afecta a la mayoría de las personas que padecen la enfermedad. Los músculos permanecen tensos y contraídos y la provocan dolor a la vez que limitan la posibilidad de realizar movimientos.
- **Bradicinesia.** La bradicinesia es la disminución y lentificación de los movimientos, especialmente de los que son voluntarios. Puede observarse también que los enfermos caminan con pasos lentos y en ocasiones, arrastrando los pies. Este síntoma dificulta a las personas a realizar las tareas cotidianas con normalidad.
- **Inestabilidad postural.** La inestabilidad postural o deterioro del equilibrio hace que las personas afectadas se caigan fácilmente.

Además de estos cuatro síntomas principales, también son habituales otros como:

- *Pérdida de los movimientos automáticos.* Esta pérdida se ve reflejada en movimientos inconscientes como parpadear, sonreír o balancear los brazos mientras se camina.
- *Cambios en el habla.* La persona puede ver alterado el habla ya que la voz suele ser de un volumen más bajo y con una menor intensidad. Además, el ritmo al hablar puede ir variando.

- *Cambios en la escritura.* A la persona que padece la enfermedad puede resultarle más difícil escribir y la letra puede hacerse más pequeña.

Las causas de la enfermedad de Parkinson son aún desconocidas aunque diversos estudios apuntan a que son una combinación de factores de riesgo no modificables como el envejecimiento, el sexo o factores genéticos, junto con factores de riesgo modificables [16].

Factores de riesgo no modificables en la EP

- **Envejecimiento.** Se trata del factor no modificable más determinante para padecer la enfermedad ya que el propio paso del tiempo en una persona hace que se produzca una depleción de dopamina y por tanto, una pérdida de la funcionalidad del sistema.
- **Sexo.** En la mayoría de los estudios, tanto la prevalencia como la incidencia de la enfermedad son mayores en los hombres.
- **Genética.** En los últimos años el papel de la genética ha sido objeto de numerosos estudios. En algunos casos puede ser debido a mutaciones de proteínas unidad a la síntesis o destrucción de la alfa-sinucleína. Las mutaciones de este tipo, que producen formas de Parkinson monogénico (mutación de un único gen), se caracterizan por el desarrollo de la enfermedad en fase precoz, generalmente antes de los cuarenta y cinco años [21]. Aunque cabe destacar que las formas familiares representan alrededor del 5 % de los casos de la enfermedad.
- **Temblor esencial.** En algunos estudios se ha descrito una mayor incidencia de la enfermedad de Parkinson en el seguimiento de los pacientes con temblor esencial.

Factores de riesgo modificables en la EP

- **Factores ambientales.** Las causas ambientales que pueden asociarse al desarrollo de la patología son la exposición a toxinas como los pesticidas, los metales y los productos químicos [21].
- **Traumatismo craneoencefálico (TCE).** Los TCE, como observó James Parkinson, podrían ser una de las causas del parkinsonismo y además pueden llegar a empeorar la gravedad de la enfermedad en pacientes ya diagnosticados [56].

El objetivo del tratamiento de esta enfermedad es reducir la velocidad de progresión de la misma, controlar los síntomas y los efectos secundarios de los fármacos que se usan para combatirla. Hay diferentes tipos de tratamientos, como los farmacológicos, los quirúrgicos o los tratamientos no quirúrgicos.

Tratamiento farmacológico.

Las personas que padecen la enfermedad de Parkinson tienen concentraciones bajas de dopamina en el cerebro. Sin embargo, la dopamina no se administra directamente ya que no puede pasar la barrera entre la sangre y el cerebro. Por este motivo se ha desarrollado una serie de fármacos que favorecen la producción de esta sustancia o retrasan su deterioro y que se administran en función de la gravedad de los síntomas.

En las primeras etapas, cuando los síntomas son leves, se utilizan los fármacos menos potentes, como los anticolinérgicos, mientras que para los casos severos y avanzados se utiliza la levodopa, el fármaco más potente hasta el momento para el tratamiento de esta enfermedad.

Tratamiento quirúrgico.

La cirugía pretende actuar sobre la parte dañada del cerebro. Solo está indicada en un 5% de los pacientes y es efectiva si estos pacientes están bien seleccionados. Los criterios de inclusión para la intervención quirúrgica contemplan una incapacidad funcional muy grave, ausencia de demencia, edad inferior a 70 años y diagnóstico confirmado.

Algunos de los tratamientos quirúrgicos son la realización de una pequeña lesión en el globo pálido (palidotomía) o núcleo subtalámico (subtalamotomía) o la implantación de electrodos para la estimulación de estos mismos núcleos.

Otro tipo de intervención quirúrgica en la que se realiza una pequeña lesión en el cerebro aunque sin trépano es la subtalamotomía, también conocida como la aplicación de ultrasonido focal de alta intensidad o HIFU. En esta intervención se practica una termolesión controlada en la zona motora del núcleo subtalámico. Esto supone un gran avance ya que permite erradicar la actividad cerebral anormal que origina los síntomas y tratar otros procesos neurológicos sin necesidad de cirugía con trépano.

En España este tratamiento puede realizarse en el Centro Integral de Neurociencias del Hospital Puerta del Sur. Neurólogos de este centro señalan que su indicación no está todavía claramente definida. Aún así, cualquier paciente con clínica motora evidentemente asimétrica que no se controla bien con medicación es candidato al HIFU. Y es que, este tratamiento actualmente, solo se aplica unilateralmente.

En la subtalamotomía con HIFU se requiere que el paciente deje de tomar su medicación al menos 12 horas antes. En el procedimiento se precisa de estar 4 horas inmovilizado y con la cabeza fija en una especie de casco que es el transductor de ultrasonido. Durante las dos primeras horas el paciente se encuentra medio sedado y en el resto de la intervención permanece despierto y colaborador.

1.2. El papel de la neuroimagen en la Enfermedad de Parkinson.

La enfermedad de Parkinson (EP), como ocurre con todas las enfermedades neurodegenerativas, no comienza de repente. Esto implica que la enfermedad progresa a través de fases tempranas, en las cuales la neurodegeneración ha comenzado pero no se ha desarrollado lo suficiente como para manifestarse clínicamente y poder facilitar su diagnóstico [62].

En la mayoría de los casos en los que se diagnostica a un paciente con la EP y que, por tanto, presenta síntomas motores, aproximadamente se han perdido el 60 % de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra. Por este motivo, la identificación de los pacientes con la enfermedad de Parkinson en la etapa preclínica es fundamental a la hora de revelar los mecanismos fisiopatológicos de la EP y, en consecuencia, desarrollar estrategias para retrasar el inicio de la enfermedad [10].

En las últimas décadas, se han desarrollado diversos estudios que buscan biomarcadores para el estudio de los pacientes con enfermedad de Parkinson mediante la neuroimagen. Un biomarcador se define como una característica que se puede medir y evaluar objetivamente como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas farmacológicas a intervenciones terapéuticas. Los biomarcadores sirven para confirmar diagnósticos, pruebas predictivas, monitorización de la progresión de la enfermedad una vez diagnosticada e incluso para observar las respuestas a los tratamientos. Existen diferentes tipos de biomarcadores como los clínicos, los de neuroimagen, bioquímicos, genéticos o proteómicos [7]. El presente estudio se centra en la búsqueda de biomarcadores mediante neuroimagen.

Las técnicas de neuroimagen funcional y estructural permiten observar en vivo imágenes del sistema nervioso central y del cerebro. Los objetivos principales del uso de estas técnicas son [11]:

- El diagnóstico pre-sintomático o prodrómico en las personas con riesgo de padecer EP.
- Mejorar el diagnóstico diferencial entre EP y otros cuadros clínicos de parkinsonismos.
- Uso como biomarcador de la progresión de la enfermedad.
- Predecir la aparición de complicaciones motoras y no motoras.

Algunas de las técnicas más utilizadas son la tomografía por emisión de positrones (PET), tomografía por emisión de fotón único (SPECT), tomografía axial computerizada (TAC) y la resonancia magnética (RM)[18].

Imágenes moleculares (PET y SPECT)

Las imágenes moleculares mediante PET y SPECT, son una herramienta poderosa para detectar cambios cerebrales *in vivo* ya que proporcionan información estructural y cinética sobre la molécula analizada. La imagen molecular destaca principalmente por su capacidad para detectar los cambios celulares que ocurren en estadios tempranos de la enfermedad, a menudo, mucho antes de que en las imágenes de TAC o RM puedan verse cambios estructurales.

Los escaneos de PET o SPECT de dopamina permiten la evaluación directa de la actividad de las neuronas productoras de dopamina en el cerebro y, por lo tanto, ayudan al médico a realizar el diagnóstico diferencial entre la enfermedad de Parkinson (donde existe una disminución de las células productoras de dopamina en el cerebro) y el temblor esencial (donde estos escaneos son normales) [65].

La tomografía por emisión de positrones (PET) es una técnica no invasiva de diagnóstico capaz de medir la actividad metabólica del cuerpo humano. El procedimiento consiste en administrar en el cuerpo por inyección intravenosa un radiofármaco de vida media ultracorta [44]. El radiofármaco inyectado hace que el paciente emita fotones que podrán medirse con un tomógrafo.

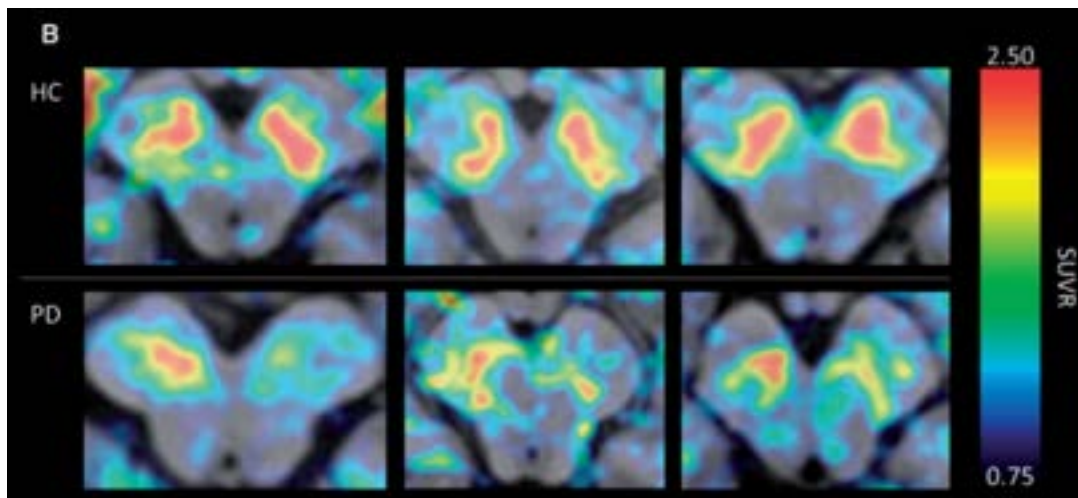


Figura 1.3: Ilustración de imágenes PET de la sustancia nigra. En la fila superior se muestran sujetos control (HC) y en la fila inferior sujetos con EP (PD). La escala de color muestra la relación de valor de captación estandarizada (SUVR) con el cerebelo como referencia [9].

La tomografía computerizada por emisión de fotón único (SPECT) utiliza rayos gamma que producen isótopos radioactivos.

Las técnicas de PET y SPECT permiten estudiar los procesos neurobiológicos *in vivo*, pero existen algunas diferencias como:

- La sensibilidad que es la capacidad para detectar y registrar un porcentaje de eventos emitidos. El PET presenta una sensibilidad de 2 a 3 órdenes de magnitud sobre el SPECT.

- La resolución temporal y espacial del PET mejor siendo de 5mm frente a los 10mm en el SPECT.
- El SPECT es una técnica que se caracteriza por tener un menor costo y una mayor disponibilidad.

Imagen dopaminérgica

El diagnóstico diferencial asociado a la alteración del funcionamiento dopaminérgico puede ser un desafío especialmente en las primeras etapas de la enfermedad [35]. El transportador de dopamina (DAT) es una proteína dependiente de sodio localizada en la superficie presináptica de las neuronas dopaminérgicas. Es responsable de la recaptación de la dopamina de la sinápsis, que es un mecanismo de comunicación que se produce entre dos o más neuronas con el objetivo de poder transmitir un impulso nervioso y coordinar una función en el organismo.

Se ha demostrado que el DAT está presente únicamente en neuronas que sintetizan dopamina y por este motivo se considera como un biomarcador en las neuronas de la SN. Se han desarrollado radioligandos derivados del tropano y análogos a la cocaína para medir *in vivo* la densidad de DAT mediante PET y SPECT [11].

El DAT-SPECT tiene una alta sensibilidad (87-98 %) y especificidad (80-100 %) para diferenciar pacientes con síndromes parkinsonianos (EP, AMS (Atrofia multisistémica.), PSP (Parálisis supranuclear progresiva)) de pacientes con temblor esencial o sujetos sanos [35].

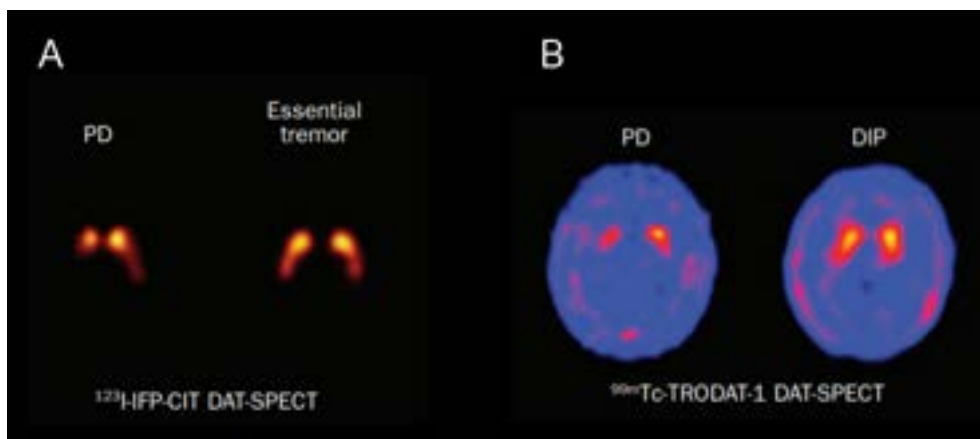


Figura 1.4: Imágenes para el diagnóstico diferencial. (A) Diferenciación EP y temblor esencial por la medición de la actividad DAT a través de SPECT. (B) Las imágenes DAT-SPECT pueden utilizarse para diferenciar PD del parkinsonismo inducido por medicamentos (DIP)[35].

Imagen de resonancia magnética (MRI)

La resonancia magnética (RM) es una técnica no invasiva que se basa en las propiedades magnéticas de los átomos. Los tejidos corporales están compuestos principalmente de agua, que contienen protones de átomos de hidrógeno. La máquina de resonancia magnética está formada por grandes imanes que crean un campo magnético que obliga a los protones de los tejidos a realinearse. Cuando se pulsa una corriente de radiofrecuencia, los protones son estimulados y giran fuera de equilibrio. Cuando se apaga el campo de radiofrecuencia, la máquina de RM es capaz de detectar la energía liberada. Esta energía es diferente según el entorno y la naturaleza química de las moléculas [27]. A la combinación de pulsos de radiofrecuencia que se aplica para modificar el vector representativo del cuerpo se le denomina secuencia.

En general, las imágenes ponderadas en T1 proporcionan detalles anatómicos, mientras que las imágenes en T2 demuestran mejor las características del tejido [39].

Los parámetros físicos de cada secuencia deben ser ajustados para acentuar la diferenciación entre distintos tejidos, a lo que se denomina potenciación o ponderación, como por ejemplo, T1, T2 o densidad protónica (DP) que aparecen en la figura 1.5 .

Las secuencias más habituales se encuadran en varios grupos:

- Espín-eco (SE): son las secuencias con las que generalmente se logra mejor resolución espacial en estudios morfológicos
- Gradiente-eco (GRE): Se trata de secuencias de menos resolución que la SE, pero de mucha mayor rapidez.
- Inversión recuperación (IR): son secuencias que aplican pulsos con parámetros ajustados para que se anule de manera selectiva algún tipo de tejido.

Cada secuencia presenta ventajas e inconvenientes, siendo preciso emplear en cada estudio las que mejor permitan valorar la patología sospechada o presente en el paciente [18].

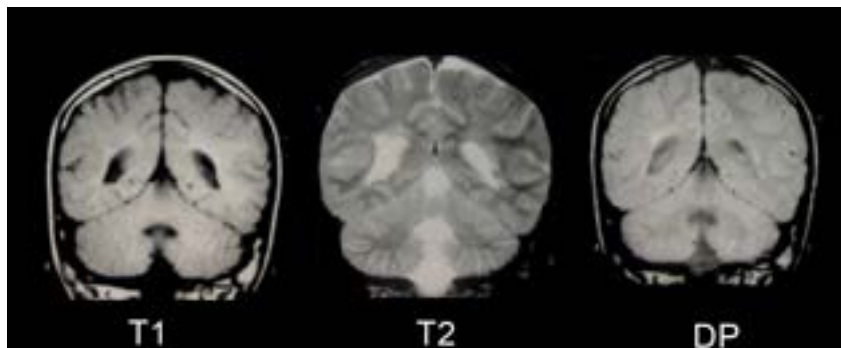


Figura 1.5: Imágenes de resonancia magnética T1, T2 y densidad protónica [52].

Según si la secuencia es T1 o T2 las señales de los tejidos y órganos se verán de un color u otro en función del tiempo de transmisión de energía :

Secuencia T1

- Blanco: grasa, hemorragia subaguda, contraste magnético y sustancia blanca.
- Gris: sustancia gris, hígado, bazo, páncreas, riñón, músculos y lesiones con agua.
- Negro: líquido cefalorraquídeo, orina, quistes, tendones, vasos y aire.

Secuencia T2

- Blanco: líquido cefalorraquídeo, orina, quistes, tumores, riñón, bazo y agua libre.
- Gris: sustancia gris y grasa.
- Negro: sustancia blanca, páncreas, hígado, músculo, hueso cortical, tendones, aire y vasos.

Una limitación del uso de la RM en el estudio de la enfermedad de Parkinson es la falta de adecuado contraste para identificar las estructuras afectadas por la EP. En especial, las secuencias convencionales en equipos de 1.5T ponderadas en T1 y T2 muestran una estructura normal de la SN *pars compacta* en la EP y no se han podido detectar cambios correspondientes a la patología.

Recientemente, el uso de una nueva técnica de **MRI ponderada en T1 sensible a neuromelanina (TI NM)** en equipos de 3T ha permitido visualizar el contenido de neuromelanina en estructuras como la SNc y el LC como áreas de alta intensidad gracias a los efectos de acortamiento de la neuromelanina en T1 [29].

Se ha demostrado que en pacientes con la EP se produce una atenuación de la señal de intensidad en la SNc y el LC comparado con la señal en los sujetos sanos. Esto sugiere la pérdida de neuronas que contienen neuromelanina que puede observarse en la figura 1.6.

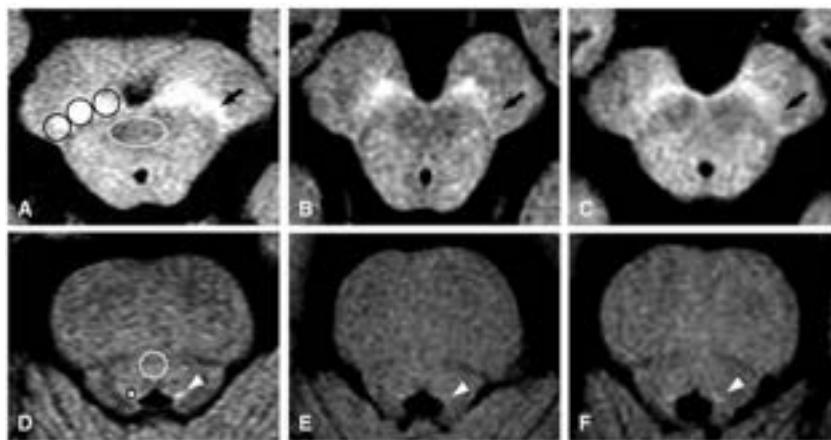


Figura 1.6: Imágenes de resonancia magnética sensibles a neuromelanina de la SNc (A-C) y del LC (D-F). A y D: sujeto control. B y E: sujeto en etapa temprana de la EP. C y F: sujeto en etapa avanzada de la EP [29].

1.3. Objetivos

Los objetivos principales de este proyecto fin de grado sobre la enfermedad de Parkinson son los siguientes:

- Segmentación de las principales estructuras que degeneran con el enfermedad de Parkinson: la sustancia nigra y el locus coeruleus.
- Búsqueda de biomarcadores que permitan discriminar los sujetos control de los pacientes con la enfermedad de Parkinson *de novo*, es decir, en etapas muy tempranas de la enfermedad. Los biomarcadores estarán basados en las segmentaciones obtenidas de la sustancia nigra y del locus coeruleus.
- Realizar un estudio sobre la calidad de los biomarcadores en la sustancia nigra comparando los que se buscan sobre segmentaciones semiautomáticas y los que se realizan sobre segmentaciones automáticas.
- Realizar un estudio sobre la importancia que tiene la localización de la ROI de los pedúnculos cerebrales a la hora de llevar a cabo la segmentación de la sustancia nigra. Esto se llevará a cabo sobre las segmentaciones automáticas.
- Realizar un estudio sobre la calidad de los biomarcadores obtenidos con la segmentación semiautomática del locus coeruleus.

1.4. Estructura del documento

A continuación y para facilitar la lectura del documento, se detalla el contenido de cada capítulo.

- En el capítulo 1 se realiza una introducción a la enfermedad de Parkinson. En esta sección se presentan las principales características de la enfermedad así como los factores de riesgo o los tratamientos que existen. Por otra parte, se explica el papel de la neuroimagen en la enfermedad de Parkinson y la importancia de obtener biomarcadores en etapas tempranas de la enfermedad de .
- En el capítulo 2 se hace un repaso de los artículos publicados en los últimos año sobre la enfermedad de Parkinson y las imágenes de resonancia magnética. Estos artículos son la base para crear las metodologías de segmentación. También, son útiles para comparar los resultados sobre la calidad de diagnóstico de los biomarcadores obtenidos. No obstante, cabe destacar que estos artículos no son los únicos que han sido utilizados para la elaboración del proyecto, pero sí son los que están más estrechamente relacionados con los temas tratados en el presente estudio.
- En el capítulo 3 se recogen los datos más importantes de los sujetos que son la muestra de estudio del proyecto. Además, se hace un pequeño estudio sobre la paridad en edad y sexo de los datos demográficos entre los pacientes y los sujetos sanos. Por último, se realiza una breve descripción sobre las herramientas de software utilizadas en el presente estudio.
- En el capítulo 4 se explican los métodos utilizados para obtener la segmentación de la sustancia nigra y del locus coeruleus. Una vez obtenidas las segmentaciones, se detalla el procedimiento para obtener los biomarcadores en las regiones segmentadas.
- En el capítulo 5 se muestran los resultados obtenidos de los métodos del capítulo 4. La robustez de los biomarcadores se evalúa mediante los análisis de la varianza (ANOVA) y de validación cruzada dejando uno fuera (LOO). Además, se realiza un estudio de las características operativas del receptor (ROC) para evaluar la calidad de diagnóstico mediante el área bajo la curva (AUC)
- En el capítulo 6 se lleva a cabo una discusión de los resultado obtenidos en el capítulo anterior. Así como la exposición de las conclusiones y los posibles desarrollos futuros.

Capítulo 2

Estado del arte

2.1. *Ogisu et al. 2013*

3D neuromelanin-sensitive magnetic resonance imaging with semi-automated volume measurement of the substantia nigra pars compacta for diagnosis of Parkinson's disease.

La enfermedad del Párkinson (EP) es un trastorno crónico progresivo de la función motora que conlleva una pérdida de las células productoras de dopamina en la sustancia negra pars compacta (SNc). Las células que producen dopamina contienen un pigmento negro conocido como neuromelanina, que combinado con hierro actúa como un agente paramagnético. Como resultado, las imágenes de resonancia magnética (MRI) ponderadas en T1 son capaces de representar tejido que contiene neuromelanina en experimentos *in vivo*, relacionando la señal de intensidad con la concentración de neuromelanina.

Hoy en día, el diagnóstico de la EP se realiza sobre una base clínica como el UK Parkinson's Disease Society Brain Bank, y el papel de la neuroimagen queda limitado a la exclusión de otros tipos de trastornos cerebrales.

Las imágenes de MRI sensibles a la neuromelanina pueden ser usadas como un método directo para medir el volumen o concentración de neuromelanina en la SNc y por tanto ser capaz de distinguir entre pacientes con EP de paciente control.

Varios estudios anteriores utilizan imágenes de MRI sensibles a neuromelanina para investigar la SNc. Sin embargo, la mayoría de ellos utiliza una secuencia de *fast spin echo* (FSE) bidimensional (2D), que proporciona mediciones subjetivas de la señal o del volumen utilizando las regiones de interés (ROIs) definidas por el usuario. Esto es debido a que probablemente unas medidas objetivas o automatizadas utilizando la secuencia FSE 2D resulta difícil, ya que la intensidad de la señal obtenida de FSE 2D no es homogénea.

Se plantea una hipótesis que expone que la adquisición tridimensional (3D) usando la secuencia de eco de campo podría ser adecuada para las imágenes MRI sensibles a neuromelanina y conseguir una señal más homogénea y unas mediciones del volumen objetivas.

Por lo tanto, el objetivo principal consiste en investigar el rendimiento de las medidas semi-automáticas del volumen de la SNc con MRI sensible a neuromelanina tomadas en 3D para la discriminación de pacientes con EP y voluntarios sanos.

2.1.1. Resultados.

Las imágenes de neuromelanina a la altura del mesencéfalo muestran áreas de alta intensidad en ambos hemisferios que reflejan la SNc. El volumen de interés (VOI) es mayor cuanto menor es el umbral y se hace menor cuanto más alto es el umbral. Cuando el umbral es aproximadamente 2.0, el VOI se corresponde bien con la señal de alta intensidad en la SNc, tanto para los pacientes con EP como para los sujetos control.

La media del volumen de la SNc para el grupo de EP fue menor que para el grupo control para todos los umbrales. Cuando el umbral es mayor que 2.1, el volumen de la SNc de más de un paciente resultaba ser cero. Por lo tanto, el límite superior del umbral para análisis posteriores se establece en 2.1.

La diferencia en la media del volumen de la SNc entre EP y sujetos control es significativa para todos los umbrales ($P < 0.01$, Student's t test). Cuando el umbral es superior a 1.8, el P valor es menor de 0.001.

El área bajo la curva (Az) incrementa gradualmente en concordancia con el incremento del umbral:

- Cuando el umbral es mayor de 2.0, se consigue el máximo valor del Az (0.88) y la sensibilidad y especificidad bien equilibrados (0.83 y 0.85, respectivamente).
- Para los umbrales más bajos, la sensibilidad tiende a ser más alta pero la especificidad se vuelve menor.
- La mayor sensibilidad (1.00) se alcanza para un umbral de 1.74, 1.76 y 1.96, mientras que la especificidad se va disminuyendo (0.41, 0.41 y 0.63, respectivamente) para esos umbrales.
- La mayor especificidad (0.89) se observa cuando el umbral es de 1.66, sin embargo, la sensibilidad para este umbral es de 0.56.

La figura 2.1 muestra la distribución del volumen de la SNc para un umbral de 2.0. Aunque existe superposición entre el grupo EP y el grupo de los controles, la sensibilidad y especificidad es de 0.83 y 0.82, respectivamente. Para un umbral de 2.0, el valor de corte del volumen es de 285 mm^3 .

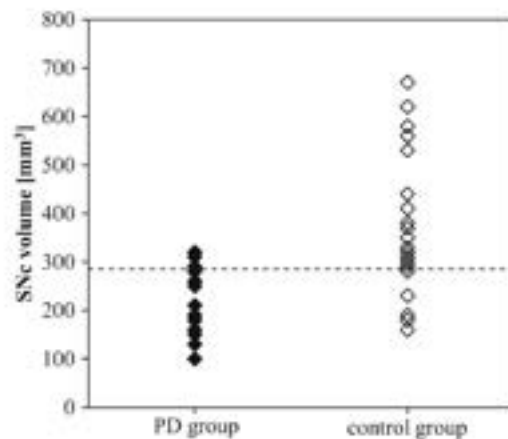


Figura 2.1: Distribución del volumen de la SNc. Los diamantes de color negro representan la SNc de los sujetos con EP, y los diamantes de color blanco los sujetos control para un umbral de 2.0. La línea punteada representa el valor de corte (285mm^3) determinado por el análisis ROC. Hay solapamiento entre los dos grupos; sin embargo, la sensibilidad y la especificidad son de 0.83 y 0.82, respectivamente.

En la evaluación separada del análisis de ROC entre las etapas iniciales y avanzadas de los pacientes con EP en el umbral 2.0, la sensibilidad, la especificidad y el Az de la etapa inicial fueron 0.89, 0.85, 0.90, respectivamente, mientras que las de la etapa avanzada fueron más pequeñas 0.78, 0.63, 0.86, respectivamente.

2.1.2. Discusión.

La degeneración de las neuronas dopaminérgicas ocurre en la sustancia nigra tanto de los pacientes con EP como en los sujetos sanos. Sin embargo, la degeneración neuronal se ha comprobado en estudios anteriores que es más rápida en los pacientes con la EP. Por lo tanto, la medida volumétrica de la SNc puede distinguir los pacientes con EP de los sujetos sanos.

En [12] (Kashihara et al.) se expone que la medida del volumen de la SNc en sujetos control es de 128.4mm^3 y de 96.9mm^3 para los pacientes con EP. Estos valores son mucho menores que los del presente estudio, incluso con umbrales más altos. En concreto, el volumen de la SNc para pacientes con la EP y con un umbral de 2.0 es de 215.0 y de 370.3mm^3 para los sujetos control.

En el estudio [19] (Menke et al.) se reporta que el volumen de la SNc para pacientes con la EP es de 853mm^3 y de 1006mm^3 para los sujetos control. Estos valores son mucho mayores que los obtenidos en este estudio para un umbral de 2.0; sin embargo, no difieren tanto si el umbral es de 1.78 donde los volúmenes obtenidos son de 887.2mm^3 para los sujetos con EP y de 1103.7mm^3 para los sujetos control.

En investigaciones histopatológicas, la media de la pérdida celular de la SNc al inicio de los síntomas de la enfermedad es de un 48%. El volumen de la pérdida neuronal en este proyecto es de un 18%, lo que es bastante menor.

2.2. *Chen et al. 2014*

Simultaneous imaging of locus coeruleus and substantia nigra with a quantitative neuromelanin MRI approach.

El locus coeruleus (LC) y la sustancia nigra (SN) son estructuras que contienen neuromelanina del tronco cerebral. Estas estructuras degeneran en una serie de afecciones neurológicas como la enfermedad de Parkinson (EP) o la enfermedad de Alzheimer (EA).

En concreto para la EP, la pérdida de neuromelanina (NM) contenida en las neuronas ocurre tanto en la SN como en el LC. Estudios neuropatológicos han identificado que el LC se deteriora en las primeras etapas de la enfermedad. Por lo tanto, un método que permita medir de manera cuantitativa el LC y la SN, puede ayudar no solo a la detección temprana de estas enfermedades sino también a su diagnóstico diferencial en las etapas tempranas de la enfermedad.

Varias técnicas de MRI han sido aplicadas para la detección del LC y de la SN. Puesto que ambas estructuras contienen neuromelanina, las técnicas utilizadas son conocidas como MRI-NM, es decir, imágenes de resonancia magnética sensibles a neuromelanina.

En este estudio, para el análisis cuantitativo de las imágenes se ha utilizado un método semi-automático que establece el umbral utilizado en la segmentación de la SN. Este método también fue exitoso para la segmentación del LC. Según el conocimiento de los autores, este estudio ha sido el primero en estimar el volumen y la relación contraste de ruido (CNR) del LC en las imágenes MRI.

Segmentación del locus coeruleus (LC)

Para llevar a cabo la segmentación del LC se selecciona una región de interés (ROI) en el puente de Varolio (Figura 2.2. Círculo de color azul). en cada uno de los slices en los que es visible el LC. Se calculan la media (I_{mean}) y la desviación estándar (I_{sd}) de la señal de intensidad para las ROIs. Posteriormente, el proceso para detectar el LC es el siguiente:

1. Identificar el apéndice del cuarto ventrículo (Figura 2.2. Círculo de color rojo).
2. Definir las ROIs para el LC de ambos hemisferios. En base a previos estudios, se realizan dos ROIs circulares de 3mm de radio y cenradas a 3 mm a la derecha y a la izquierda y 2mm posterior al apéndice del cuarto ventrículo (Figura 2.2. Círculos de color amarillo).
3. Los vóxeles entre las ROIs cuya intensidad sea igual o superior a:

$$I_{mean} + 4 \times I_{sd} \tag{2.1}$$

son consideradas pertenecientes al LC.

4. El CNR se calcula como:

$$CNR = \frac{I_{voxel} - I_{mean}}{I_{sd}} \quad (2.2)$$

Una vez calculado el CNR, se obtienen la media del CNR y el volumen (número de voxeles \times tamaño de voxel) del LC.

Como el tejido que rodea el LC no es homogéneo y puede dar lugar a la aparición de artefactos, los autores eligieron como adecuado el umbral basado en 4 veces la desviación estándar sumado a la media de la intensidad de la ROI. De esta manera se aseguran evitar sobrestimar el volumen del LC.

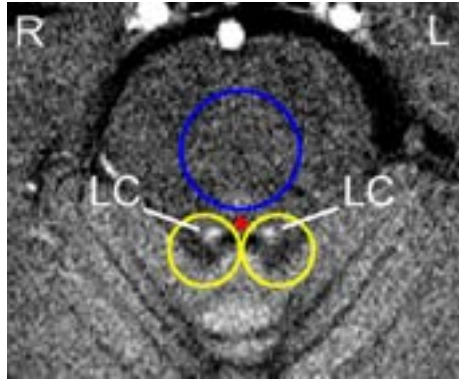


Figura 2.2: Segmentación del LC. El círculo azul es la ROI de referencia. El círculo rojo marca el apéndice del cuarto ventrículo. Los círculos amarillos son las regiones donde se encuentra el LC.

Segmentación de la sustancia nigra (SN).

En este estudio también se realiza la segmentación de la SN. El procedimiento utilizado se describe a continuación:

1. Colocar las ROIs en el tejido que rodea la SN para los 3 slices consecutivos donde se encuentra la SN, empezando por la slice más caudal. Las ROIs con forma de círculo y con diámetro de 4mm deben situarse flanqueando tanto la SN derecha como la izquierda.
2. Las intensidades de los vóxeles de las ROIs se aproximan como una distribución normal. Después, se calculan I_{mean} y I_{sd} de la señal de intensidad para las ROIs.
3. Se genera un mapa binario calculando $I_{diff} = I_{voxel} - I_{mean} - 2 \times I_{sd}$ para cada voxel. Utilizando como criterio: si $I_{diff} > 0$ entonces $B_{voxel} = 1$, sino $B_{voxel} = 0$.

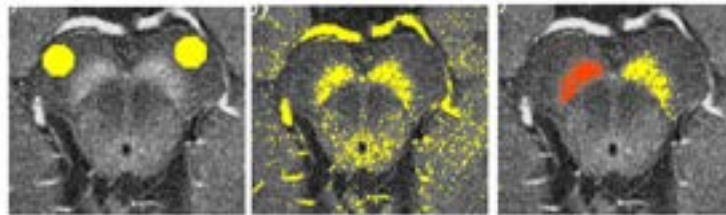


Figura 2.3: Segmentación de la SN.

2.3. *Castellanos et al. 2015*

Automated Neuromelanin Imaging as a Diagnostic Biomarker for Parkinson's Disease.

El objetivo de este estudio es analizar la precisión del diagnóstico de la segmentación automatizada y el método de cuantificación de los volúmenes de la sustancia negra (SNc) y del locus coeruleus (LC), basados en imágenes de resonancia magnética de neuromelanina (NM-MRI) en pacientes con enfermedad de Parkinson (EP) idiopática (iEP) y monogénica (mEP). La volumetría de la SNc y del LC se realizó enteramente utilizando segmentación automatizada con imágenes multi-atlas. El diagnóstico para diferenciar entre pacientes con EP y sujetos control se midió utilizando el área bajo la curva (AUC) y los cocientes de probabilidad basados en un análisis de las características operativas del receptor (curva ROC).

Se encontraron reducciones significativas de volumen de SNc y LC en pacientes con EP cuando se comparan con los sujetos control. El análisis ROC mostró una mejor precisión utilizando el volumen de la SNc que el volumen del LC. Se han encontrado diferencias significativas entre los volúmenes de la SNc del lado ipsilateral y contralateral al lado clínicamente más afectado en pacientes con la EP. La atrofia contralateral en la SNc ha sido el marcador con mayor poder para discriminar entre sujetos EP y sujetos control.

2.3.1. Contenido

La enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno neurodegenerativo caracterizado por bradicinesia asimétrica, temblor en reposo y rigidez. Los estadios tempranos de la EP se caracterizan por la pérdida de las neuronas que contienen NM de la SNc y del LC. Por lo tanto, la identificación de la degeneración de la SNc y del LC mediante MRI sensible a NM puede ayudar al diagnóstico de la enfermedad.

La segmentación basada en multi-atlas es un enfoque prometedor debido a que tiene en cuenta la variabilidad de los sujetos para obtener las segmentaciones.

La precisión del diagnóstico clínico de la EP es muy variable, por lo tanto es el estudio post-mortem el estándar que se toma para confirmar el diagnóstico de la enfermedad.

El objetivo es analizar la precisión del diagnóstico de un método completamente automatizado basado en NM-MRI para la segmentación y cuantificación del volumen de la SNc y del LC y comprobar así si se diferencian los sujetos sanos de los pacientes con EP.

Mediciones automatizadas de volumen de las imágenes MRI-NM

Las regiones pigmentadas con NM se delimitan automáticamente utilizando como referencia un atlas compuesto por trece imágenes segmentadas manualmente. Los autores del estudio también calculan la precisión de la segmentación y utilizan un

enfoque modificado de dos estudios previos para cuantificar los volúmenes de la SNc y del LC.

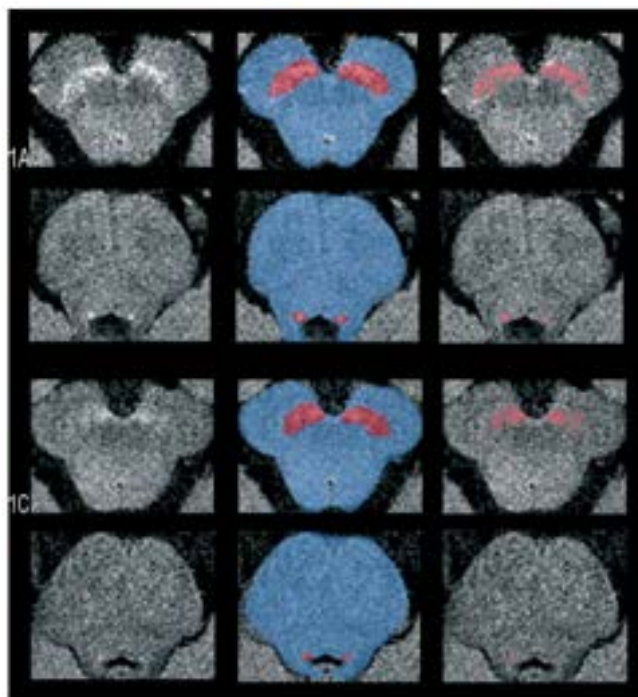


Figura 2.4: Segmentaciones automáticas de la SNc y del LC. En las figuras A las de un sujeto control. En las figuras C las de un paiente con EP.

2.3.2. Resultados

Imágenes NM

Los volúmenes totales de la SNc y del LC se ven reducidos de manera significativa en pacientes con EP cuando se comparan con los sujetos controles. Las curvas ROC indican un buen rendimiento de la clasificación para ambos marcadores y para diferentes umbrales.

El volumen de la SNc mostró una precisión mejor del diagnóstico que el del volumen del LC en pacientes con EP. Comparando los volúmenes de la SNc ipsilateral con la contralateral en referencia al lado clínicamente más afectado de pacientes con iEP, se obtiene como resultado un reducción significativa en el volumen de la SNc contralateral en pacientes con la EP, con una diferencia de media de 12.8mm^3 con respecto al lado ipsilateral. Sin embargo, en los pacientes con mEP no se obtienen diferencias significativas.

El análisis ROC muestra que la mejor precisión de clasificación se obtiene con un volumen de 103.1mm^3 de la SNc, que da lugar a especificidades y sensibilidades de alto valor tanto en pacientes como en sujetos control.

Parameters	HS (n = 37)	IPD (n = 23)
SNc volume ^a , mm ³	248.2 (214.3-284.6)	155.5 (124.5-188.9) P < 0.001 ^b AUC = 0.91 (0.82-0.97)
LC volume ^a , mm ³	15.2 (13.2-19.6)	11.9 (9.0-15.5) P = 0.019 ^b AUC = 0.73 (0.58-0.86)

Figura 2.5: Medidas del volumen bilateral de la SNc y del LC y comparaciones entre grupos. HS: sujetos control. iPD: pacientes con enfermedad idiopática.

2.3.3. Discusión.

El objetivo de este estudio es establecer la precisión del diagnóstico de cuantificación de los cambios estructurales en el tronco encefálico en pacientes con EP utilizando imágenes de resonancia magnética sensibles a la NM ponderadas en T1.

Los resultados del estudio muestran que el grado de atrofia de la SNc, medido utilizando una técnica de cuantificación totalmente automatizada basada en MRI-NM, tiene un poder discriminatorio para diferenciar sujetos control de pacientes con EP. Especialmente en el volumen del lado contralateral de la SNc al lado clínicamente más afectado.

En este estudio se ha encontrado una mayor precisión en el diagnóstico de la media de la SNc bilateral que en estudios anteriores, discriminando entre pacientes con EP y sujetos control. Esto se debe posiblemente a utilizar un método para obtener el volumen totalmente automatizado.

Un estudio previo concluyó que la cuantificación de los vóxeles hiperintensos reflejaba mejor el contenido del pigmento y que era un método más sensible. Debido a la naturaleza asimétrica en estas regiones de los pacientes con PD, se ha mejorado la obtención de dichos vóxeles hiperintensos mediante el cálculo de un umbral óptimo y utilizando un método automático. Esto ha permitido encontrar reducciones de volumen significativas en la totalidad de la SNc y del LC y también, reducciones en el volumen la SNc contralateral relativo al lado clínicamente más afectado.

2.4. *Isaias et al. 2016*

Neuromelanin Imaging and Dopaminergic Loss in Parkinson's Disease.

La Enfermedad del Parkinson se caracteriza por la pérdida de neuromelanina (NM) contenida en las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra. Como consecuencia se produce una reducción de concentración de dopamina en el putamen y en el núcleo caudado, así como la deposición de hierro en la sustancia nigra. Las neuronas que contienen neuromelanina del locus coeruleus (LC) también degeneran en estadios tempranos de la enfermedad.

El objetivo principal es determinar la correspondencia entre los cambios en la sustancia nigra, que son evidentes gracias a las imágenes de resonancia magnética sensibles a neuromelanina y a hierro, y la pérdida de inervación del cuerpo estriado dopaminérgico en pacientes con la enfermedad.

Los síntomas motores se manifiestan en los pacientes con la enfermedad cuando se ha perdido el 60% de las neuronas que contienen NM de la SN. Es por esta razón que identificar a los individuos en la fase preclínica de la enfermedad es fundamental para lograr revelar el mecanismo fisiopatológico de la EP y desarrollar estrategias para retrasar el inicio la enfermedad.

Las técnicas de imágenes de resonancia magnética (MRI) proporcionan información acerca de la degeneración de la SN y por tanto, pueden servir para crear biomarcadores de la EP. Las estructuras que contienen NM pueden ser identificadas en las imágenes sensibles a NM como áreas de hiperintensidad.

2.4.1. Análisis de las imágenes T1 sensibles a neuromelanina

- **Sustancia Nigra (SN)** Como medida de la presencia de NM, se estimó el volumen de SN a partir de las imágenes MRI-NM. El análisis se basa en estudios anteriores [2] y [14].

1. Primero se definen regiones circulares de 4mm de diámetro en los pedúnculos cerebrales tanto izquierdo como derecho, estas secciones serán las regiones de interés (ROIs). Esto se repite para los cuatro slices consecutivos donde la SN es visible.
2. Posteriormente, para cada slice se define un mapa binario formado por los voxeles de la región mesoencefálica con una intensidad de señal superior a:

$$MN_{CC} + 3 X SD_{CC} \quad (2.3)$$

Donde MN_{CC} y SD_{CC} son la media y la desviación típica de la intensidad de la ROI colocada en los pedúnculos cerebrales, respectivamente.

3. Por último se definen las ROIs de la SN dentro del mapa binario.



Figura 2.6: Definición de las ROIs para la SN. (A) Colocación de las ROIs en los pedúnculos cerebrales. (B) Creación del mapa binario con los vóxeles hiperintensos. (C) Aislamiento de los vóxeles que pertenecen a la SN.

Para calcular el volumen de la SN se suman los vóxeles segmentados y se multiplican por la dimensión de un vóxel.

La relación contraste-ruido (CNR) entre la SN y el pedúnculo cerebral se calcula para cada slice y para cada lado de la SN:

$$CNR_{SN} = \frac{(MN_{SN} - MN_{CC})}{SD_{CC}} \quad (2.4)$$

donde MN_{SN} y MN_{CC} se corresponden con la media de la señal de intensidad de la SN y del pedúnculo cerebral, respectivamente, y SD_{CC} se trata de la desviación estándar de la ROI del pedúnculo cerebral.

■ Locus Coeruleus (LC)

También se analiza el LC, pero en este caso, la resolución del área de la sección transversal de éste está por debajo del límite de resolución que pueden alcanzar los escáners utilizados en este procedimiento. Por este motivo, los autores no consideran que el análisis de la volumetría del LC sea de utilidad como biomarcador. En su lugar, se utiliza la medida de contraste con respecto a al tejido que lo rodea.

- Para cada lado, la localización del LC se toma como el voxel de mayor intensidad adyacente al cuarto ventrículo de dicho lado (LC_{MAX}).
- Posteriormente, la señal de intensidad del LC se toma como la intensidad del LC_{MAX} y los cuatro voxeles colindantes en el plano de la imagen. Esto se repite para cada uno de los tres slices consecutivos.
- En este caso, la ROI consiste en un círculo de 6mm de diámetro colocado en el *pontine tegmentum* (TG) de los slices donde es posible visualizar el LC.

Se calcula el CNR entre el LC y el TG de manera análoga a la SN.

$$CNR_{LC} = \frac{(MN_{LC} - MN_{TG})}{SD_{TG}} \quad (2.5)$$

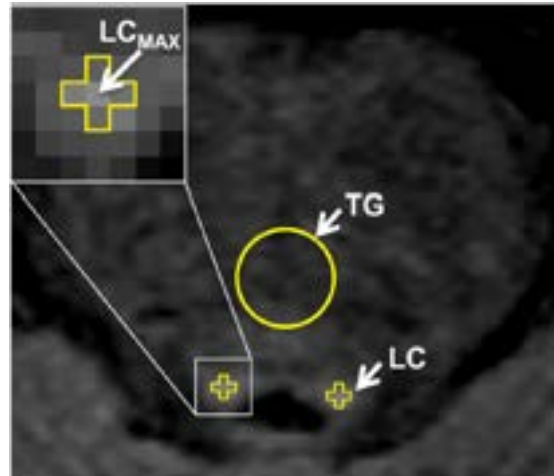


Figura 2.7: Definición de las ROIs para el LC.

2.4.2. Resultados de la MRI-NM.

Se detectaron áreas de hiperintensidad en las MRI-NM en las posiciones correspondientes a la localización de la SN y del LC, en comparación con estudios post-mortem.

Para las medidas de las MRI-NM, no se encontraron diferencias significativas entre el lado contralateral y el ipsilateral de la SN. En los pacientes, la media del volumen contralateral de la SN resultó menor que el volumen del lado ipsilateral, pero la diferencia no alcanzó la significancia estadística. En comparación con los sujetos control (HC), las medidas de NM fueron menores de manera significativa en los pacientes.

		Patients with PD	Healthy controls	p-value
NM-MRI	SN volume- <i>contra</i>	226 ± 50 mm ³	344 ± 51 mm ³	P < 0.001
	SN volume- <i>ipsi</i>	293 ± 84 mm ³	302 ± 60 mm ³	P < 0.01
	CNR _{SN-<i>contra</i>}	4.28 ± 0.41	4.91 ± 0.38	P < 0.001
	CNR _{SN-<i>ipsi</i>}	4.42 ± 0.45	4.83 ± 0.37	P < 0.01
	CNR _{LC-<i>contra</i>}	3.54 ± 0.87	4.89 ± 0.61	P < 0.0001
	CNR _{LC-<i>ipsi</i>}	3.85 ± 0.96	5.07 ± 0.47	P < 0.001

Figura 2.8: Datos listados como: media ± desviación típica.

2.4.3. Discusión.

Las imágenes de resonancia magnética sensibles a NM proporcionan un contraste notable entre las estructuras que contienen NM y los tejidos que se encuentran alrededor. Esto hace que tenga potencial en la búsqueda de biomarcadores de la EP.

Varios estudios han mostrado la reducción significativa en las medidas de contraste de las MRI-NM y el volumen de la SN y del LC en pacientes con la EP, en comparación con los sujetos control. Esto lleva a pensar que el contraste debido a la NM refleja una pérdida de neuronas que contienen NM.

Los resultados obtenidos en este estudio verifican la habilidad de las MRI-NM para diferenciar pacientes con EP y sujetos sanos. También que los pacientes con EP presentan reducciones significativas en cuanto a contraste y volumen en la SN.

2.5. *Schwarz et al. 2017*

In Vivo Assessment of Brainstem Depigmentation in Parkinson Disease: Potential as a Severity Marker for Multicenter Studies.

2.5.1. Propósitos

El objetivo principal es investigar el patrón de pérdida de la intensidad de señal de la neuromelanina en la sustancia nigra pars compacta (SNc), el locus coeruleus y en el área tegmental ventral (ATV) en la enfermedad de Parkinson (EP). De manera más específica:

- Estudiar la despigmentación cuantificable mediante imágenes de resonancia magnética (MRI) asociada a la gravedad de la EP.
- Investigar si las variaciones de intensidad de la señal que dependen de la imagen se pueden normalizar.

2.5.2. Introducción.

La enfermedad de Parkinson (EP) se caracteriza por un agotamiento de las neuronas catecolaminérgicas en los núcleos de la materia gris del tronco encefálico, como la sustancia nigra pars compacta (SNc), el área tegmental ventral (ATV) y el locus coeruleus (LC). Anatómicamente, estos núcleos se pueden apreciar de manera macroscópica debido a que acumulan un pigmento en las células llamado neuromelanina. Este pigmento se deposita en las células progresivamente con la edad y en muchos casos se encuentra ausente en el nacimiento.

El grado de pérdida de neuronas en la SNc está relacionado con la gravedad de la EP. Por este motivo, hay un gran potencial en el seguimiento de la degeneración de la SNc mediante las imágenes de resonancia magnética ponderadas en T1 y sensibles a neuromelanina.

Utilizando las propiedades paramagnéticas de la neuromelanina, la resonancia magnética ponderada en T1 sensible a neuromelanina ha sido desarrollada para identificar y caracterizar la SN *pars compacta* y el LC *in vivo* y demostrar que la EP lleva a una pérdida de intensidad en la señal de las imágenes.

Estudios previos han demostrado que la pérdida de intensidad de señal de la SNpc está relacionada con el índice de progresión de la enfermedad de Hoehn y Yahr (AnexoC.1).

2.5.3. Métodos.

El presente estudio introduce un nuevo algoritmo para ajustar las distintas secuencias de imágenes sensibles a neuromelanina y plataformas mediante una nueva técnica de segmentación de la sustancia nigra y relacionándolo con los valores de los cambios de intensidad de la SNc del Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) (AnexoC.3).

Las imágenes fueron tomadas con dos máquinas de resonancia magnética de 3T y con tres secuencias diferentes.

Las regiones de interés elegidas en este estudio son el tegmentum del cerebro medio y los pedúnculos cerebrales para la SNcp y para el ATV. Para el LC, la región de referencia elegida es el puente. El proceso consiste en realizar el promedio de la señal de intensidad obtenida de las regiones de referencia y en tomar la desviación estándar como el el ruido de la región de referencia.

La media de todo el volumen (derecho e izquierdo) de la sustancia nigra en los estudios postmortem es de 187.8 mm³. La sustancia nigra está formada por aproximadamente el 68% de neuronas pigmentadas, por lo que se puede estimar que el volumen de una sustancia nigra "normal" es de 127.7 mm³.

2.5.4. Resultados.

En este estudio no se obtienen diferencias significativas con respecto a la edad o el sexo entre pacientes con la EP y sujetos sanos.

Protocolo de dependencia y ajuste de resultados.

El volumen total de intensidad de la señal relacionado con la cantidad de neuromelanina en el tronco encefálico, es decir, la suma de la señal de intensidad de la SN, el ATV y el LC depende de la secuencia de resonancia magnética utilizada en los diferentes grupos.

Para evitar que dependa de la secuencia elegida, se procede a realizar una normalización del volumen. Después de ajustar el umbral para obtener el volumen de hiperintensos en cada una de las diferentes secuencias de imágenes obtenidas, se obtiene un resultado mejor. Con este resultado mejorado, se demuestra mediante el análisis ROC que se discriminan mejor los pacientes con EP de los sujetos control.

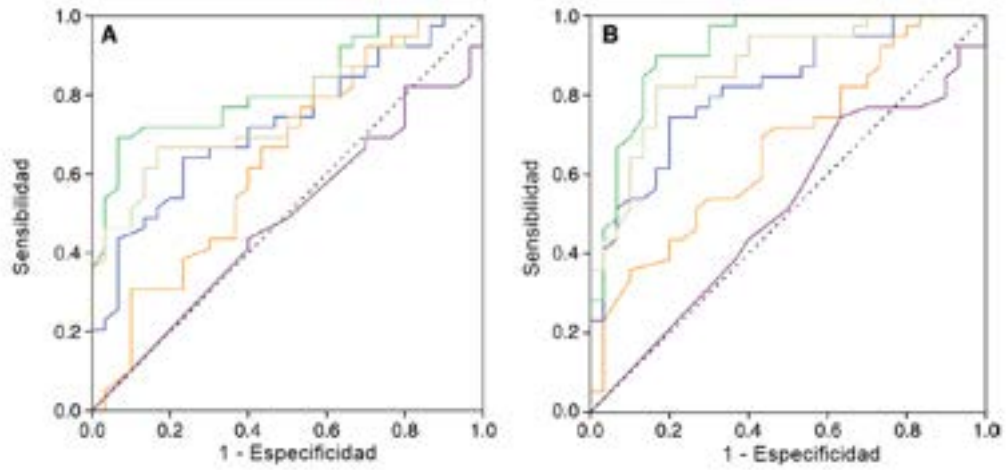


Figura 2.9: Curvas ROC del análisis del volumen de neuromelanina en SN, ATV y LC. (A) Antes de la normalización y (B) después de normalizar utilizando umbrales ajustados a cada secuencia específica. Las diferentes curvas son del volumen de la SN anterior y posterior, toda la SN, el volumen del ATV y del LC

Capítulo 3

Materiales del proyecto

En este capítulo se presentan los datos demográficos de pacientes y sujetos empleados en el proyecto. Además un breve estudio estadístico sobre la capacidad de algunas características de discriminar entre sujetos paciente y controles. Por otra parte se describen las herramientas de software que han sido utilizadas para realizar el presente trabajo.

3.1. Datos demográficos empleados

La herramienta de estudio en este proyecto son las imágenes de resonancia magnética. Éstas han sido prestadas por el Centro Integral de Neurociencias (CINAC) del Hospital HM Puerta del Sur. Todos los pacientes con la enfermedad que se tratan en este trabajo son pacientes *de novo*, esto quiere decir que han sido diagnosticados en una etapa muy temprana de la enfermedad y que además, no han sido tratados con fármacos como la **levodopa**.

De cada sujeto implicado en el proyecto se obtienen dos tipos de imágenes: las imágenes T1 NM y las imágenes T1 convencionales.

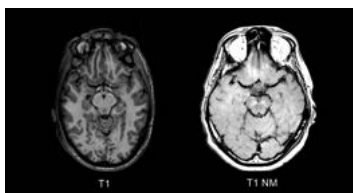


Figura 3.1: Imágenes T1 y T1 sensible a neuromelanina.

La sustancia nigra contiene neuronas dopaminérgicas y el locus coeruleus, neuronas noradrenérgicas. La neuromelanina es un subproducto de la síntesis de neurotransmisores monoamina, como la noradrenalina o la dopamina. Sin embargo, a pesar del carácter paramagnético de la NM unida a metales, es difícil observar el contraste de estructuras ricas en NM como la SN o el LC en imágenes T1 convencionales [26]. Es por este motivo que en este proyecto la principal herramienta para trabajar son las imágenes T1 sensibles a NM, donde estas estructuras se observan como áreas hiperintensas.

Los datos demográficos de los pacientes y de los sujetos control se resumen en la siguiente tabla:

ID	DIAG	EDAD	GÉNERO (0-F, 1-M)	MANO (0-R, 1-L, 2-B)	ONSET SIDE (0-R, 1-L, 2-Sym, 9-HC)	ICV
soma13	PD	44	1	0	2	1605272
soma15	PD	51	0	1	1	1324121
soma19	PD	64	0	0	0	1422113
soma20	PD	42	0	0	0	1511546
soma22	PD	38	0	0	0	1696341
soma25	PD	46	1	0	1	1688987
soma26	HC	42	0	0	9	1298294
soma27	PD	45	1	0	1	1587389
soma28	PD	47	1	0	0	1612958
soma29	HC	47	0	0	9	1285819
soma31	HC	48	1	0	9	1613951
soma32	HC	43	0	0	9	1375118
soma35	HC	49	1	2	9	1433235
soma36	PD	58	0	0	2	1428069
soma38	HC	41	0	0	9	1348270
soma39	PD	60	0	2	0	1286627
soma40	PD	62	1	0	0	1513186
soma43	PD	66	1	0	1	1465316
soma44	PD	69	0	0	1	1291159
soma45	PD	49	1	0	0	1730594
soma46	PD	62	1	0	0	1387164
soma48	PD	59	1	0	2	1473237
soma51	HC	64	1	0	9	1283550
soma52	HC	62	1	0	9	1571664
soma53	PD	66	1	0	2	1617661
soma54	HC	55	1	0	9	1575165
soma60	PD	56	0	0	0	1413363
soma61	PD	62	0	0	0	1445967
soma62	HC	63	1	0	9	1325268
soma63	PD	60	0	0	2	1187934
soma64	HC	63	1	0	9	1382179
soma66	PD	49	1	0	1	1908020
soma67	PD	63	1	0	0	1688018
soma68	HC	30	0	0	9	1352814
soma69	HC	30	1	0	9	1702395
soma70	HC	35	0	0	9	1424376
soma72	HC	65	1	0	9	1630699
soma74	PD	44	1	0	0	1562652
soma75	HC	61	1	0	9	1654046
soma76	HC	50	0	0	9	1503271
soma77	HC	51	0	0	9	1367938
soma78	HC	48	0	0	9	1407842
soma79	HC	49	0	0	9	1183083

Tabla 3.1: Datos demográficos de los sujetos utilizados en el proyecto.

La primera columna (*ID*) indica el identificador del sujeto y la segunda (*DIAG*) detalla el diagnóstico de cada sujeto. La columna encabezada con *DIAGNÓSTICO*, tiene dos posibles variables: PD (Parkinson disease) que se refiere a los pacientes con la enfermedad (también mencionados en ocasiones como EP) y HC (Healthy controls) para los sujetos control.

Por otra parte, la columna titulada *ONSET SIDE* hace referencia al lado, en el caso de los pacientes con la enfermedad, que se ha visto primeramente afectado. Como bien se detalla en [22], La enfermedad de Parkinson generalmente emerge con un lado de inicio unilateral debido a una degeneración asimétrica de las neuronas dopaminérgicas del estriado. Aunque existen ciertos casos en los que ambos lados se ven afectados de igual manera, esto queda reflejado en la tabla con el número 2.

3.1.1. Estudio estadístico de los datos demográficos

El número total de sujetos disponibles para estudio es de 43 ($n=43$). Una parte de este proyecto diverge en dos metodologías y en una de ellas ha sido necesaria eliminar 3 sujetos.

En el método semiautomático se trabaja en el espacio nativo de cada sujeto, es decir, en las imágenes de T1 sensible a neuromelanina y se han podido utilizar los 43 sujetos. En el método automático se llevan a cabo registros de imágenes y segmentaciones. En el caso de los sujetos 36, 43 y 44 los registros no han sido todo lo bueno que cabe esperar, y por este motivo se ha decidido no contar con ellos para su estudio.

Resumen de los datos demográficos.

La base de datos completa está formada por 23 sujetos con la enfermedad de Parkinson y 20 sujetos control. De los que sufren la enfermedad 10 son mujeres y 13 son hombres, mientras que de los sujetos control son 10 mujeres y 10 hombres. La edad media de las mujeres que sufren la enfermedad es de 56 ± 9.72 , y de 43.6 ± 6.87 en el caso de las mujeres que no padecen la enfermedad. Por otro lado, la media de edad de los hombres que padecen la enfermedad es de 54 ± 10.71 , y en el caso de los hombres que no la padecen la media es de 56 ± 11.03 .

	Sujetos control (HC) $n=20$	Pacientes con la enfermedad (EP) $n=23$
Número mujeres/hombres	10/10	10/13
Edad media mujeres	43.6 ± 6.87	56 ± 9.72
Edad media hombres	56 ± 11.03	54 ± 10.71

Tabla 3.2: Resumen de los datos demográficos.

Por otro lado, en el caso de los sujetos que padecen la enfermedad es importante conocer el *onset side* puesto que puede ser útil a la hora de buscar biomarcadores que dependan de este factor.

	Onset side: izquierdo	Onset side: derecho	Onset side: bilateral
Número de pacientes	6	12	5

Tabla 3.3: Número de pacientes con la enfermedad en función del *onset side*.

Análisis discriminativo entre EP y HC.

A continuación se realiza un breve estudio estadístico que analiza el poder discriminativo de algunas características como la edad o el género entre sujetos con la enfermedad de Parkinson y sujetos control.

Análisis ANOVA para la edad y chi2 para el género.

En este análisis ANOVA la característica a estudiar es la edad y los dos grupos posibles son PD (con la enfermedad de Parkinson) y HC (sujetos control).

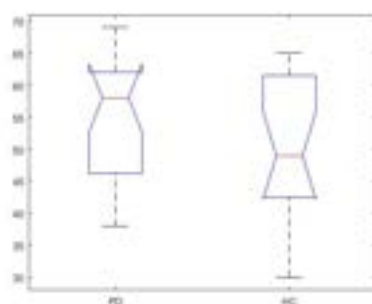


Figura 3.2: Análisis ANOVA de la edad de los sujetos utilizados en el estudio.

Los datos estadísticos como la F de Fisher o el p-valor quedan reflejados en la siguiente tabla:

Edad	43 sujetos
F de Fisher	2.73
p-valor	0.106

Tabla 3.4: Datos estadísticos para los sujetos cuando la variable de estudio es continua.

En el caso del género al no ser una variable continua no se puede hacer uso del análisis ANOVA, por lo tanto, se analiza con la función de distribución chi cuadrado, que es la estadística de prueba de independencia de chi cuadrado de Pearson.

Género	43 sujetos
chi2	0.1829
p-valor	0.6689

Tabla 3.5: Datos estadísticos para los sujetos cuando la variable de estudio es discreta.

Tanto para la edad como para el género, el p-valor es muy elevado ($p > 0.05$), esto quiere decir que el grupo de sujetos tiene estas características pareadas y por tanto la búsqueda de biomarcadores no se va a ver afectado por las mismas.

3.2. Herramientas de software utilizadas.

3.2.1. LATEX

Este documento ha sido creado en L^AT_EX que es un sistema de composición de textos orientado a la creación de documentos escritos que presentes una alta calidad tipográfica.



Figura 3.3: Logotipo de L^AT_EX.

L^AT_EX presupone una filosofía de trabajo diferente a la de los procesadores de texto habituales y se basa en instrucciones. Está formado por un gran conjunto de macros de TeX, con la intención de facilitar el uso del lenguaje de composición tipográfica.

3.2.2. MATLAB

La herramienta MATLAB (**MAT**rix **LAB**oratory) es un entorno de computación numérica de software desarrollado por MathWorks. Ofrece un entorno de desarrollo integrado (IDE) con un lenguaje de programación propio (lenguaje M).

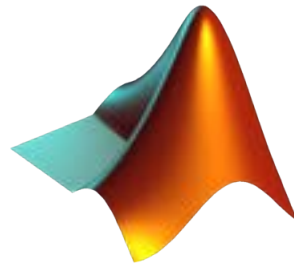


Figura 3.4: Logotipo de MATLAB.

MATLAB permite la manipulación de matrices, la representación de funciones y datos, la implementación de algoritmos, la creación de interfaces de usuario (GUI) y la interacción con programas escritos en otros lenguajes, incluidos C, C ++, C #, Java, Fortran y Python.

La plataforma de MATLAB está optimizada para resolver problemas científicos y de ingeniería. El lenguaje de MATLAB, basado en matrices, es la forma más natural del mundo para expresar las matemáticas computacionales. Además dispone también de programas de apoyo especializados, denominados *Toolboxes*, que amplían el número de funciones incorporadas en el programa principal. Estas *Toolboxes* cubren prácticamente casi todas las áreas principales en el mundo de la ingeniería y la simulación, destacando entre ellos la 'toolbox' de procesamiento de imágenes o señales, control robusto y estadística, entre otros.

3.2.3. ITK-SNAP

ITK-SNAP es una aplicación software usada para segmentar estructuras 3D en imágenes médicas. Es una herramienta gratuita, multi-plataforma y open-source. ITK-SNAP ofrece segmentación semi-automática usando métodos de contornos activos, así como delineación manual y visualización de las imágenes 3D. Además, permite la creación de modelos 3D a partir de las segmentaciones [55].



Figura 3.5: Logotipo de ITK-SNAP.

ITK-SNAP representa la segmentación asignando colores a los píxeles de la imagen. El programa consta de un panel con diversas herramientas y una visión gráfica de las imágenes que se están segmentando en los tres planos: axial, sagital y coronal. Además cuenta con una cuarta ventana en la que se muestra el volumen tridimensional de la estructura segmentada.

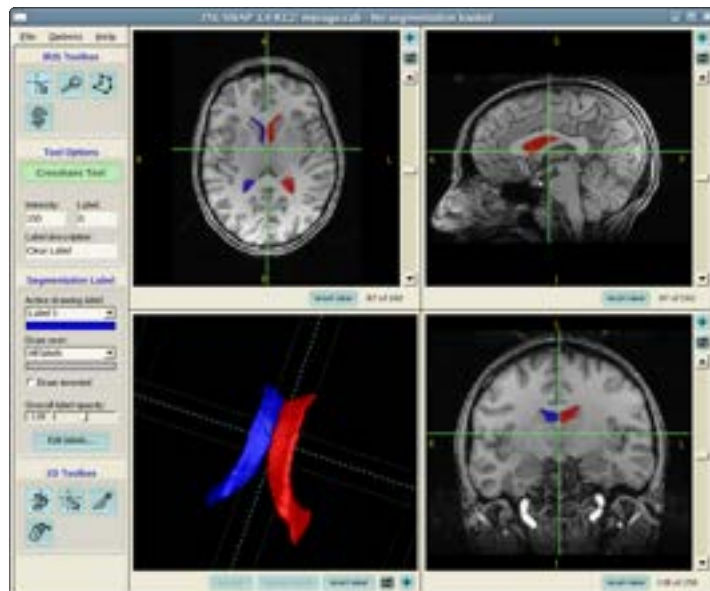


Figura 3.6: Segmentación de una imagen con ITK-SNAP en los tres planos y el volumen tridimensional[55].

3.2.4. EXCEL

Excel es un programa informático desarrollado y distribuido por Microsoft. Se trata de un software que permite llevar a cabo tareas que precisen de crear y trabajar con hojas de cálculo.



Figura 3.7: Logotipo de Microsoft Excel.

Excel se distingue del resto de programas de Office porque permite trabajar con datos numéricos.

En este trabajo Excel ha sido utilizado como herramienta de apoyo a otros programas como MATLAB por ejemplo para crear tablas y almacenar datos. Además de realizar cálculos matemáticos y estadísticos.

Capítulo 4

Métodos

En este capítulo se presentan los métodos que han sido llevados a cabo con el fin de conseguir los objetivos propuestos en la sección 1.3. Las herramientas utilizadas para la búsqueda de biomarcadores de la enfermedad de Parkinson, son las imágenes de resonancia magnética T1 sensibles a neuromelanina. Por ello, en primer lugar se detallará la metodología seguida para preprocesar dichas imágenes y los métodos de registro necesarios para trabajar con ellas.

Una vez las imágenes están procesadas, se detalla el procedimiento a seguir para la obtención de los biomarcadores. La primera estructura cerebral que se segmenta es la sustancia nigra, ésta se degenera en las fases tempranas de la enfermedad y por lo tanto, es una región cerebral de la cual se pueden obtener biomarcadores. Su segmentación se realiza de manera semiautomática y automática. El objetivo es comparar la eficiencia de las dos metodologías y ver con cuál se obtienen mejores resultados. También, se lleva a cabo un estudio sobre la relevancia que tiene la localización de la región de referencia situada en los pedúnculos cerebrales a la hora de segmentar la sustancia nigra. Otra de las estructuras cerebrales que se ha demostrado en estudios previos que degenera en fases muy tempranas de la enfermedad, es el locus coeruleus. Para realizar la segmentación de esta pequeña región se utilizará un método semiautomático.

Por último, en este capítulo se explican los procedimientos que han sido llevados a cabo para la obtención de los biomarcadores en las dos estructuras segmentadas. Será en el siguiente capítulo donde se detalle la capacidad de diagnóstico que tiene cada uno de ellos.

En la medida de lo posible, se ha tratado de organizar cada subsección de este capítulo con una estructura repetitiva. En primer lugar se presentará la teoría del método llevado a cabo y posteriormente la explicación de la demo paso a paso con el código implementado en MATLAB, en caso de haberlo. En caso de ser un código extenso, se añadirá un pseudocódigo para mejorar la comprensión del mismo.

4.1. Adquisición de las imágenes de resonancia magnética

Todas las imágenes han sido proporcionadas por el Centro Integral de Neurociencias (CINAC) del hospital HM de Móstoles. Fueron tomadas con un PET-MRI híbrido mMR Biograph 3T de Siemens. Cada sujeto fue escaneado dos veces, uno para la adquisición de la imagen T1 sensible a neuromelanina y otra para la imagen T1 convencional.

Las imágenes T1 se adquirieron usando la secuencia MP-RAGE con los siguientes parámetros de adquisición: formato DICOM, tiempo de repetición y tiempo de eco, 765/11 ms, flip angle de 180° y tamaño de voxel de $0,6875 \times 0,6875 \times 3$ mm. Se adquirieron 15 imágenes axiales cubriendo todo el mesencéfalo.

Por otro lado, las imágenes T1 se adquirieron usando la secuencia MP-RAGE con los siguientes parámetros de adquisición: formato DICOM, tiempo de repetición y tiempo de eco, 2300/3.34 ms, tiempo de inversión 900 ms, flip angle de 8° y tamaño de voxel de $1 \times 1 \times 1$ mm.

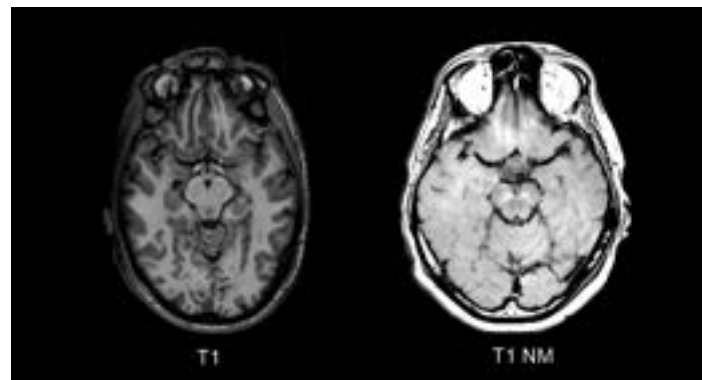


Figura 4.1: Imágenes T1 y T1 sensible a neuromelanina.

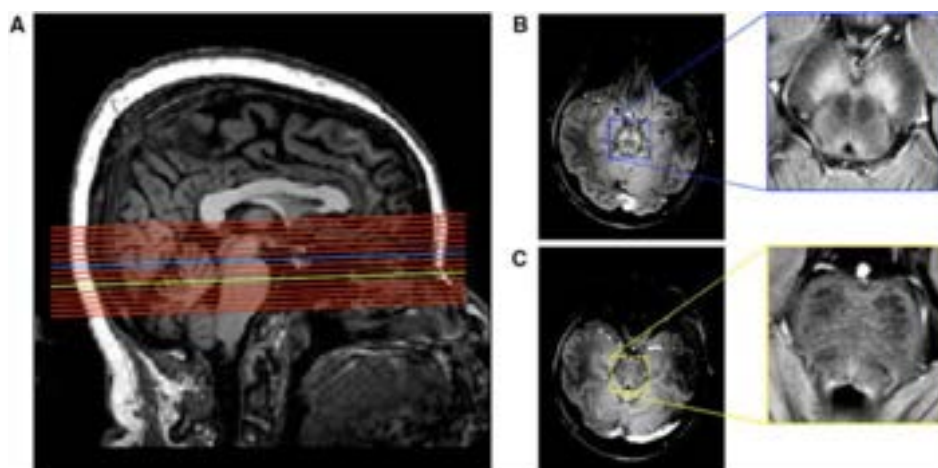


Figura 4.2: La imagen A muestra la colocación utilizada para adquirir los datos de las imágenes T1 sensibles a NM. La línea azul es la posición aproximada de la sustancia nigra y la azul, del locus coeruleus. Las imágenes B y C del plano axial muestran la SN y el LC, respectivamente [15].

4.2. Pre-procesamiento de imágenes MRI

Una vez obtenida la imagen digital, el siguiente paso consiste en realizar un pre-procesamiento. El pre-procesamiento de las imágenes digitales mejora las propiedades y por tanto, la calidad de las mismas. El tratamiento de cada imagen y las técnicas utilizadas para facilitar posteriores operaciones varía en función del tipo de imagen.

En este proyecto para cada sujeto, ya sea paciente o control, se trabaja con imágenes ponderadas en T1 del cerebro completo y con slab T1 sensibles a neuromelanina (T1 NM).

La neuromelanina tiene efectos paramagnéticos de acortamiento en las imágenes ponderadas en T1. Gracias a esta propiedad y mediante las imágenes de resonancia magnética sensibles a neuromelanina, es posible optimizar el contraste para detectar la neuromelanina [45]. Por este motivo, tanto la sustancia nigra como el locus coeruleus se muestran como vóxeles hiperintensos en las imágenes T1 NM, ya que en estas estructuras existe una gran cantidad de neuronas dopaminérgicas que contienen neuromelanina.

En esta sección se esquematiza la organización en carpetas de entrada y salida de la demo del pre-procesamiento. De aquí en adelante, todas las demos estarán compuestas por una carpeta llamada *data* donde se almacenan las imágenes y por una carpeta que se designará con el nombre de *scripts*, en la que se almacenan todos los códigos.

- Carpeta **data**.
 - **IMAGENES_A_PROCESAR**. En esta carpeta se encuentran las imágenes de entrada en formato DICOM.
 - Para las imágenes T1:
 - **T1**. En esta carpeta se guardan las imágenes en formato T1 del cerebro completo con el formato NIfTI.
 - **T1_corrected**. Se almacenan las imágenes de salida de la carpeta T1 una vez realizado el pre-procesamiento.
 - Para las imágenes T1 sensible a neuromelanina:
 - **T1_FSE_nmel**. Carpeta en la que se almacenan las imágenes procesadas.
- Carpeta **scripts**. Contiene el código del pre-procesamiento, es decir, una primera parte general para convertir el formato de DICOM a NIfTI en las imágenes T1 y en los slab T1 NM y el pre-procesamiento específico para cada una de ellas.

Algorithm 1 Pre-procesamiento de imágenes**Require:** Imágenes T1 y T1sensibles NM en formato DICOM**Ensure:** Imagen T1 y T1sensibles NM en formato NIFTI.

```

1: for  $i = 1$  to  $numSomatos$  do
2:   if Nombre imagen es "T1" then
3:     dcm2nii → Convierte el formato DICOM a NIFTI.
4:     robustfov → Elimina cuello y mandíbula.
5:     N4BiasFieldCorrection → Corrección de sesgos en la homogeneidad de intensidades.
6:     Denoising → Eliminación del ruido de la imagen
7:   end if
8:   if Nombre imagen es "FSE_Nmel_01" then
9:     dcm2nii → Convierte el formato DICOM a NIFTI.
10:    fslreorient2std → Reorientación de la imagen al formato estándar.
11:   end if
12: end for

```

4.2.1. Conversión del formato de la imágenes

Tanto las imágenes T1 como las T1 sensibles a neuromelanina (T1 NM), son obtenidas de las máquinas de resonancia magnética en formato DICOM. Los programas que se utilizan para llevar a cabo el pre-procesamiento y posteriores operaciones trabajan con formato NIFTI. Por este motivo, el primer paso que se ha de realizar para poder tratarlas es convertirlas a este formato, mediante la función *dcm2nii*:

$dcm2nii -o <dirOut> <dirIn>$

- ***dirOut***: Es la ruta de salida en la que se almacenarán las imágenes una vez convertidas al formato NIFTI.
- ***dirIn***: Es la ruta de entrada, es decir, donde se encuentran las imágenes en formato DICOM.

La función *dcm2nii* pertenece a la herramienta MRICron.

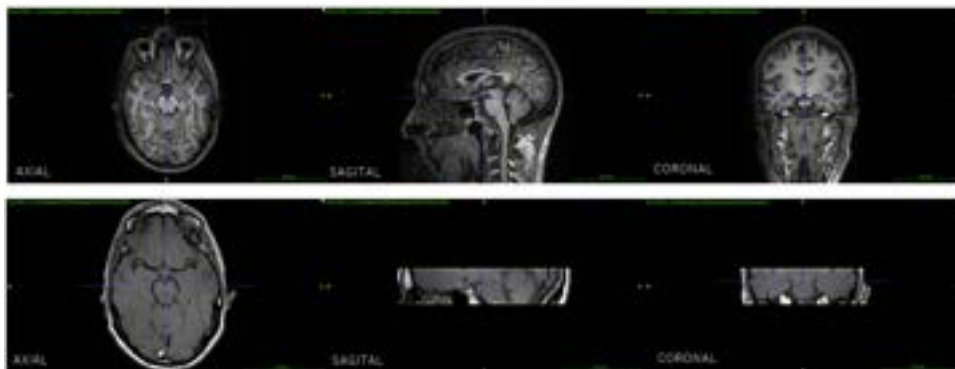


Figura 4.3: En la imagen superior se observa la MRI de T1 en formato *nii* en los tres planos, en la imagen inferior los tres planos de una MRI T1 NM con el formato *nii*.

Una vez que las imágenes están en formato NIFTI se realiza el pre-procesamiento.

4.2.2. Pre-procesamiento imágenes en formato T1.

Para las imágenes T1 lo primero que se lleva a cabo es la eliminación del cuello y de la mandíbula mediante la función *robustfov*:

```
robustfov -i <orig> -r<dest>
```

- **orig**: Es la ruta en la que se encuentran las imágenes pre-procesadas.
- **dest**: Es la ruta donde se guardarán las imágenes una vez hayan sido tratadas.

La función *robustfov* pertenece a la herramienta FSL.

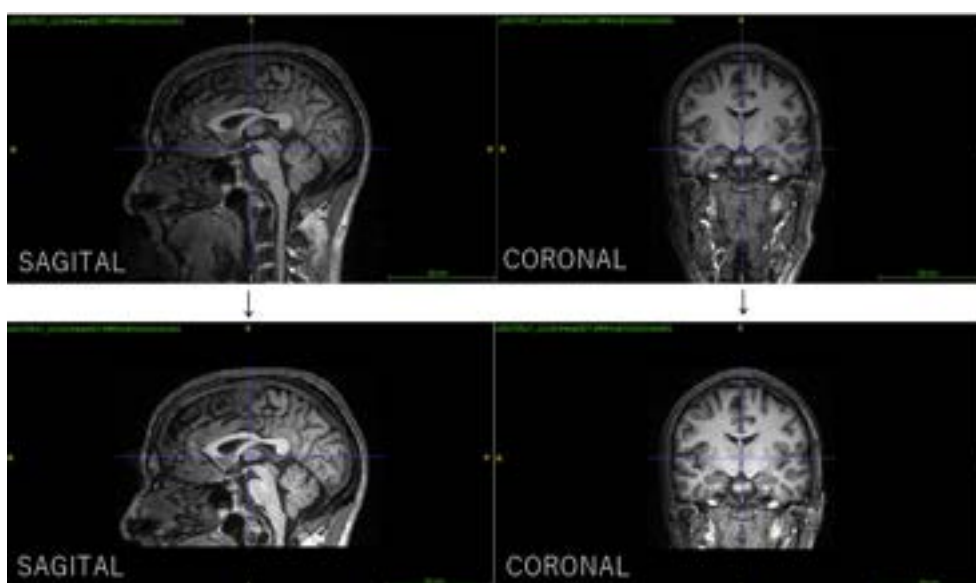


Figura 4.4: Imagen T1 antes y después de aplicarle la función *robustfov* .

El siguiente paso es aplicar un algoritmo de corrección de la no uniformidad de intensidad de baja frecuencia. Esto es debido a que las imágenes de resonancia magnética pueden tener intensidades no uniformes, también referidas como sesgo, campo de sesgo o falta de homogeneidad. Para ello se utiliza la función perteneciente a la herramienta de código abierto ANTs (Advanced Normalization Tools), *N4BiasFieldCorrection*:

```
N4BiasFieldCorrection -d <n> -i <orig> -o <dest>
```

- **n**: Es la dimensión de las imágenes de entrada que van a ser tratadas. En este caso será siempre de dimensión 3 (3D).
- **orig**: Es la ruta que contiene las imágenes que van a ser corregidas.
- **dest**: Es la ruta donde se guardan las imágenes una vez aplicado el algoritmo de corrección. La carpeta es *T1*, mencionada anteriormente.

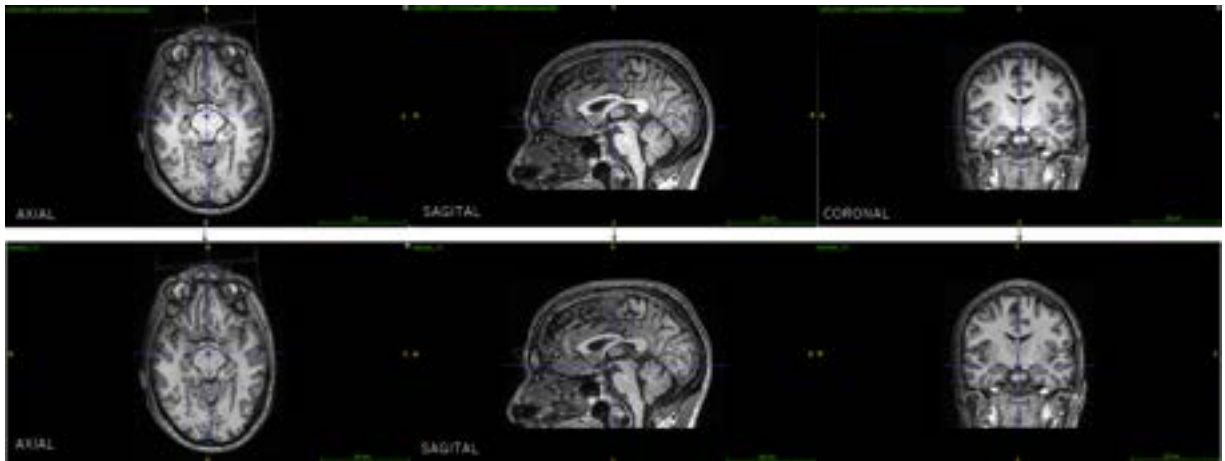


Figura 4.5: Imagen T1 antes y después de aplicarle la función $N4BiasFieldCorrection$.

El ruido en estas imágenes sigue presente. Para mejorarlo se va a utilizar la función *Denoising*, que elimina el ruido de la imagen de resonancia. Desde el script principal será llamada como se muestra a continuación.

$Denoising(orig, dest)$

- **orig**: Es la ruta de la imagen de entrada. Esta imagen sobre la que se ha aplicado como último tratamiento la corrección de la no uniformidad de intensidades.
- **dest**: Es la ruta donde se guarda la imagen final, que se corresponde con la carpeta T1_corrected, mencionada anteriormente.

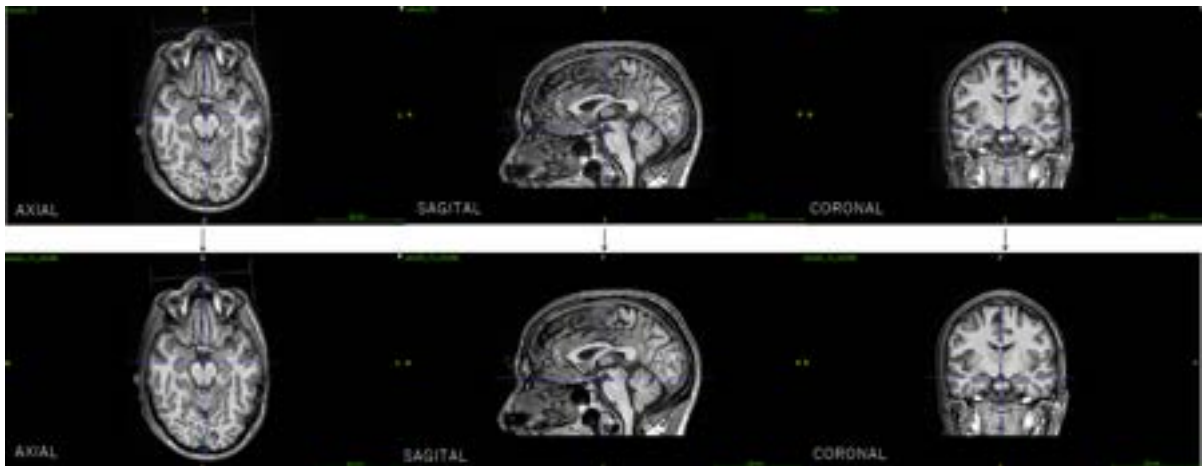


Figura 4.6: Imagen T1 antes y después de aplicarle la función *denoising*.

A continuación se muestra de manera esquematizada el proceso de obtención de las imágenes T1 pre-procesadas.

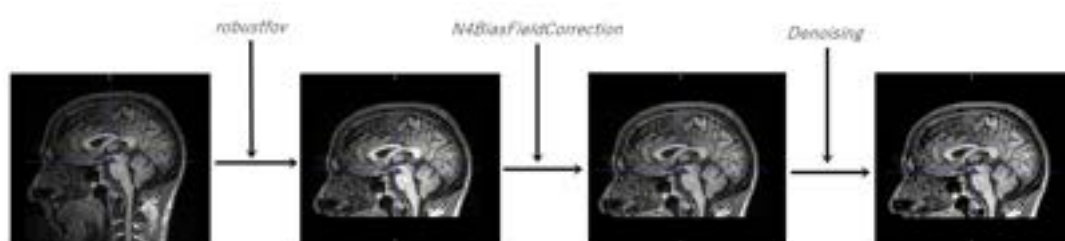


Figura 4.7: Pre-procesamiento de una imagen T1 en formato NIfTI.

4.2.3. Pre-procesamiento de imágenes en formato T1 sensibles a neuromelanina.

Para las imágenes T1 sensibles a NM, el tratamiento consistirá principalmente en reorientarlas al espacio estándar una vez convertidas al formato NIfTI. Esto será de gran ayuda a la hora de realizar los posteriores registros .

En este tipo de imágenes no se aplica ningún tipo de filtrado puesto que podrían verse afectadas por una pérdida de contraste. A diferencia de las imágenes T1 que van a ser utilizadas para corregistrar, las imágenes de T1 NM son sobre las que se realizará el proceso de segmentación. Para ese proceso es muy importante que el contraste sea el máximo posible.

Mediante el uso de la función *fslreorient2std* se lleva a cabo la reorientación:

```
fslreorient2std <orig> <dest>
```

- **orig**: Es la carpeta donde se encuentran las imágenes de T1 NM en formato NIfTI.
- **dest**: Es la carpeta donde se almacenarán las imágenes reorientadas en el espacio estándar. Recibe el nombre de T1_FSE_nmel.



Figura 4.8: Imagen T1 NM después de aplicarle la función *fslreorient2std* .

Promediado de imágenes T1 NM

En algunos casos, las imágenes de resonancia magnética (MRI) fueron tomadas en tres tiempos. Con esto se consigue que la imagen sea de mejor calidad y con menos artefactos ya que se reduce el tiempo que el paciente ha de mantenerse estático.

Es necesario realizar un promedio de estas tres imágenes para trabajar sólo con una que recibirá el nombre de: `somaXX_T1_FSE_nmel_avg.nii.gz`.

Para llevar a cabo el promediado de las tres imágenes de T1 NM, se utiliza un código separado del pre-procesamiento. Las carpetas que contienen las imágenes de entrada y salida, así como el código necesario se esquematiza a continuación:

- Carpeta **data**.
 - **T1_FSE_nmel**. Este archivo contiene carpetas con todos los sujetos. LA carpeta sirve de entrada y de salida. Dentro de cada sujeto se encuentran las imágenes T1 NM y la imagen T1 NM promedio que se obtiene.
- Carpeta **scripts**. En esta carpeta se encuentra el código que se utilizará para llevar a cabo el promedio.

Descripción detallada del código.

En el promediado de las tres imágenes se escoge la primera de las tres como imagen de referencia. Por lo tanto, se realiza el registro de la segunda y la tercera sobre la primera.

El primer paso es utilizar la herramienta *ANTS* para obtener una matriz de transformación rígida. Esta transformación es únicamente rígida ya que se trata de tres imágenes del mismo sujeto, de la misma modalidad de imagen y tomadas con un intervalo de tiempo pequeño entre unas y otras.

```
ANTS PURELY-RIGID <fixedImage> <movingImage> <output>
```

- **fixedImage**. Es la imagen de referencia sobre la que se va a realizar el registro. En este caso será la primera imagen de neuromelanina.
- **movingImage**. Es la imagen que va a ser registrada sobre la *fixedImage*. En este caso serán las imágenes dos y tres de neuromelanina.
- **output**. Se trata de a matriz de transformación.

Para hacer el registro mediante vecinos cercanos se utiliza la función *WarpImageMultiTransform* añadiendo `-use-NN` y la matriz de transformación obtenida con *ANTS*.

```
WarpImageMultiTransform <n> <movingImage>
<output> -R <fixedImage> -use-NN <matriz>
```

- **n**: Es la dimensión de las imágenes de entrada que van a ser tratadas. Para las imágenes de resonancia utilizadas la dimensión es 3 (3D).

- ***movingImage***: Las entradas de esta función son la segunda y tercera imagen de T1 NM. Esta función se codifica dentro de un bucle *for*, por lo tanto, en cada vuelta del bucle, la entrada será solamente una imagen.
- ***output***: La salida de la primera vuelta del bucle será la segunda imagen de T1 NM registrada sobre la primera. En la segunda vuelta, la imagen de salida será la tercera imagen de T1 NM registrada sobre la primera.
- ***fixedImage***: La referencia es la primera imagen de T1 NM.
- ***-use-NN matrix***: Con esta opción se aplica la interpolación de vecinos cercanos (*nearest neighbor*). La matriz es la obtenida con la herramienta *ANTS*.

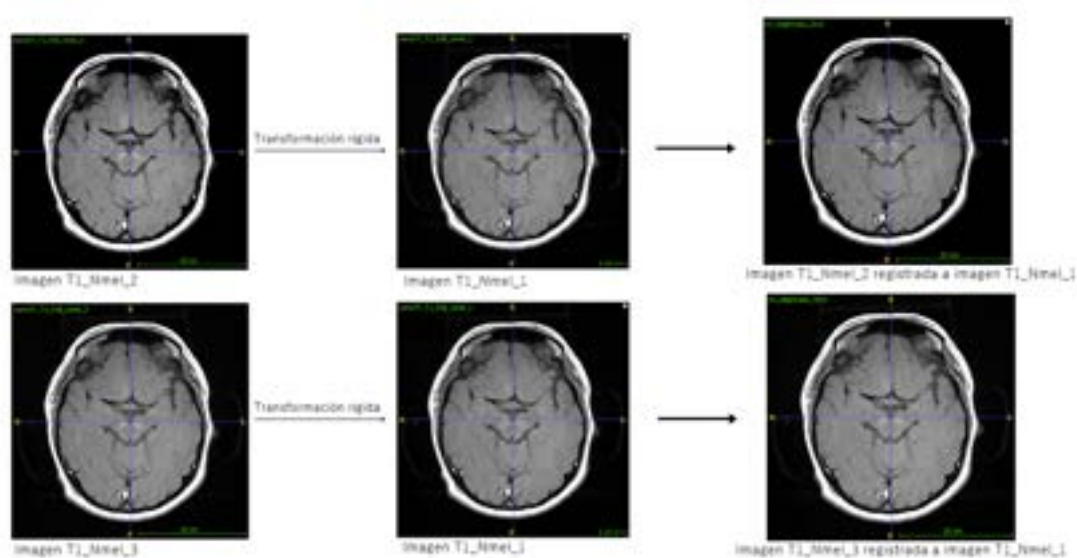


Figura 4.9: Registro rígido de las imágenes 2 y 3 de neuromelanina a la imagen 1.

Una vez que todas las imágenes hayan sido registradas, el siguiente paso es realizar el promedio de la primera imagen de neuromelanina y las dos imágenes registradas a la primera.

Primeramente hay que leer las imágenes para obtener la matriz de intensidades. Esto se puede llevar a cabo mediante diferentes funciones.

- ***MRRead***: Función de la herramienta *FreeSurfer* que puede ser utilizada con *MATLAB*. La estructura que devuelve contiene varios campos, entre ellos un *.vol* donde estará la información de la matriz de píxeles.
- ***niftiread***: Función de la herramienta *MATLAB* que devuelve datos volumétricos.

A continuación se guarda la suma de los tres volúmenes en una variable. Después se hace el promedio dividiendo entre el número de volúmenes que se hayan sumado. En todos los sujetos la división se realizará entre tres.

Por último se ha de guardar la imagen con el volumen promedio. Al igual que con la lectura de las imágenes, para la escritura también pueden utilizarse dos funciones.

- ***MRWrite***: Función de la herramienta *FreeSurfer* que puede ser utilizada con *MATLAB*.
- ***niftiwrite***: Función de la herramienta *MATLAB*.

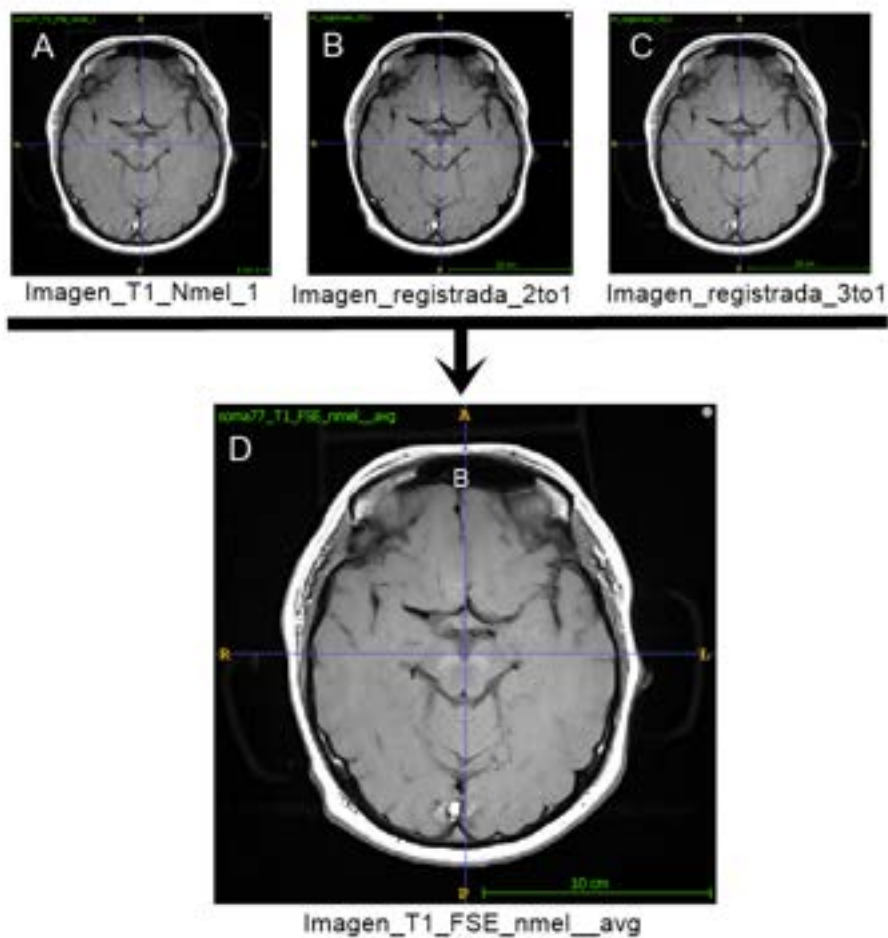


Figura 4.10: Promediado de las imágenes de neuromelanina. (A) Imagen T1_Nmel_1, imagen de referencia para los registros. (B) Imagen T1_Nmel_2 registrada sobre la A, Imagen_registrada_2to1. (C) Imagen T1_Nmel_3 registrada sobre la imagen A, Imagen_registrada_3to1. (D) Imagen promediada (avg).

En este pseudocódigo se describe de manera resumida las principales funciones que se utilizan en el script encargado de realizar el promedio de las tres imágenes de NM.

Algorithm 2 Promediado de las imágenes de neuromelanina.

Require: Tres imágenes T1 NM en formato NIfTI

Ensure: Imagen promedio T1 NM en formato NIfTI.

```

%Registro de imágenes
1: for  $i = 1$  to  $numSomas$  do
2:   if número de imágenes de NM es igual a 3 then
3:     Establecer como fixedImage la primera imagen de T1 NM.
4:     for  $j = 2$  to  $numImagNmel$  do
5:       antsaffine.sh → Registro rígido de la imagen  $j$  sobre la primera %Utilizaremos la
matriz generada
6:       WarpImageMultitransform --useNN → Registro de la imagen  $j$  sobre la primera
imagen mediante vecinos cercanos y la matriz generada anteriormente %Utilizaremos
la imagen generada
7:     end for
8:     %Hacer promedio
9:     MRIread (Primera imagen de NM)
10:    for  $k = 2$  to  $numImagNmel$  do
11:      MRIread (Imagen  $k$  de NM)
12:      Sumar matriz de intensidad de las tres imágenes (.vol de la imagen)
13:    end for
14:    Volumen total de la matriz = suma entre tres
15:    MRIwrite(Volumen total de la matriz)
16:  end if
end for

```

4.3. Registro de imágenes MRI

El registro de imágenes consiste en encontrar la mejor superposición de dos o más imágenes tomadas en diferentes instantes de tiempo, desde diferentes puntos de vista o en el caso de las imágenes médicas, de distintos pacientes.

Geoméricamente el proceso de registro de imágenes mediante transformaciones es equivalente a alinear una imagen objetivo con otra imagen, que es la imagen de referencia. Aplicar una transformación geométrica a una imagen consiste en modificar las coordenadas de sus vóxeles. De esta manera, cada punto se traslada a una nueva coordenada y la imagen original queda modificada [30]. El proceso de registro ayuda identificar estructuras equivalentes a ambas imágenes.

Algunas de las transformaciones que van a ser utilizadas son:

- Transformaciones rígidas: la imagen original se rota y se traslada, no se modifican las dimensiones ni los ángulos de los objetos. Este tipo de transformación es el que se requiere para registrar imágenes de la misma o distinta modalidad del mismo paciente.



Figura 4.11: Transformación rígida en dos dimensiones.

- Transformaciones afines: la imagen transformada conserva el paralelismo entre líneas una vez realizada la transformación. En este caso si es posible realizar cambios en las dimensiones. Este tipo de transformación se puede emplear para el registro de imágenes de diferentes pacientes.



Figura 4.12: Transformación afín en dos dimensiones.

- Transformaciones elásticas: este tipo de transformaciones no son lineales y permiten deformar elásticamente una imagen para que se parezca a la imagen de referencia. Se utilizan para modelar las diferencias entre sujetos o registrar estudios con un atlas de referencia.



Figura 4.13: Transformación elástica en dos dimensiones.

En este proyecto se van a realizar dos registros principalmente, del espacio nativo en imágenes T1 sensibles a neuromelanina al espacio MNI-152 y viceversa. Para llevar a cabo el primer registro, será necesario realizar un registro intermedio de la T1 NM a la T1 y posteriormente de la T1 al espacio MNI-152, este proceso queda detallado en la sección 4.3.1 del registro de imágenes.

- **REGISTRO DE IMÁGENES DEL ESPACIO NATIVO AL ESPACIO ESTÁNDAR MNI-152.** Este registro se va a utilizar para trabajar las segmentaciones en espacio estándar. El proceso consiste en registrar todas las imágenes del espacio nativo al espacio MNI-152. Una vez registradas tanto las imágenes de los pacientes como de los sujetos control, se hará un promedio de todas las imágenes de estos últimos. La imagen promedio se trata de un atlas probabilístico en el que se realizará el etiquetado de diferentes estructuras cerebrales como el de la sustancia negra o el mesencéfalo.
- **REGISTRO DE IMÁGENES DEL ESPACIO ESTÁNDAR MNI-152 AL ESPACIO NATIVO.** Este registro va a ser utilizado para llevar el atlas probabilístico, creado en el espacio estándar MNI-152, al espacio nativo de cada sujeto. Las matrices obtenidas en el registro de T1 NM a MNI-152 van a poder ser utilizadas de manera inversa para realizar este registro.

4.3.1. Registro de imágenes MRI del espacio nativo al espacio estándar MNI-152

El registro de las imágenes del espacio nativo al espacio estándar se resume en las siguientes partes:

1. Obtener la matriz de transformación rígida del espacio T1 NM al T1.
2. Obtener la matriz de transformación afín del espacio T1 al MNI-152.
3. Aplicar las dos matrices obtenidas a la imagen de T1 NM para registrarla al espacio MNI-152.

Localización en carpetas. Demo Registro_T1NMEL_A_MNI152

- Carpeta **data**.
 - **MNI**. En esta carpeta se encuentra la plantilla estándar, es decir, la imagen del cerebro completo en el espacio MNI-152.
 - **T1_corrected**. Contiene las imágenes en T1 pre-procesadas en el espacio nativo. Las imágenes T1 de cada sujeto servirán como corregistro, es decir, como puente para registrar las T1 NM a MNI-152.
 - **T1_FSE_nmel**. Contiene carpetas para cada sujeto, y dentro de cada sujeto existen dos archivos:
 - *Transformaciones*. Esta carpeta se creará durante el registro. Se almacenarán todas las matrices e imágenes que se calculen.
 - Imagen T1 sensible a NM del sujeto en formato *nii*: somaXX_T1_FSE_nmel_avg.nii.gz.
- Carpeta **scripts**. Contiene el código del registro de imágenes de T1 NM al espacio estándar MNI-152.

Descripción detallada del código.

OBTENER LA MATRIZ DE TRANSFORMACIÓN DEL ESPACIO DE LA T1 NM AL ESPACIO DE T1.

La diferencia principal entre las imágenes T1 y las T1 sensibles a neuromelanina es la intensidad de las estructuras cerebrales que se van a estudiar, siendo hipointensas en las T1 e hiperintensas en las T1 NM. Esta diferencia hace que el registro no pueda hacerse en base a las intensidades y sean necesarios los siguientes pasos.

En primer lugar se reconstruye el slab de T1 NM reorientándolo al espacio de T1. Esto es posible utilizando los parámetros del encabezado de la imagen T1 del cerebro completo y mediante la función *WarpImageMultiTransform*:

```

WarpImageMultiTransform <n> <input> <output>
-R <ref> -tightest-bounding-box -reslice-by-header

```

- ***n***: Es la dimensión de las imágenes de entrada que van a ser tratadas. Para las imágenes de resonancia utilizadas la dimensión es 3 (3D).
- ***input***: La entrada de esta función es el slab de T1 NM.
- ***output***: La salida es el slab de T1 NM reorientado al espacio de la imagen T1 del cerebro completo.
- ***ref***: La referencia es la imagen de T1 del cerebro completo.

En la función *WarpImageMultiTransform* se han añadido dos parámetros cuya función se explica a continuación.

- ***tightest-bounding-box*** : Calcula el cuadro delimitador que más se ajusta utilizando todas las transformaciones afines.
- ***reslice-by-header***: Utiliza la matriz de orientación y el encabezado del archivo de imagen.

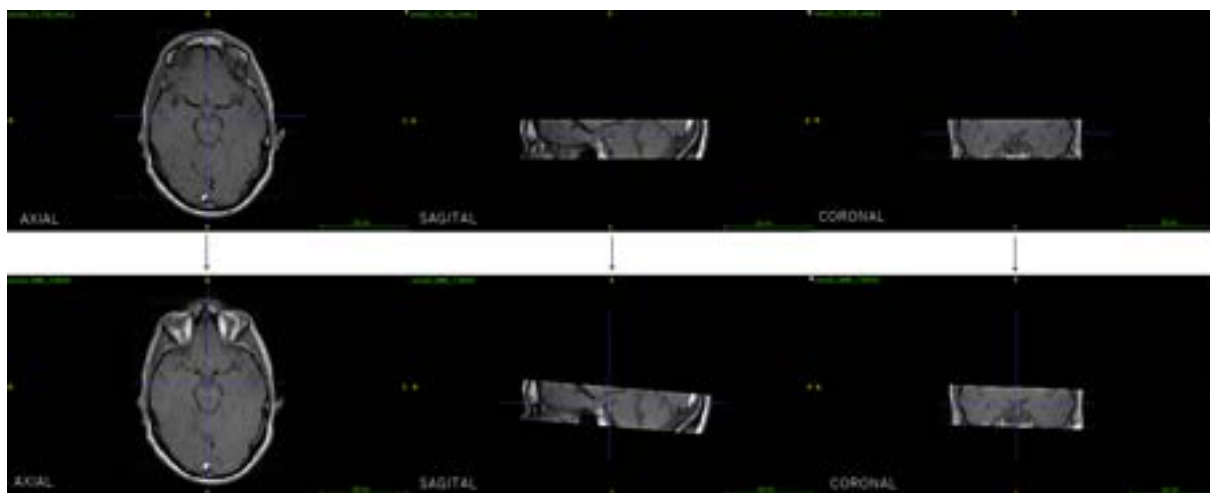


Figura 4.14: Imagen T1 NM antes y después de aplicarle el registro con *WarpImageMultiTransform* para reorientarlo al espacio T1.

Una vez obtenido el slab de T1 NM en el espacio de la imagen T1, el siguiente paso es obtener una máscara de dicho slab utilizando la función *fslmaths*:

```
fslmaths <input> -bin <output>
```

- **input**: Es la ruta de entrada a la imagen del slab de T1 NM de la que se va a realizar la máscara.
- **output**: Es la ruta de salida donde se guardará la máscara.

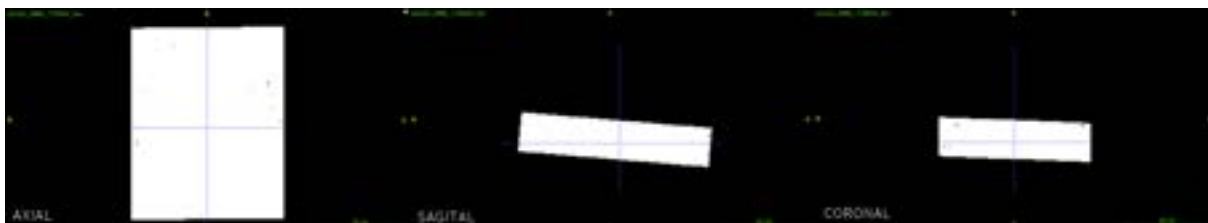


Figura 4.15: Máscara binaria del slab de T1 NM reorientado al espacio T1.

Una vez que se ha obtenido la máscara, se aplica a la imagen cerebro completo en la imagen ponderada en T1. Con este proceso se obtiene el slab de NM en la imagen de T1. También se utilizará la función *fslmaths*:

```
fslmaths <input> -mul <mask> <output>
```

- **input**: En esta ruta se encuentra la imagen de T1 del cerebro completo.
- **mask**: Es la ruta de la máscara de T1 NM en el espacio T1.
- **output**: En la ruta de salida se almacena la máscara de T1 obtenida.

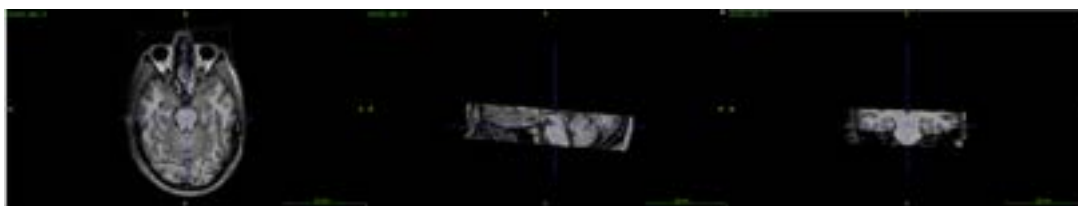


Figura 4.16: Máscara del slab de T1.

Una vez obtenida la máscara del slab de la imagen de T1, se procede a crear una matriz de transformación afín que permita registrar las imágenes del espacio de T1 NM al espacio de T1.

```
ANTS 3 -m CC[<fixedImage>, <movingImage>, <weight>, <radius>] -i 0 -o<output> -rigid-affine true
```

- **-m CC[parámetros]**: Mediante el uso de "-m" se especifica el tipo de similitud para la transformación. En este caso se utiliza la estimación "CC", *Cross correlation* o correlación cruzada en castellano, que funciona bien cuando las imágenes a registrar son de la misma modalidad. Los parámetros que se incluyen dentro son:

- *fixedImage*: Esta es la imagen del slab de T1.
 - *movingImage*: Esta es la imagen del slab de T1 NM.
 - *weight* y *radius*: Estos parámetros serán los mismos que los que aparecen en el manual de ANTs.
- **-i 0**: el valor 0 seguido de *-i* indica que la transformación es afín.
 - **output**: Es la ruta que lleva a la carpeta de *Transformaciones* de cada sujeto y donde se almacenan las matrices de transformación. En este caso se trata de la matriz que permite registrar una imagen en el espacio de T1 NM al espacio de T1.

OBTENER LA MATRIZ DE TRANSFORMACIÓN DEL ESPACIO DE T1 AL ESPACIO MNI-152.

En esta segunda parte lo primero que hay que llevar a cabo es la eliminación del cráneo y del tejido no cerebral de las imágenes que se encuentran en la carpeta *T1_corrected*, es decir, de las imágenes T1 del cerebro completo pre-procesadas. Esto es debido a que la plantilla del MNI-152 solamente está formada por el tejido cerebral. Realizando esta operación llamada skull-stripped se consigue un registro mucho más preciso. Para ello se va a hacer uso de la función *bet*:

```
bet <input> <output> -B -f 0.3 -g 0 -m
```

- **input**: Esta es la ruta en la que se almacenan las imágenes T1 del cerebro completo pre-procesadas.
- **output**: Esta es la ruta donde se guardarán las imágenes T1 una vez realizada la operación de extracción del cráneo.
- La herramienta de FSL permite añadir parámetros para personalizar la función *bet*:
 - **-B**: Reduce el sesgo de la imagen y los voxeles del cuello residuales.
 - **-f**: Indica el umbral de intensidad fraccional. Cuanto más pequeño sea su valor, más grande será el contorno del cerebro.
 - **-g**: Indica el gradiente vertical en el umbral de intensidad fraccional. Los valores positivos hacen que los contornos del cerebro sean mayores en la parte inferior y menores en la superior.
 - **-m**: Con esta opción se obtiene una máscara binaria del cerebro una vez que se ha eliminado el cráneo.

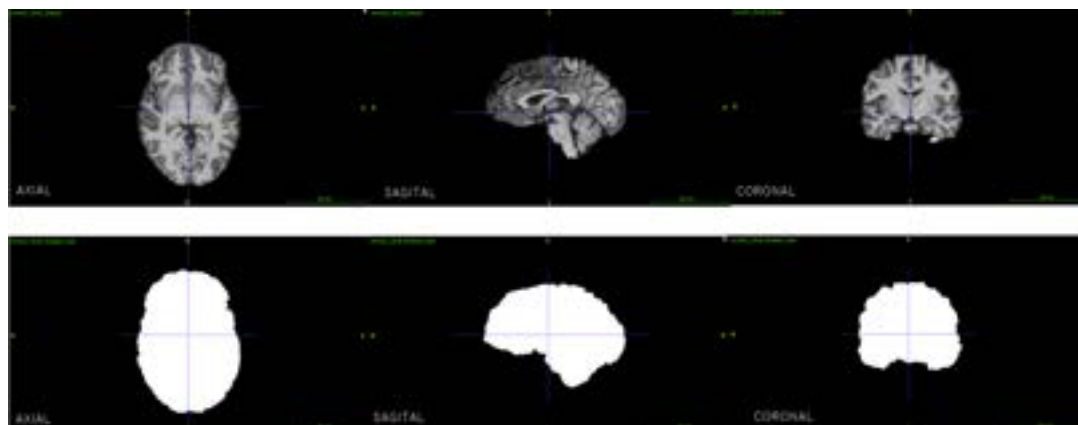


Figura 4.17: En la parte superior: Imagen T1 del cerebro completo una vez se ha realizado la extracción del cráneo y del tejido no cerebral con la función *bet*. En la parte inferior: Máscara binaria de la imagen T1 después de aplicar la extracción del cráneo gracias a la opción *-m*.

El siguiente paso una vez eliminado el cráneo y el tejido no cerebral de la imagen de T1 del cerebro completo, consiste en obtener la matriz de transformación del espacio T1 al MNI-152.

```
ANTS 3 -m CC[<fixedImage>, <movingImage>, <weight>,
<radius>] -t SyN[0.25] -i 30x30x20 -o<output>
```

- ***-m CC[parámetros]***: Mediante el uso de “*-m*” se especifica el tipo de similitud para la transformación. En este caso se utiliza la estimación “*CC*”, *Cross correlation* o correlación cruzada en castellano, que funciona bien cuando las imágenes a registrar son de la misma modalidad. Los parámetros que se incluyen dentro son:
 - *fixedImage*: Esta es la imagen del slab de T1.
 - *movingImage*: Esta es la imagen del slab de T1 NM.
 - *weight* y *radius*: Estos parámetros serán los mismo que los que aparecen en el manual de ANTs.
- ***-i 0***: el valor 0 seguido de *-i* indica que la transformación es afín.
- ***output***: Es la ruta que lleva a la carpeta de *Transformaciones* de cada sujeto y donde se almacenan las matrices de transformación. En este caso se trata de la matriz que permite registrar una imagen en el espacio de T1 NM al espacio de T1.

APLICAR LAS MATRICES DE TRANSFORMACIÓN OBTENIDAS A LAS IMÁGENES DE T1 NM PARA REGISTRARLAS AL ESPACIO MNI-152

Una vez obtenidas las dos matrices de transformación, se utilizará de nuevo la función *WarpImageMultiTransform* que permite encadenar varias transformaciones en una única llamada a la función.

```
WarpImageMultiTransform <n> <input> <output>
-R <fixedImage> <warp> <matriz1> <matriz2>
```

- **n** : Es la dimensión de las imágenes de entrada que van a ser tratadas. Para las imágenes de resonancia utilizadas la dimensión es 3 (3D).
- ***input***: La entrada de esta función es el slab de T1 NM, que es la que se quiere registrar.
- ***output***: La salida es el slab de T1 NM registrado al espacio MNI-152.
- ***-R fixedImage***: Con la opción *-R* se indica el dominio en el que se quiere deformar, en este caso el MNI-152.
- A continuación se añaden las transformaciones que se quieren realizar. El sentido de su aplicación es de derecha a izquierda, por lo tanto:
 - ***matriz2***: Es la matriz de transformación del espacio T1 NM al T1.
 - ***matriz1***: Es la matriz de transformación del espacio T1 al MNI-152.
 - ***warp***: Imagen donde cada vóxel es un vector que apunta desde la imagen fija a la imagen de entrada.



Figura 4.18: Imagen T1 NM registrada al espacio estándar MNI-152.

Algorithm 3 REGISTRO DE IMÁGENES T1 NM AL ESPACIO MNI-152.

Require: Imágenes T1 NM y T1 del mismo sujeto en espacio nativo.

Ensure: Imágenes T1 NM en espacio MNI-152.

```

1: for  $i = 1$  hasta numelementos do
2:   OBTENER MATRIZ DE TRANSFORMACIÓN DE T1 NM A T1.
   { 1. Reorientar slab T1 NM en el espacio T1.}
3:   "WarpImageMultiTransform --reslice --by --header"
   { 2. Crear máscara binaria del slab obtenido.}
4:   "fslmaths --bin"
   { 3. Aplicar la máscara a la imagen T1 del cerebro compeltto.}
5:   "fslmaths --mul"
   { 4. Obtener la matriz de transformación afín de T1 NM a T1.}
6:   "ANTS --rigid --affine"
7:   OBTENER MATRIZ DE TRANSFORMACIÓN DE T1 A MNI-152.
   { 1. Realizar extracción del cráneo y tejido no cerebral de la imagen T1.}
8:   "bet" → "Skull striped T1_SS"
   { 2. Obtener la matriz de transformación de la imagen T1_SS al espacio MNI-152.}
9:   "ANTS 3 -m CC -t SyN"
10:  APLICAR LAS MATRICES DE TRANSFORMACIÓN A LAS IMÁGENES T1 NM.
11:  "WarpImageMultiTransform"
12: end for

```

4.3.2. Registro de imágenes MRI del espacio estándar MNI-152 al espacio nativo

El registro de imágenes del espacio MNI-152 al espacio nativo se va a realizar principalmente sobre las ROIs que se han etiquetado en el espacio estándar.

Este método de segmentación se basa en delinear las etiquetas de las estructuras cerebrales según el atlas probabilístico creado con el promedio de las imágenes de sujetos sanos una vez se han registrado en el espacio estándar. De esta manera, la creación de ROIs se hace una única vez y se registra sobre todos los sujetos que se van a estudiar.

Como el registro del espacio nativo en T1 NM a MNI-152 se ha realizado anteriormente, se van a utilizar las matrices de transformación inversas. Mediante el uso de *WarpImageMultiTransform*:

```
WarpImageMultiTransform <n> <input> <outImage> -R
<fixedImage> -i <matriz1> -i <matriz2> <invWarp>
```

- ***n***: Es la dimensión de las imágenes de entrada que van a ser tratadas. Para las imágenes de resonancia utilizadas la dimensión es 3 (3D).
- ***input***: La entrada de esta función es la imagen (ROI) creada en el espacio MNI-152.
- ***output***: La salida es la imagen (ROI) en el espacio nativo T1 NM de cada sujeto.
- ***-R fixedImage***: Con la opción *-R* se indica el dominio en el que se quiere deformar, en este caso el espacio nativo T1 NM de cada sujeto.
- A continuación se añaden las transformaciones que se quieren realizar. El sentido de su aplicación es de derecha a izquierda, por lo tanto:
 - ***invWarp***: Imagen inversa a la imagen donde cada vóxel es un vector que apunta desde la imagen fija a la imagen que se quiere registrar.
 - ***-i matriz2***: Es la matriz de transformación del espacio T1 al MNI-152. La opción *-i* indica que es la matriz inversa.
 - ***matriz1***: Es la matriz de transformación del espacio T1 NM al T1. La opción *-i* indica que es la matriz inversa.

Algorithm 4 REGISTRO DE ROIs DEL ESPACIO MNI-152 AL ESPACIO NATIVO EN T1 NM.

Require: ROIs en el espacio MNI-152.

Ensure: ROIs en el espacio nativo de cada sujeto T1 NM.

```

1: for  $i = 1$  hasta numelementos do
2:   Para cada sujeto crear carpeta Transformaciones
   % ROI DE LA SUSTANCIA NIGRA
3:   input → ROI de la SN en el espacio MNI-152
4:   outImage → ROI de la SN en el espacio nativo T1 NM
5:   fixedImage → Imagen T1 NM
6:   invWarp → Imagen inversa del warp
7:   MatAff_T12MNI → Matriz de transformación afín de T1 a MNI
8:   MatAff_NM2TI → Matriz de transformación afín de T1 NM a T1
9:   "WarpImageMultiTransform"
   % ROI DE LOS PEDÚNCULOS CEREBRALES
10:  input → ROI de los PC en el espacio MNI-152
11:  outImage → ROI de los PC en el espacio nativo T1 NM
12:  fixedImage → Imagen T1 NM
13:  invWarp → Imagen inversa del warp
14:  MatAff_T12MNI → Matriz de transformación afín de T1 a MNI
15:  MatAff_NM2TI → Matriz de transformación afín de T1 NM a T1
16:  "WarpImageMultiTransform"
   % SEGMENTACIÓN MANUAL DEL MESENCÉFALO
17:  moving_image → Segmentación del mesencéfalo en el espacio MNI-152
18:  outImage → Segmentación del mesencéfalo en el espacio nativo
19:  fixedImage → Imagen T1 NM
20:  invWarp → Imagen inversa del warp
21:  MatAff_T12MNI → Matriz de transformación afín de T1 a MNI
22:  MatAff_NM2TI → Matriz de transformación afín de T1 NM a T1
23:  "WarpImageMultiTransform"
24: end for

```

4.4. Segmentaciones de la SN y del LC

La enfermedad de Parkinson (EP) se caracteriza por una pérdida de neuromelanina (NM) que se encuentra en las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra (SN) [10] y del locus coeruleus (LC). Por esta razón, la identificación de la degeneración de la SN y del LC mediante imágenes MRI sensibles a neuromelanina puede ayudar en el diagnóstico de la enfermedad [1]. Una vez que las imágenes de T1 sensibles a neuromelanina han sido pre-procesadas se puede llevar a cabo la identificación de las estructuras cerebrales y sus cambios morfológicos por medio de técnicas de segmentación.

Una imagen es un conjunto de píxeles que se caracterizan por la posición y el nivel de intensidad en la escala de grises. Las técnicas de segmentación consisten en dividir la imagen en regiones homogéneas. La homogeneidad de una región puede clasificarse por características como la intensidad o la textura pero también por la funcionalidad, permitiendo separar distintas zonas estructurales del cerebro. Por lo tanto, en la segmentación cada píxel tendrá una etiqueta asignada en función a la región a la que pertenezca.

4.4.1. Segmentación de la sustancia nigra

La primera región cerebral que va a ser segmentada es la sustancia nigra. Para llevar a cabo la segmentación, primero se crean las ROIs necesarias y posteriormente, se segmenta. El etiquetado manual de las regiones de referencia en cada uno de los sujetos que participan en el estudio, es un trabajo laborioso en el que se ha de invertir gran cantidad de tiempo y que da lugar a una gran variabilidad debido a los sesgos de la persona que las está creando. Por este motivo, el proyecto diverge en dos líneas de trabajo cuya principal diferencia es dónde se lleva a cabo el etiquetado de las ROIs y el número de veces que hay que realizarlas. El objetivo es determinar cuál de las dos metodologías da lugar a un mejor biomarcador de la enfermedad.

- **Segmentación semiautomática.** Esta línea de trabajo consiste en **delinear las ROIs en el espacio nativo de cada sujeto**. Una vez terminado el proceso de etiquetar las ROIs, la segmentación se realiza de manera automática mediante un valor umbral. Este umbral impone el rango de intensidades en la escala de grises a partir del cual se diferencia la región que se quiere segmentar del resto de estructuras o regiones de la imagen.
- **Segmentación automática.** En la segunda línea de trabajo, **se realizará un único etiquetado de cada ROI en un espacio estándar**, el MNI-152, y se registrará al espacio nativo de cada sujeto. Una vez registradas las ROIs, el proceso de segmentación se realiza en función a un valor umbral, al igual que en el primer método.

Para facilitar la comprensión de la metodología que se va a llevar a cabo, se muestra a continuación un esquema de cómo está organizada esta sección del trabajo.

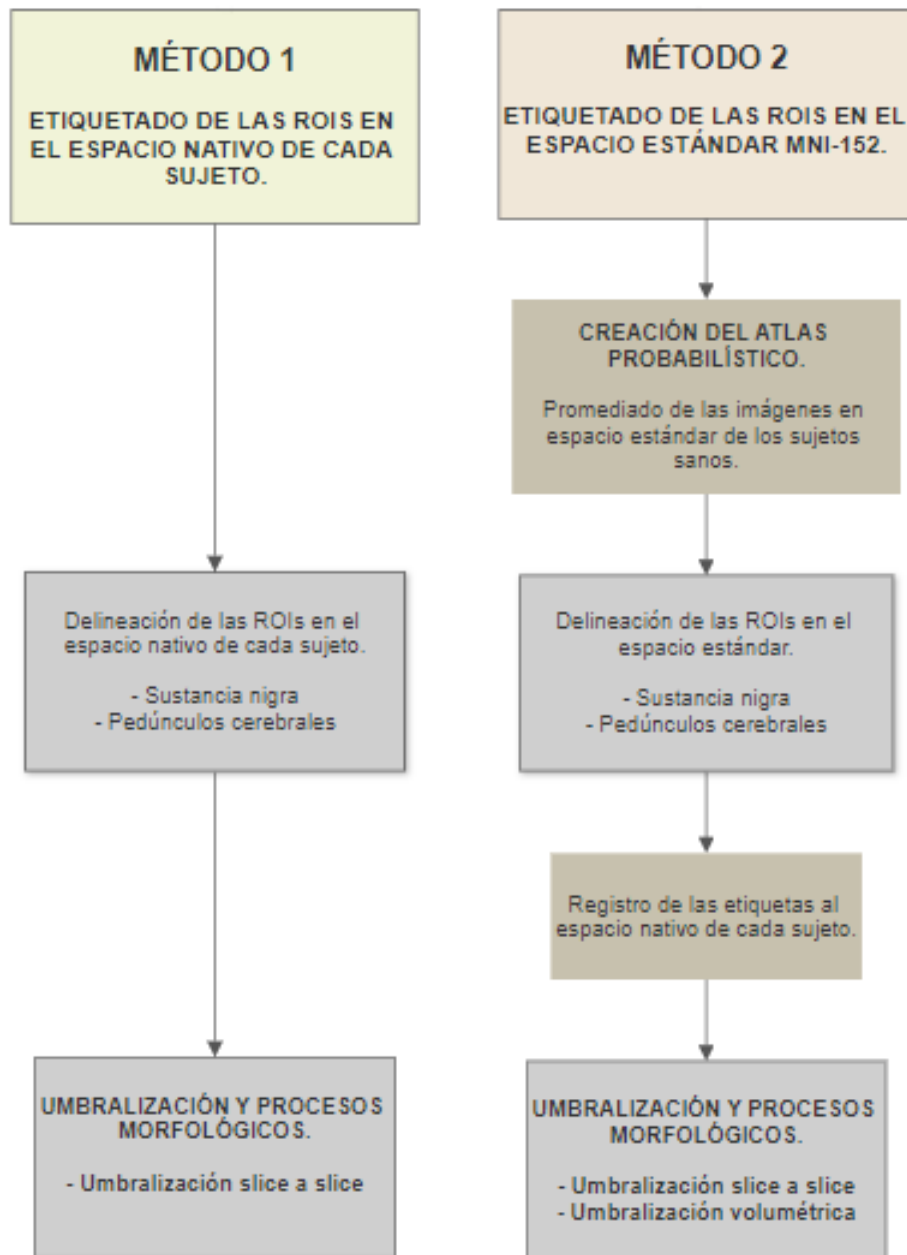


Figura 4.19: Esquema del procedimiento de la segmentación de la SN.

SEGMENTACIÓN SEMIAUTOMÁTICA DE LA SUSTANCIA NIGRA

Para llevar a cabo la segmentación semiautomática de la sustancia nigra se sigue el procedimiento expuesto en estudios anteriores como el de [2] y de [10]:

- Definir la región de interés de la sustancia nigra que será utilizada en la umbralización para determinar los límites de la segmentación. La forma será variable en función de la sustancia nigra de cada sujeto. De forma general en el plano axial la región se asemeja a una media luna.
- Definir la región de interés de los pedúnculos cerebrales como círculos de 4mm de diámetro [2].
- Definición de un mapa binario para cada uno de los slices en los que se han realizado las ROIs de la SN. Este mapa binario está formado por los píxeles de la región del mesencéfalo cuya intensidad de señal sea superior a:

$$MN_{PC} + 3 X SD_{PC} \quad (4.1)$$

donde MN_{PC} y SD_{PC} son la media y la desviación típica de la intensidad de la ROI colocada en los pedúnculos cerebrales [10]. Con este umbral y la región de referencia de la SN se obtiene la segmentación de esta última.

Para este proyecto se ha tomado como referencia un estudio anterior [5], que utilizaba parte de las imágenes que van a ser segmentadas a continuación. En este trabajo se estudiaba la modificación del valor que multiplica a la desviación estándar mediante una variable (α). Se concluía que el el valor más preciso para este grupo de imágenes era $\alpha=2$, por tanto el umbral utilizado para la segmentación será:

$$MN_{PC} + 2 X SD_{PC} \quad (4.2)$$

donde MN_{PC} y SD_{PC} son la media y la desviación típica de la intensidad de la ROI colocada en los pedúnculos cerebrales.

CREACIÓN DE LAS REGIONES DE INTERÉS (ROIs)

Los criterios tomados a la hora de delinear las ROIs son principalmente la localización de la región cerebral y los cambios de intensidad en la escala de grises entre las diferentes regiones y tejidos.

Para segmentar la sustancia nigra son necesarias las ROIs en la propia región de la SN y también, las ROIs situadas en los pedúnculos cerebrales. Las ROIs de los PC son las conocidas como *background* puesto que es una región que no se ve influenciada en su morfología con la enfermedad de Parkinson.

Región de interés de la SN

Es fundamental situar de manera precisa la ROI en el espacio. En el cerebro humano, la sustancia nigra se encuentra en ambos hemisferios en una región conocida como mesencéfalo, localizado en tronco encefálico. En el plano axial, el límite superior es el comienzo del diencéfalo y el límite inferior es el final del puente. Se muestra en la figura 4.47.

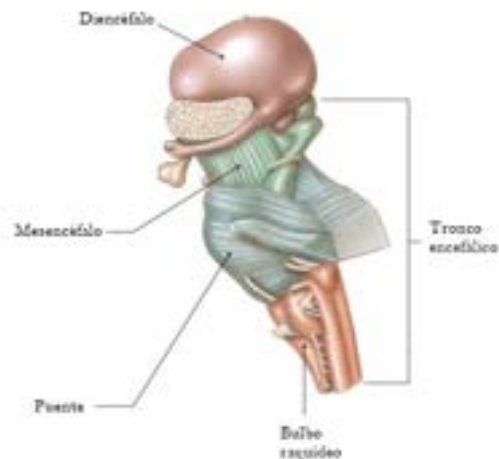


Figura 4.20: Imagen anatómica del tronco encefálico. Imagen modificada de [49].

La sustancia nigra se encuentra dorsalmente a los pedúnculos cerebrales y se extiende sobre el eje rostrocaudal a lo largo del mesencéfalo. Ver Anexo D.2 para más información sobre la terminología de la orientación en anatomía.



Figura 4.21: Vista posterior del tronco encefálico y plano axial del mesencéfalo. Imagen modificada de [49].

La creación de las máscaras se realiza de forma manual en el espacio nativo de cada sujeto. Esto tiene como inconveniente lo expuesto anteriormente, es decir, la variabilidad debido a el gran número de repeticiones que hay que hacer y el tiempo requerido.

En cualquiera de los tres planos anatómicos sería válida su delineación, aunque en este trabajo se realizará en el plano axial ya que es en el que se puede observar con mayor claridad. Ver Anexo D.1 para más información sobre los planos anatómicos.

Otra cuestión importante en cuanto a la localización, es el número de slices que hay que etiquetar ya que no hay un protocolo estricto que estime el número correcto. El hecho de que el estudio se realice en el espacio nativo implica una gran variabilidad entre sujetos y por este motivo no se fija un número de rodajas. En

base a la experiencia de realizar todas las etiquetas para las imágenes de este proyecto, se ha fijado un intervalo no muy amplio de tres o cuatro slices por cada sujeto.

Una vez identificada su localización de manera precisa, se procede a delinear su contorno. El objetivo es seleccionar los píxeles que delimitan la frontera de la región de interés en base a los cambios de intensidad. Se trata de una ROI de inclusión, de manera que se garantiza que la SN se encuentra dentro del etiquetado aun no siendo la región exacta.

La sustancia nigra es rica en neuronas dopaminérgicas que contienen neuromelanina y tendrá una mayor intensidad que el tejido del mesencéfalo que la rodea en las imágenes ponderadas en T1 sensibles a neuromelanina. En la figura 4.22 se puede observar el cambio de intensidad en la frontera que delimita dos tejidos diferentes.

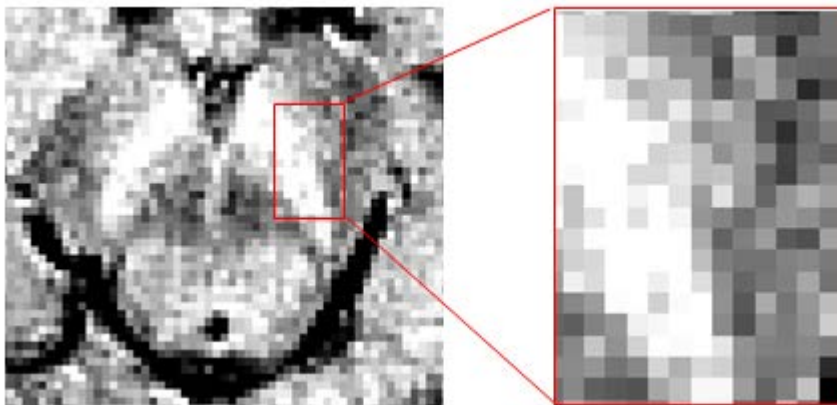


Figura 4.22: Diferencia de intensidades de la escala de grises en la frontera de distintas regiones en una imagen de neuromelanina.

A continuación se exponen de manera simplificada los pasos que hay que llevar a cabo para delinear las ROIs:

1. Ajustar el contraste de la imagen de neuromelanina hasta que se pueda observar con claridad la zona a segmentar, en este caso la SN (figura 4.23).

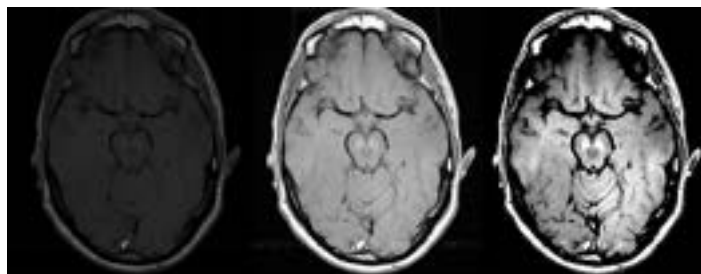


Figura 4.23: Ajuste de contraste mediante la herramienta de ITK-SNAP.

2. Elegir los slices sobre los que se extiende la región de la sustancia nigra teniendo como referencia que son entre 3 y 4 slices en el espacio nativo. Es importante

tener en cuenta que la SN es una estructura que posee continuidad. Por lo tanto, el etiquetado también ha de ser continuo desde la abajo hasta arriba.

3. Ampliar la región de interés en cada slice para mejorar la precisión (figura 4.24).

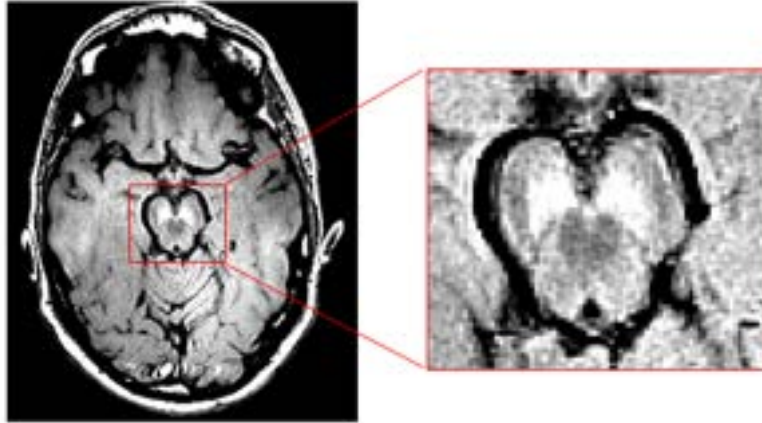


Figura 4.24: Ampliación de la región del mesencéfalo.

4. La ROI se realizará sobre el contorno, haciendo que no quede ningún voxel perteneciente a la SN fuera del etiquetado. El grosor de la ROI será mayor que el de la SN pero no contendrá ningún pixel que no pertenezca al mesencéfalo. Se utiliza un etiquetado diferente para la SN izquierda y derecha, de esta manera se facilita el futuro estudio de los biomarcadores (figura 4.25).
5. Una vez realizada la máscara de ambos hemisferios se guarda en la misma carpeta que la imagen de NM con el nombre de: somaXX_label_NAT.nii.gz .

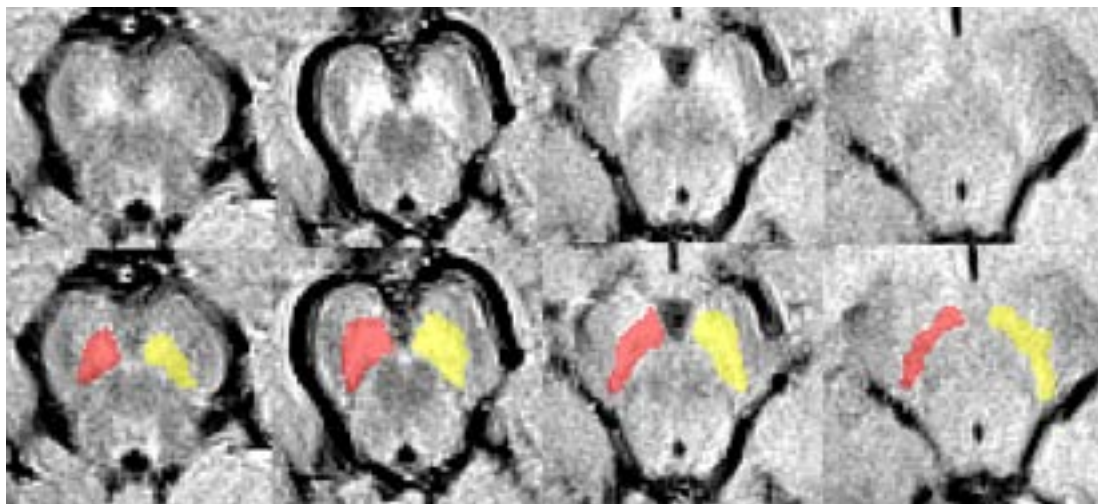


Figura 4.25: Etiquetado de la SN en el espacio nativo.

En la figura 4.26 se muestra el resultado de las ROI de la sustancia nigra en los tres planos anatómicos en un sujeto junto con una reconstrucción 3D del tejido o estructura cerebral.

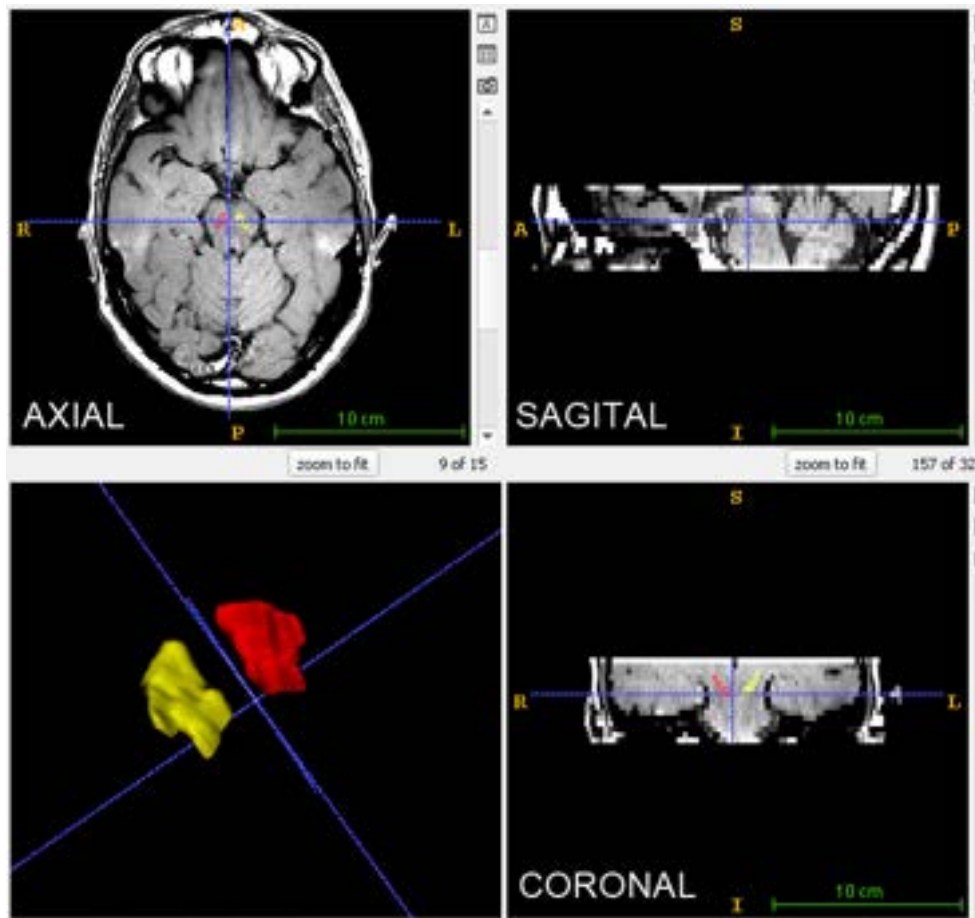


Figura 4.26: Máscara de la SN en los tres planos anatómicos sobre imagen de neuromelanina. Reconstrucción 3D.

Región de interés de los pedúnculos cerebrales.

Los pedúnculos cerebrales son un haz de fibras nerviosas con forma cilíndrica separados entre sí por una fosa interpeduncular. Son estructuras encargadas de unir y comunicar el mesencéfalo con el cerebro. Se localizan en su totalidad en la parte anterior del mesencéfalo. Al igual que la sustancia nigra, en el cerebro humano, los pedúnculos cerebrales se encuentran en los dos hemisferios.

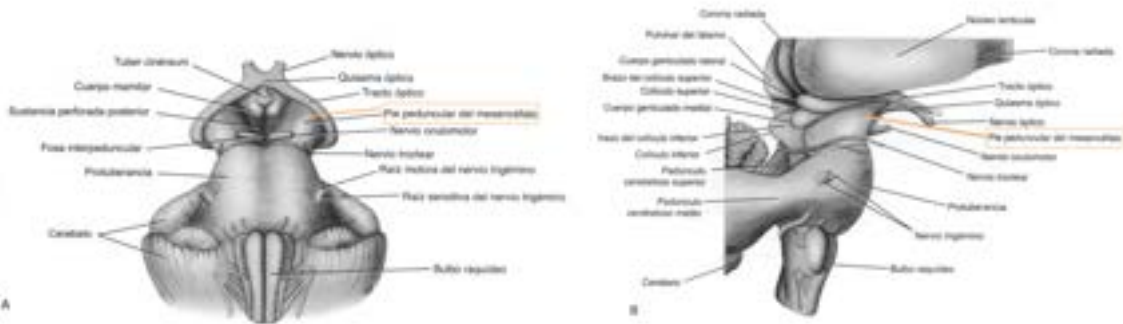


Figura 4.27: Localización de los pedúnculos cerebrales. (A) Vista anterior y (B) vista lateral. [60]

Los pedúnculos cerebrales están formados por materia blanca por lo tanto, tendrán un menor nivel de intensidad en las imágenes ponderadas en T1 sensibles a neuromelanina que el tejido contiguo, que es la sustancia nigra. En el plano axial (figura 4.28) de las imágenes T1 NM, el contorno del mesencéfalo se puede diferenciar con bastante facilidad en la mayoría de los slices puesto que el tejido que lo rodea se observa con un color negro.

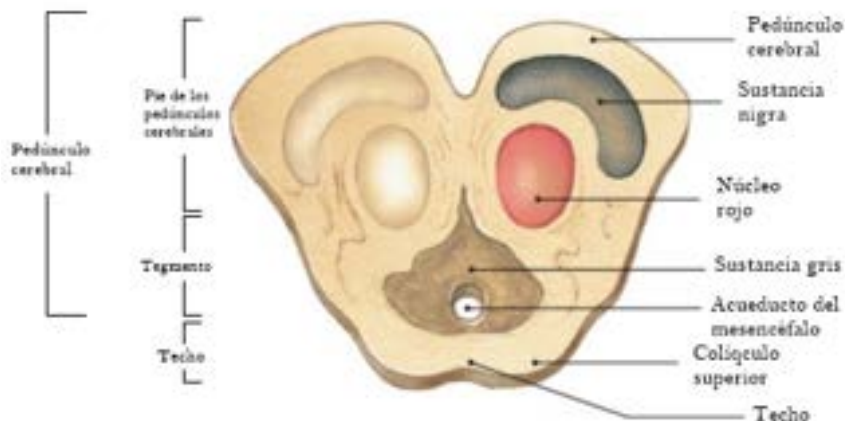


Figura 4.28: Partes del mesencéfalo en la vista axial. Imagen modificada de [49].

Para realizar las ROIs de los pedúnculos cerebrales en el espacio nativo se utilizan circunferencias de 4mm como se detalla en [10]. La localización precisa de estas circunferencias dentro de la región de los pedúnculos cerebrales no tiene una metodología explícita. Por lo tanto, el único requisito necesario es que se sitúe en el pie de

los pedúnculos cerebrales, justo entre el contorno del mesencéfalo y el comienzo de la sustancia nigra sin llegar a ocupar esta última región. Tampoco ha de superponerse con la ROI de la SN. En este caso la diferencia de intensidades dentro de la región de interés no será significativa.

El número de slices en los que hay que realizar el etiquetado de los pedúnculos irá en función de cada sujeto. Como se ha anotado en la creación de las ROIs de la SN, el número puede variar en función del sujeto entre 3 y 4 slices. El etiquetado de los pedúnculos cerebrales se realizará en el mismo número de slices que se haya realizado la ROI de la sustancia nigra.

A continuación se exponen de manera simplificada los pasos que hay que llevar a cabo para la colocación de las ROIs:

1. Ajustar el contraste de la imagen de neuromelanina hasta que se pueda observar con claridad la zona del mesencéfalo y de la SN ya que en este caso son los límites que hay que tener en cuenta.
2. El número de slices a etiquetar viene dado por el número de slices que se hayan segmentado de la SN para cada sujeto. Por lo tanto, este modelo de ROI en 3D de los pedúnculos cerebrales tendrá forma de tubo.
3. Ampliar la región de interés en cada slice para mejorar la precisión.
4. La ubicación de la ROIs de los PC tiene gran variabilidad puesto que no ocupan la totalidad de la región. Por lo tanto, los círculos han de quedar siempre dentro de los límites expuestos anteriormente y con cierta continuidad para conseguir esa forma de tubo mencionada anteriormente. Se utiliza un etiquetado diferente para cada hemisferio.
5. Una vez realizada la ROI de ambos hemisferios se guarda en la misma carpeta que la imagen de NM con el nombre de: somaXX_NAT_ROI_PC.nii.gz.

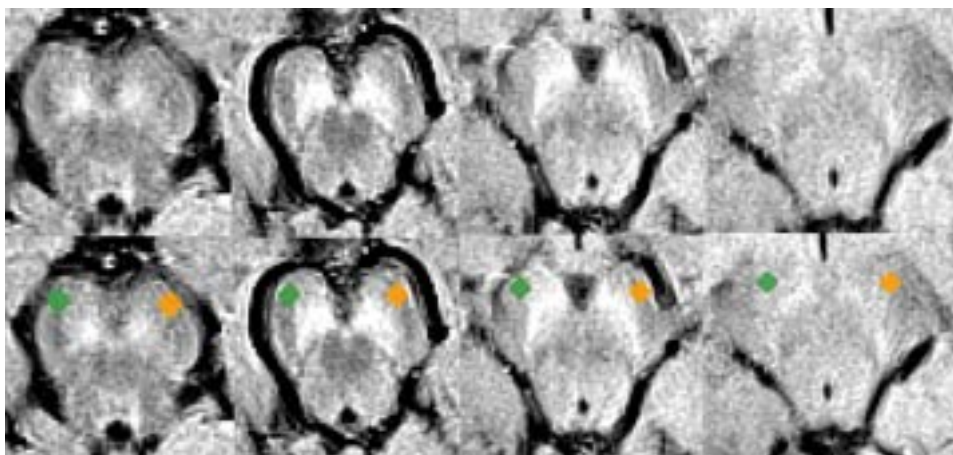


Figura 4.29: Etiqueta de los pedúnculos cerebrales en el espacio nativo.

En la figura 4.30 se muestra el resultado de la ROI de los pedúnculos cerebrales en los tres planos anatómicos. Al igual que en el caso de la SN, se puede observar la reconstrucción en 3D de la ROI. Es importante recalcar que en este caso la ROI no coincide con la región completa de los pedúnculos cerebrales, sino que solo es una pequeña porción de la misma. Más adelante se realizará un estudio sobre la significancia de la colocación de las circunferencias en la región.

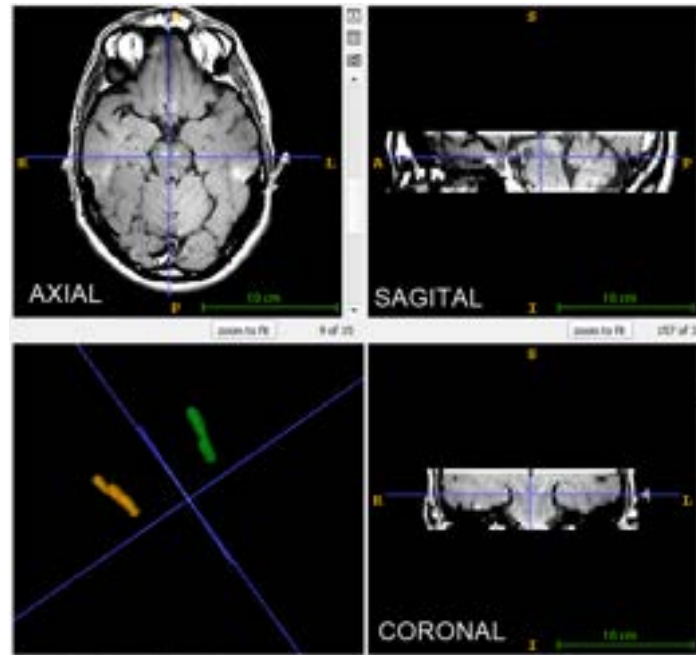


Figura 4.30: ROI de los pedúnculos cerebrales en los tres planos anatómicos sobre imagen de neuromelanina en el espacio nativo. Reconstrucción 3D.

SEGMENTACIÓN DE LA SN MEDIANTE UMBRALIZACIÓN Y PROCESOS MORFOLÓGICOS

La segmentación de la SN se lleva a cabo una vez obtenidas las ROIs de la SN y de los PC. Se utiliza un script elaborado con la herramienta MATLAB que se encarga de seleccionar de manera automática los píxeles que pertenecen a la sustancia nigra en base a un umbral de intensidad.

En este script se lleva a cabo la parte automática de la segmentación de la sustancia nigra. El proceso queda dividido en dos partes que se encuentran descritas en dos funciones distintas, llamadas desde un script principal, *getSEG-SN* :

- **Función *segPrev*.** Se obtiene una segmentación previa en la que se elabora un mapa binario con los vóxeles que superan el umbral establecido en los que se ha realizado el etiquetado de la SN. Como resultado se obtienen 3 o 4 slices, dependiendo del sujeto, con un mapa binario en toda la imagen.

Umbralización slice a slice. En la umbralización slice a slice, se obtiene un umbral de los pedúnculos cerebrales de cada slice y se aplica a ese mismo slice para obtener la segmentación de la SN.

- **Función *segClear*.** El siguiente paso es una segmentación para limpiar todos aquellos vóxeles que no pertenezcan a la SN.

Localización en carpetas. DEMO_UMBRALIZACIÓN

- Carpeta **data**.
 - **NATIVO**. Esta carpeta contiene las carpetas con todos los sujetos. Dentro de la carpeta de cada sujeto:
 - *Imagen T1_FSE_nmel_avg*.
 - *Imagen de la ROI de la SN*.
 - *Imagen de la ROI de los PC*.
- Carpeta **scripts**. Esta carpeta contiene los siguientes archivos:
 - **Script** con el código que llama a las funciones de segmentación previa y de segmentación final.
 - **AUXILIAR**. Esta carpeta contiene a su vez:
 - *Script segPrev*. Este script tiene como entrada las ROIs y la imagen de T1 NM. Como salida, una imagen con una segmentación previa que consiste en un mapa binario obtenido tras la umbralización y la aplicación de los procesos morfológicos.
 - *Script segClear*. Este script tiene como entrada la imagen binaria obtenida con *segPrev*, el objetivo es hacer la limpieza de los vóxeles que no pertenecen a la SN.
 - *Carpeta SEGMENTACIONES_PREVIAS*. En ella se almacenan las imágenes que se obtienen con el script *segPrev*. Y que a su vez van a ser la entrada del script *segClear*.

Segmentación previa - *segPrev.m*

Datos de entrada y salida del script.

Los datos de entrada de la segmentación previa son:

- Imagen de T1 neuromelanina.
- Imagen de la máscara de la sustancia nigra.
- Imagen de la ROI de los pedúnculos cerebrales.

Los datos de salida de esta segmentación son imágenes con un mapa binario con el etiquetado sobre toda la imagen en los slices donde se encuentra la sustancia nigra.

Estas segmentaciones previas se guardarán en una carpeta para su posterior limpieza:

- Carpeta **AUXILIAR**:

Carpeta **SEGMENTACIONES_PREVIAS**. Se guardarán las segmentaciones previas obtenidas con las ROIs creadas en espacio nativo.

Descripción detallada del código.

El primer paso consiste en leer la imagen de T1 sensible a neuromelanina. También se realiza la lectura de las ROIs que van a ser utilizadas. El objetivo de la lectura de dichas imágenes es obtener su matriz de intensidades:

```
IMG = niftiread(pIMG)
ROI = niftiread(pROI)
```

donde *pIMG* es la ruta a la imagen de T1 NM y *pROI* es la ruta a la imagen de la ROI de los PC. La función *niftiread* pertenece a la herramienta MATLAB.

Con la función *zeros* se crea una matriz auxiliar para guardar el resultado de la segmentación previa tras aplicar la umbralización. Esta matriz ha de ser de las mismas dimensiones que la imagen de neuromelanina:

```
SegP = zeros(size(IMG))
```

donde *IMG* es la matriz de intensidades de la imagen de T1 NM obtenida tras la lectura de la misma.

En la segmentación de este método, la umbralización se realiza slice a slice. Es decir, para obtener el mapa binario de cada slice se utiliza la ROI de los PC de ese mismo slice. Por este motivo, es necesario realizar un bucle que recorra todos los slices. En el bucle se realizan las siguientes operaciones:

1. Extracción de cada slice, tanto de la imagen T1 NM como de la ROI, con el que se va a trabajar en la iteración del bucle:

```
slice_IMG = double(IMG(:,:,j))
slice_ROI = ROI(:,:,j)
```

2. Se obtiene una matriz binaria con 1s en las posiciones tanto de la ROI del PC derecha (*level_CP_IZQ*) como de la izquierda (*level_CP_DCH*) y 0s en el resto de los voxels. Posteriormente, mediante el proceso de indexación de matrices, es posible obtener un vector con los valores de intensidad en la imagen de T1 NM (*slice_IMG*) donde se localizan los 1s de la matriz *slice_ROI*.

```
slice_ROI = (slice_ROI == level_CP_IZQ || slice_ROI == level_CP_DCH )
I_slice_ROI = double(slice_IMG(slice_ROI))
```

3. Con los valores de intensidad, se calcula el umbral que va a ser utilizado para crear el mapa binario en la imagen de T1 NM.

```
MEAN = mean(I_slice_ROI)
SD = std(I_slice_ROI)
T_slice = MEAN + (POND * SD)
```

donde *POND* es el valor de α que se ajusta para obtener la segmentación de la SN óptima.

4. Por último, todos los vóxeles que superen el umbral obtenido (T_{slice}) serán guardados en la matriz creada previamente $SegP$ (Figura 4.32.A).

```
SegP(:,:,j) = slice_IMG > T_slice
```

Una vez realizadas todas las iteraciones del bucle $SegP$ contendrá un mapa binario umbralizado en aquellos slices en los que se encuentre la SN.

A continuación, antes de eliminar todos los vóxeles que no pertenecen a la SN ($segClear.m$) se realiza una limpieza previa mediante operadores morfológicos.

En primer lugar, se elige la vecindad que se va a aplicar en la segmentación. La variable $NHOOD$ es una matriz que contiene 1s y 0s. Aplicando dicha matriz a la función $strel$ se obtiene la variable se que es una estructura que contiene la vecindad.

```
NHOOD = true (1,2,1)
se = strel('arbitrary',NHOOD)
```

Por último, se aplican los operadores morfológicos de apertura y cierre.

Operador de apertura ($imopen$). La apertura binaria elimina todos los objetos que no se encuentran completamente contenidos en el elemento estructurante (figura 4.32.B).

```
afterOpening = imopen(SegP,se)
```

Operador de cierre ($imclose$). El cierre binario morfológico hace que se rellenen los huecos y que el contorno de los objetos se suavicen (figura 4.32.C).

```
afterClosing = imclose(afterOpening,se)
```

El resultado de la umbralización se almacena con $niftiwrite$ para posteriormente realizar la limpieza de vóxeles que no pertenecen a la SN.

```
niftiwrite(uint16(afterClosing),path,niftiinfo(pROIcp),'Compressed',true)
```

donde $path$ será la ruta donde se almacenan las imágenes. La información con la que se guardan las imágenes será la misma que contiene el encabezado de la imagen de la ROI de los pedúnculos cerebrales.

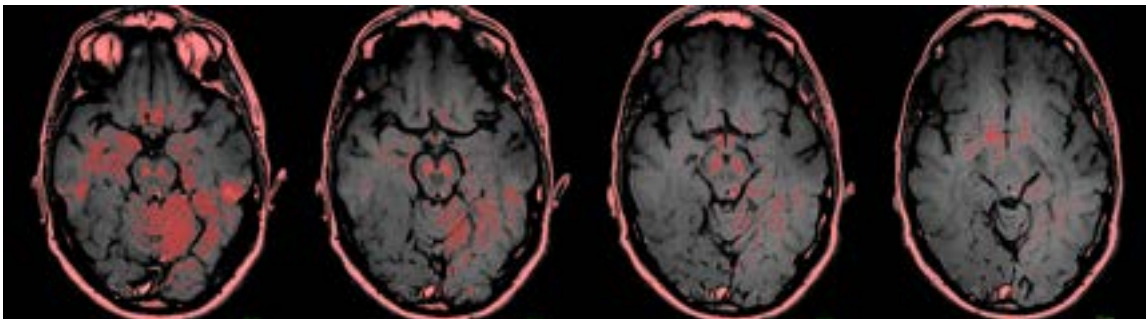


Figura 4.31: Imágenes obtenidas después de la segmentación previa de un sujeto con 4 slices segmentados, visualizadas con ITK-SNAP. El color rojo representan los vóxeles que han superado el umbral establecido.

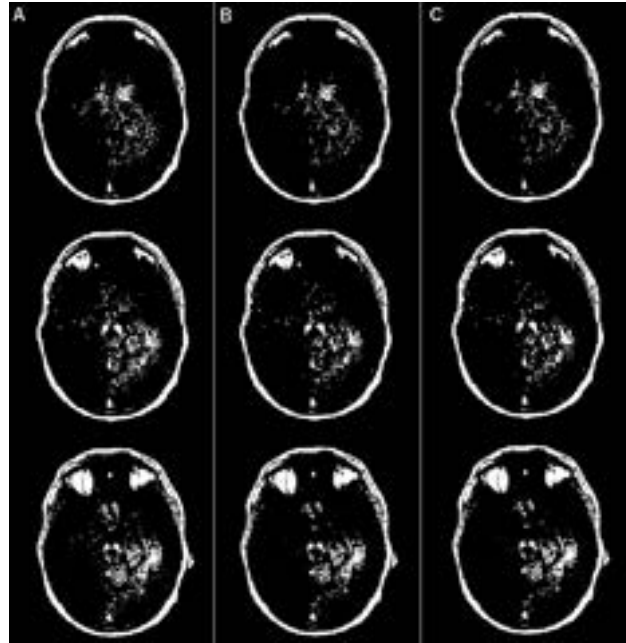


Figura 4.32: Imágenes obtenidas después de la segmentación previa de un sujeto con 3 slices segmentados, visualizadas en MATLAB. (A) Imagen umbralizada. (B) Imagen después de aplicar *imopen*. (C) Imagen después de aplicar *imclose*.

Algorithm 5 Segmentación previa de la SN mediante las ROIs delineadas en el espacio nativo.

Require: Imagen T1 NM, ROIs delineadas en el espacio nativo.

Ensure: Imagen con una segmentación previa.

```

% Bucle para recorrer todos los somas.
1: for  $i = 1$  to  $numel(listIMG)$  do
2:   if número soma de la imagen T1 NM == número soma imagen ROI PC then
3:     Obtener ruta concreta de la imagen de T1 NM y de los PC.
4:     Lectura de las imágenes  $\rightarrow niftiread$ 
       % UMBRALIZACIÓN SLICE A SLICE
       % Bucle para recorrer el plano axial.
5:     for  $j = 1$  to  $size(IMG, 3)$  do
6:       Crear una variable de cada slice de la T1 NM  $\rightarrow slice\_IMG = double(IMG(:,:,j))$ ;
7:       Crear una variable de cada slice de la ROI PC  $\rightarrow slice\_ROI = ROI(:,:,j)$ ;
       {Asignar las etiquetas de la ROI de los pedúnculos cerebrales}
8:        $slice\_ROI = (slice\_ROI == level\_CP\_IZQ \text{ — } slice\_ROI == level\_CP\_DCH)$ ;
       {Obtener valor umbral }
9:       Media de la ROI  $\rightarrow mean$ 
10:      Desviación estándar de la ROI  $\rightarrow std$ 
11:      Umbral = media + (POND * desviación estándar)
       {Aplicar el umbral al slice de la imagen de T1 NM}
12:      Todos los vóxeles de la imagen T1 NM  $\geq$  umbral establecido  $\rightarrow$  Guardar en variable
       {Aplicar operadores morfológicos}
13:      Elegir la vecindad que se va a aplicar en la segmentación
14:      Obtener estructura con la vecindad elegida  $\rightarrow strel(arbitrary, NHOOD)$ ;
15:      Aplicar operador apertura a imagen SegP  $\rightarrow imopen$ 
16:      Aplicar operador de cierra a imagen obtenida con la apertura  $\rightarrow imclose$ 
17:      Guardar imagen de la segmentación previa  $\rightarrow niftiwrite$ 
18:     end for
19:   end if
20: end for

```

Segmentación de limpieza de vóxeles - `segClear.m`**Datos de entrada y salida del script.**

Los datos de entrada de la segmentación de limpieza son:

- Imagen obtenida en la segmentación previa.
- Imagen de T1 neuromelanina.
- Imagen ROI de los pedúnculos cerebrales.
- Imagen de la máscara de la SN.

Los datos de salida son las imágenes de la SN segmentada. Se almacenan en una carpeta llamada *SEGMENTACIONES* que se encuentra dentro de la carpeta de *scripts* con el nombre de `somaXX_label_NAT.nii.gz`.

Descripción detallada del código.

En este procedimiento se va a trabajar únicamente con los slices en los que se encuentra la SN. Por lo tanto, se crea una variable de tipo estructura donde se guardarán dichos slices. En estas nuevas variables se realizarán los procesos morfológicos y la limpieza de vóxeles.

```
slices.SNc(1,numel(listIMG)) = struct('id',[],'img',[],'ROIcc',[],
'maskSNc_dcha',[],'maskSNc_izda',[],'segPrev',[],'newSeg',[])
```

donde `numel(listIMG)` es el número total de sujetos que se van a segmentar. Los diferentes campos de la estructura son el identificador `id`, la imagen de T1 NM `img`, la imagen de la ROI de los pedúnculos cerebrales `ROIcc`, la máscara de la SN del hemisferio derecho `maskSNc_dcha` e izquierdo `maskSNc_izda`, la segmentación previa `segPrev` y por último una variable donde se almacenará la segmentación final `newSeg`.

Una vez creada la estructura, se realiza la lectura de las imágenes de entrada que van a utilizarse en este apartado mediante la función `niftiread`:

```
IMG = niftiread(pIMG)
SEG = niftiread(pSeg)
ROI = niftiread(pROI)
MASK = niftiread(pMask)
```

donde `pIMG`, `pSeg`, `pROI` y `pMask` son las rutas donde se encuentran las imágenes. `IMG`, `SEG`, `ROI` y `MASK` son las matrices de intensidad que se obtienen tras la lectura de las imágenes.

El siguiente paso es obtener los slices donde se encuentra la SN, para ello se realiza un bucle que recorra todos los slices. Dentro del bucle se realizan dos operaciones:

- Guardar en una variable nueva el slice con el que se va a trabajar en cada iteración.

```

slice_SEG = double(SEG(:,:,j))
slice_ROI = ROI(:,:,j)
slice_IMG = IMG(:,:,j)
slice_MASKdcha = (MASK(:,:,j)==label_SNc_RIGHT)
slice_MASKizda = (MASK(:,:,j)==label_SNc_LEFT)

```

- Para saber en qué slices se encuentra la sustancia nigra se utiliza la segmentación previa. En caso de que exista segmentación previa, dicho slice se guardará en una variable de la estructura creada anteriormente.

```

if(sum(slice_SEG(:))>0)
slices_SNc(i).segPrev(:,:,k)=slice_SEG
slices_SNc(i).ROIcc(:,:,k)=slice_ROI
slices_SNc(i).img(:,:,k)=slice_IMG—
slices_SNc(i).maskSNc_dcha(:,:,k)=slice_MASKdcha
slices_SNc(i).maskSNc_izda(:,:,k)=slice_MASKizda
end

```

Posteriormente se procede a realizar la eliminación de vóxeles. Este proceso se lleva a cabo primero para la SN del hemisferio derecho y después para la SN del hemisferio izquierdo.

En primer lugar se realiza *AND* lógico de la segmentación previa (figura 4.33.A) y la máscara de la SN delineada manualmente (figura 4.33.B). Con esta operación se consigue eliminar la mayor parte de los vóxeles que no pertenecen a la región que hemos definido como máscara. Mediante un bucle for que se recorre dos veces:

```

Seg = slices_SNc(i).segPrev & slices_SNc(i).maskSNc_dcha

Seg = slices_SNc(i).segPrev & slices_SNc(i).maskSNc_izda

```

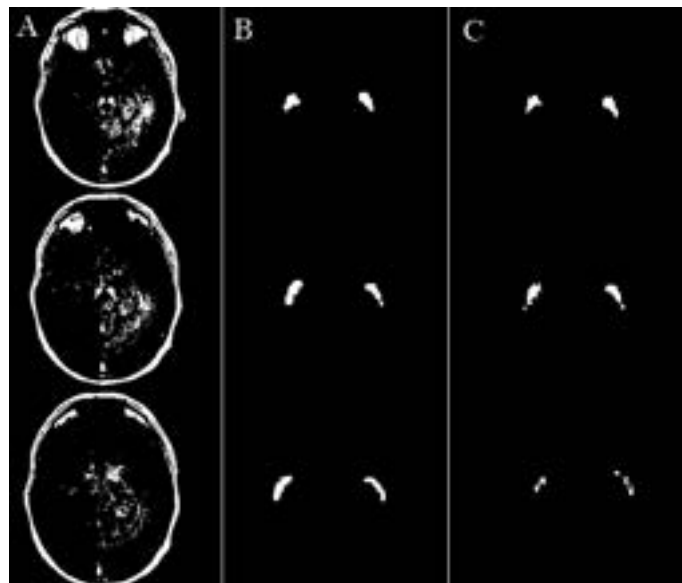


Figura 4.33: (A) Imagen umbralizada en el script *segPrev*. (B) Imagen de la máscara de la SN. (C) Imagen con la que se va a trabajar.

A continuación, se aplican los procesos morfológicos para conseguir la segmentación óptima. La máscara de la SN que se realizó manualmente delimita la frontera de la misma. Aún así es posible que queden vóxeles residuales que no pertenezcan a la estructura cerebral. Por este motivo, se etiquetan todos los objetos que se encuentran en la imagen que se ha guardado en la variable *Seg* mediante *bwlabeln*. Con el etiquetado, la imagen ya no será binaria de 1s y 0s, sino que tendrá tantos valores de etiquetas como objetos contenga.

```
Seg = bwlabeln(Seg)
```

Se obtienen las propiedades de cada uno de los elementos mediante *regionprops*, concretamente el área y las coordenadas que delimitan la caja de cada elemento (*BoundingBox*):

```
B_seg = regionprops(Seg,'BoundingBox','Area')
```

De todos los elementos que contenga la imagen, solo es importante el de mayor tamaño. El siguiente paso consiste en ordenar con la función *sort* las áreas de los objetos de manera descendente y de esta manera trabajar únicamente con el primer elemento, que será el de mayor área.

```
area = zeros(numel(BB_seg),1)

for z=1:numel(BB_seg)
area(z)=BB_seg(z).Area;
end

[~,index] = sort(area,'descend')
```

Mediante el bucle se guardan todos los objetos y finalmente se ordenan.

Por último, se obtiene una segmentación de la SN del hemisferio derecho en la primera iteración y del hemisferio izquierdo en la segunda iteración guardando en la variable *segPrev* únicamente el elemento de mayor área que se encuentra en la variable *Seg*:

```
segPrev=Seg==(index(1));
```

Una vez realizadas las dos iteraciones, se guardan en una variable llamada *segFin* y se procede al etiquetado de cada una de las sustancias nigras de cada hemisferio:

```
segFin = double(segFin)
segFin(auxDcha)=label_SNc_RIGHT
segFin(auxIzda)=label_SNc_LEFT
```



Figura 4.34: La imagen izquierda representa la segmentación final de las SN de los dos hemisferios, en sujeto cuya SN se visualizaba en tres slices. En la imagen de la derecha aparece la segmentación etiquetada. Visualización con la herramienta MATLAB.

Durante todo este proceso se ha trabajado únicamente con los slices donde se podía observar la SN. Para poder guardar la imagen de la segmentación es necesario volver a darle las dimensiones que tenía la imagen original.

En primer lugar se crea una variable donde guardar el resultado final del mismo tamaño que la imagen T1 de neuromelanina:

```
slice_segFIN = zeros(size(IMG))
```

A continuación, se buscan los slices en los que hay segmentación y se guardan en la variable creada anteriormente:

```
k=1; for j = 1 : size(IMG,3)
aux=SEG(:,:,j)
if(sum(aux(:))>0)
slice_segFIN(:,:,j)= segFin(:,:,k)
k=k+1
end
end
```

Por último se guarda la imagen con la función *niftiwrite*:

```
niftiwrite(uint16(slice_segFIN),path,niftiinfo(pROIcc),'Compressed',true)
```

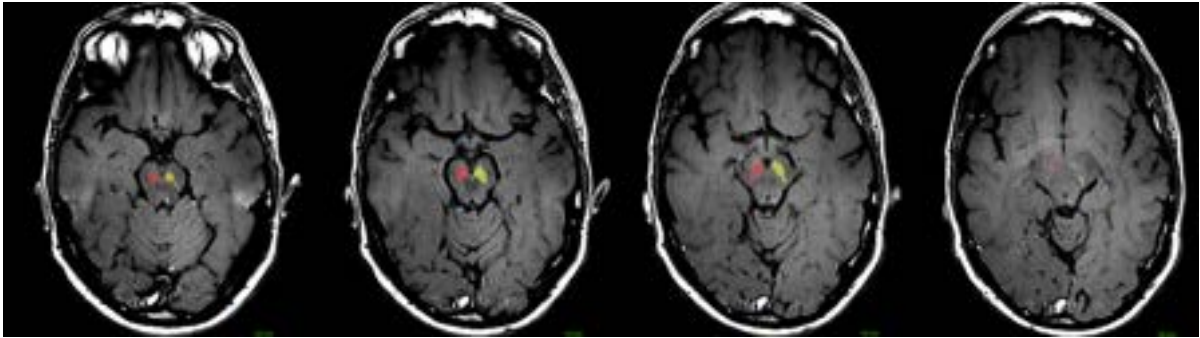


Figura 4.35: Imagen final de una segmentación semiautomática de la región de la SN de un sujeto en el que la SN se visualizaba en cuatro slices. Imagen visualizada con ITK-SNAP.

Algorithm 6 Segmentación final de la SN.

Require: Imágenes T1 NM, segmentación previa, máscara SN y ROI de los PC

Ensure: Imagen segmentación SN.

```

    % Creación de una estructura con múltiples campos para guardar las imágenes
    % con las que se van a trabajar.
    % Bucle para recorrer todos los somas.
1: for  $i = 1$  to  $numel(listIMG)$  do
2:   Lectura de las imágenes de entrada  $\rightarrow niftiread$  { Bucle para obtener los slices en los
   que es visible la SN y guardarlos en la estructura creada. }
3:   if Si existe segmentación previa en el slice then
4:     Se guarda en la variable correspondiente de la estructura
5:   end if
6: end for
    % Eliminación de vóxeles mediante AND lógico
7: Seg = ( Segmentación previa & máscara de la SN derecha)
8: Seg = ( Segmentación previa & máscara de la SN izquierda)
    % Búsqueda del elemento con mayor área
9: Etiquetado de la variable Seg  $\rightarrow bwlabeIn$ 
10: Características de la imagen Seg  $\rightarrow regionprops$ (Seg,'BoundingBox','Area')
11: Iniciación de variable con el mismo número de elementos que tenga la imagen Seg  $\rightarrow ze-$ 
    ros(numel(BB_seg),1);
12: for  $z = 1$  to  $numel(BB\_seg)$  do
13:   Guardar los elementos de la imagen Seg en la variable creada
14: end for
15: Ordenar los elementos de mayor a menor tamaño  $\rightarrow sort$ (area,'descend')
16: Guardar en variable segPrev el elemento de mayor tamaño
    % Etiquetado de las segmentaciones
    % Redimensionar la imagen de la segmentación final para que su tamaño coincida
    con el de la imagen de T1 NM
17: Guardar segmentación final  $\rightarrow niftiwrite$ 

```

SEGMENTACIÓN AUTOMÁTICA DE LA SUSTANCIA NIGRA

Para llevar a cabo la segmentación en este método automático es necesario crear un atlas probabilístico del cerebro. El objetivo es realizar el etiquetado de cada estructura cerebral un única vez y reducir el tiempo que hay que invertir en la creación de las ROIs del método semiautomático.

Utilizar la imagen probabilística del cerebro para delinear tanto la ROI de la SN como la de los PC, hace que se considere un método automático a pesar de realizarlas manualmente. Posteriormente, se registran ambas regiones a todos los espacios nativos de cada sujeto. Una vez que se han obtenido las ROIs en el espacio nativo, se procede a realizar la umbralización y los procesos morfológicos para obtener la segmentación.

El procedimiento de la segmentación es muy parecido al expuesto anteriormente. No obstante, a continuación se detalla y se señalan las diferencias con este primer método.

CREACIÓN DEL ATLAS PROBABILÍSTICO EN EL ESPACIO ESTÁNDAR

Los atlas cerebrales permiten localizar estructuras anatómicas y funcionales del cerebro en sujetos diferentes a los que componen el atlas. En el caso de los atlas probabilísticos se generan plantillas anatómicas que contienen información de las variaciones entre sujetos en la arquitectura del cerebro [23].

Para crear el atlas se siguen los siguientes pasos:

1. Se realiza el registro de las imágenes en el espacio nativo de los sujetos control al espacio estándar MNI-152. Este proceso ha sido explicado previamente en la sección 4.3.1 .
2. Una vez registradas se realiza un promedio de todas ellas. Esta imagen promedio será sobre la que realice el etiquetado de las ROIs.

Las carpetas que componen la demo de la creación del atlas, quedan descritas a continuación:

- Carpeta **data**. Esta carpeta contiene las imágenes de los sujetos control que han sido registradas al espacio MNI-152.
- Carpeta **scripts**. Esta carpeta contiene el script para realizar el promedio y la imagen promedio final.
 - Script *Promedio_HC*.
 - Carpeta *Promedio20HC*. En ella se almacena la imagen final.

Documentación atlas probabilístico.

Para crear el atlas, en primer lugar creamos una variable del mismo tamaño de la imágenes den el espacio MNI-152, en ella se guardará el volumen final:

```
hdr_ref=zeros(218,182,182)
```

A continuación, el siguiente paso es leer todas las imágenes que van a ser promediadas. Mediante un bucle que recorre todos los sujetos control se realiza la lectura con la función *MRRead* de la herramienta *FSL*. Además, como se trata de un promedio se añadirá un contador de todos los sujetos que se lean.

Con la función *MRRead* obtenemos una estructura con la información de la imagen. El promedio se realiza con la matriz de intensidades en la escala de grises que se encuentra en el *.vol* de la estructura.

```
hdr_tmp=MRRead(pathSuj)
hdr_ref=hdr_ref +hdr_tmp.vol
contador=contador+1
```

Una vez realizadas todas las iteraciones del bucle, guardamos la suma en el *.vol* de una variable. Y posteriormente, se divide entre el número total de sujetos utilizados.

```
hdr_tmp.vol=hdr_ref
hdr_tmp.vol=
hdr_tmp.vol/contador
```

Por último, se guarda la imagen final mediante la función de *FSL*:

```
MRWrite(hdr_tmp,fileAvg)
```

donde *fileAvg* es la ruta donde se va a guardar la imagen.

Algorithm 7 Promediado de imágenes en el espacio estándar MNI-152.

Require: Imágenes T1 NM en el espacio MNI-152 de los sujetos control (HC).

Ensure: Imagen promedio de los sujetos control en el espacio MNI-152.

```
% Añadir ruta para utilizar funciones de FreeSurfer
1: addpath('/usr/local/freesurfer/matlab/');
% Inicializar variables
2: contador=0;
3: hdr_ref=zeros(218,182,182);
% Bucle que recorra todos los sujetos sanos
4: for i = 1 to numel(listSuj_Nmel) do
5:   Leer imagen y guardar en variable (hdr_tmp)→ MRRead
6:   Guardar en variable hdr_ref la suma de hdr_ref y hdr_tmp.vol
7:   Sumar uno al contador
8: end for
```

CREACIÓN DE LAS REGIONES DE INTERÉS (ROIs).

Región de interés de la SN en el espacio MNI-152.

Para realizar el etiquetado de la SN se sigue el mismo procedimiento que el expuesto para la máscara en el espacio nativo en 4.4.1. La resolución del espacio estándar es de $1 \times 1 \times 1$, esto hace que el número de slices a segmentar sea mayor como se muestra en en la figura 4.36 .

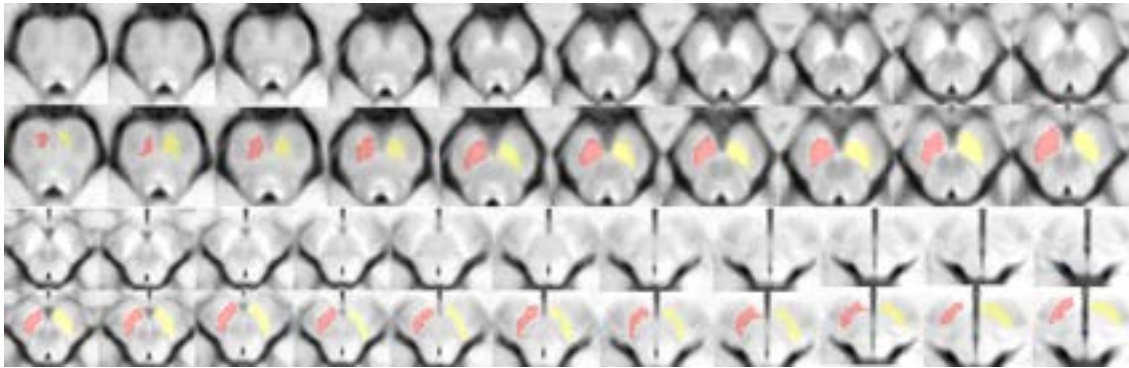


Figura 4.36: Etiquetado de la SN en el espacio estándar MNI-152.

Al igual que para el etiquetado en el espacio nativo, mediante el uso de la herramienta ITK-SNAP es posible mostrar la ROI en los tres planos anatómicos y además la reconstrucción en 3D.

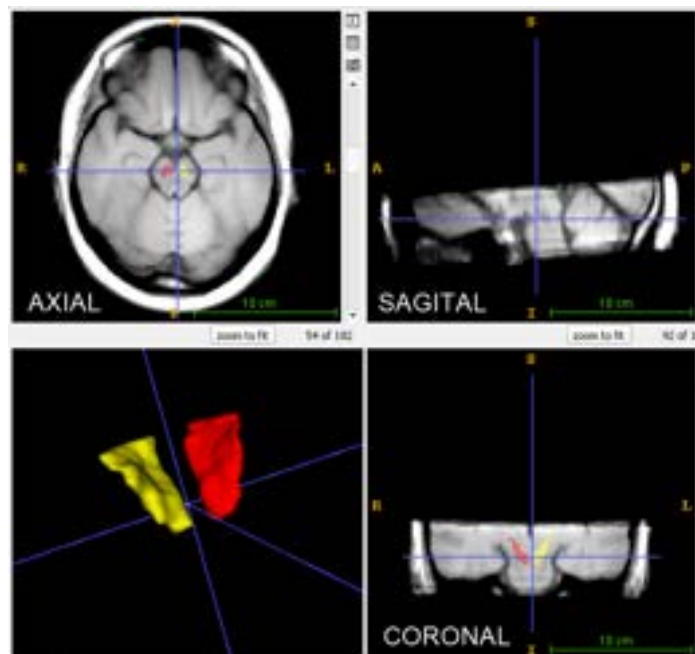


Figura 4.37: ROI de la SN en los tres planos anatómicos sobre imagen de neuromelanina en espacio estándar MNI-152. Reconstrucción 3D.

Región de interés de los pedúnculos cerebrales en el espacio MNI-152.

Para llevar a cabo el etiquetado de los pedúnculos cerebrales por este método, se seguirá el mismo procedimiento que para la ROI de la SN en el espacio estándar.

En este caso, utilizando la imagen promedio de los sujetos control en el espacio MNI-152 se llevará a cabo la delineación de diferentes modelos de ROI de pedúnculos cerebrales. Posteriormente se realiza el estudio de la significancia que tiene la localización de dichas ROIs en la segmentación final de la SN.

La creación de diferentes modelos se lleva a cabo únicamente en este método debido a la estandarización que posee el espacio MNI-152. Es importante recalcar que el simple hecho de realizar el etiquetado en el espacio nativo ya proporciona la variabilidad que se pretende generar al realizar los distintos modelos en el espacio estándar.

A continuación se explica la diferencia entre los diferentes modelos de pedúnculos cerebrales:

1. El número de slices etiquetados depende del modelo utilizado, ya no depende del número de slices en los que se visualiza la SN. A pesar de esto, en ningún modelo se ha colocado un etiquetado en los PC si no era visible la SN.
2. La localización también varía en función del modelo. No obstante, los límites frontera para poder situar la ROI siguen siendo los mismos ya que se han de situar en el mesencéfalo sin sobresalir de su contorno y antes de llegar a la SN, sin superponerla.

El primer modelo consiste en un tubo a cada hemisferio. El segundo modelo es parecido al primero pero añadiendo un tubo en cada hemisferio. Estos tubos se consiguen colocando slice a slice una circunferencia de manera que se consiga una continuidad. El número de slices segmentados para estos dos modelos es el mismo número de rodajas que para la ROI de la SN.

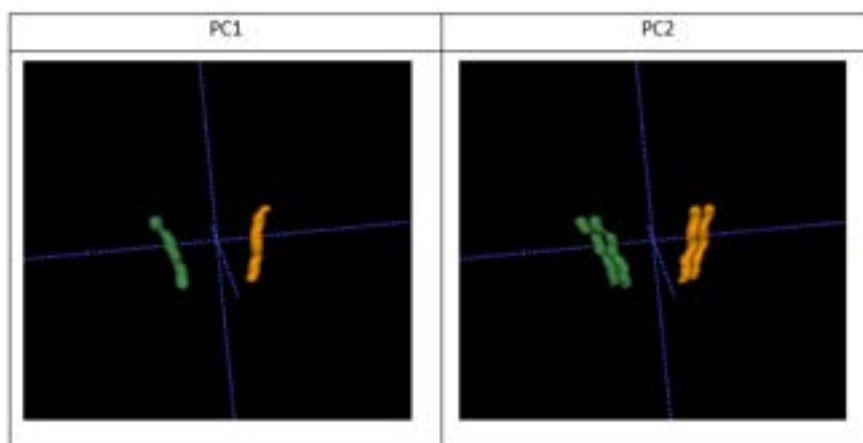


Figura 4.38: Modelos de pedúnculos cerebrales realizados slice a slice PC1 y PC2.

El resto de modelos se realizan utilizando esferas 3D con la herramienta de ITK-SNAP. La diferencia entre los distintos modelos será el número de esferas y el número de slices etiquetados.

Los modelos PC3, PC4 y PC5 están formados por una, dos y 3 esferas 3D, respectivamente. Todas ellas situadas en un único slice.

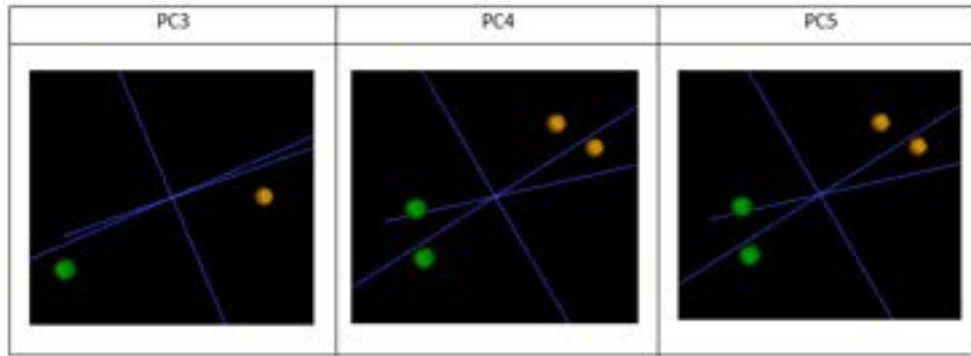


Figura 4.39: Modelos de pedúnculos cerebrales PC3, PC4 y PC5.

En el modelo PC3 se coloca una esfera 3D de 4 mm de diámetro en un único slice, con centro en el slice número 59.

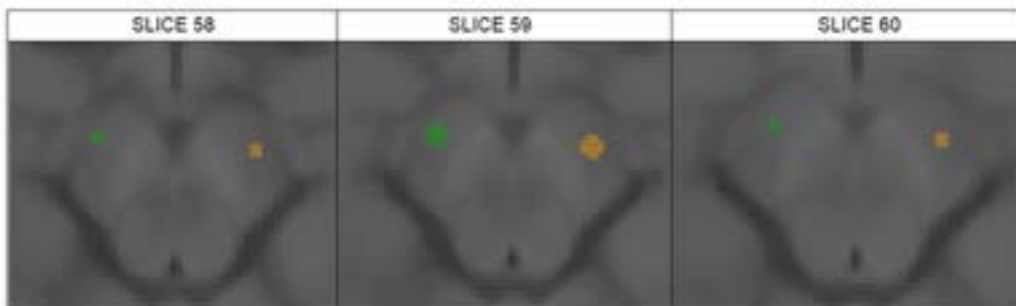


Figura 4.40: Slices etiquetados para el modelo de pedúnculo PC3.

En el PC4 se colocan 2 esferas en 3D de 4 mm de diámetro cada una en un único slice, con centro en el slice 56.

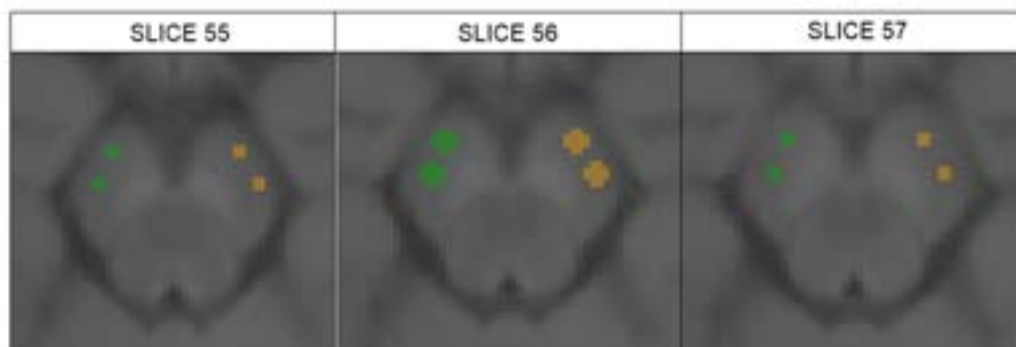


Figura 4.41: Slices etiquetados para el modelo de pedúnculo PC4.

En el modelo PC5 se colocan 3 esferas 3D de 4 mm de diámetro cada una en un único slice, con centro en el slice 56.

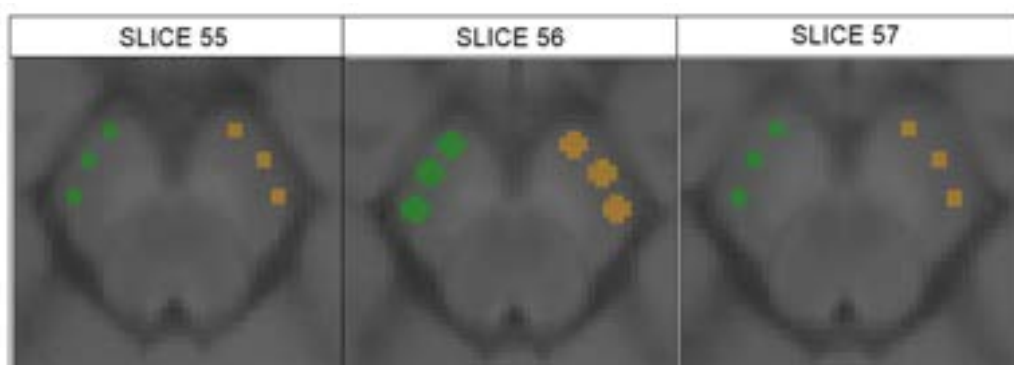


Figura 4.42: Slices etiquetados para el modelo de pedúnculo PC5.

Los modelos PC6 y PC7 están formados por una y tres esferas 3D, respectivamente, en tres slices diferentes. En el caso del PC6 las esferas son de 6 mm de diámetro y en el modelo PC7 de 4 mm de diámetro.

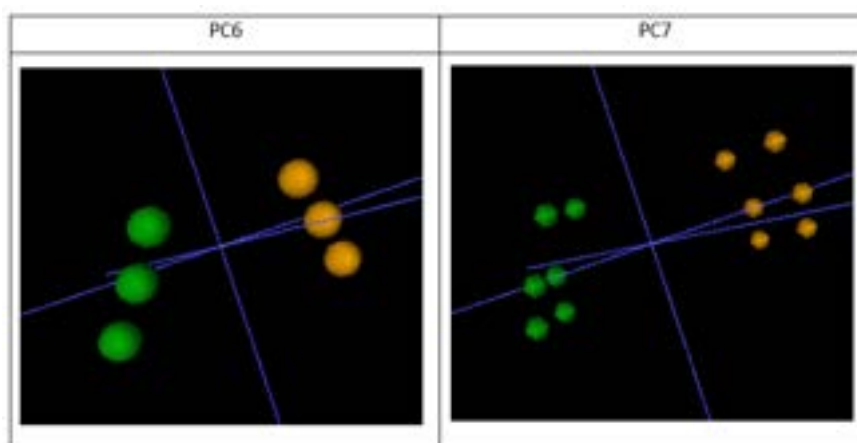


Figura 4.43: Modelos de pedúnculos cerebrales PC6 y PC7.

REGISTRO DE LAS ROIs DEL ESPACIO MNI-152 AL ESPACIO ESTÁNDAR DE CADA SUJETO

Antes de llevar a cabo la segmentación automática, es necesario registrar las ROIs creadas en el espacio estándar al espacio nativo de cada sujeto. Esto se realiza mediante el script detallado en 4.4.

En el espacio estándar, el número de slices en los que se etiquetan las ROIs es mayor que en el espacio nativo debido al *spacing*. Una vez que se registran las ROIs, el número de rodajas ya no es el mismo que en el espacio estándar, pero tampoco coincide con el número de slices segmentados en la segmentación semiautomática. Debido a que en este trabajo, la segmentación semiautomática es considerada la de referencia, se realizará una limpieza de slices para que tanto la segmentación semiautomática como la automática tengan el mismo número de rodajas segmentadas.

En la siguiente figura se muestra el resultado de una ROI de la SN registrada al espacio nativo de un sujeto desde el espacio MNI-152. Como se puede comprobar, hay slices que no deberían haber sido segmentados puesto que no hay sustancia nigra.

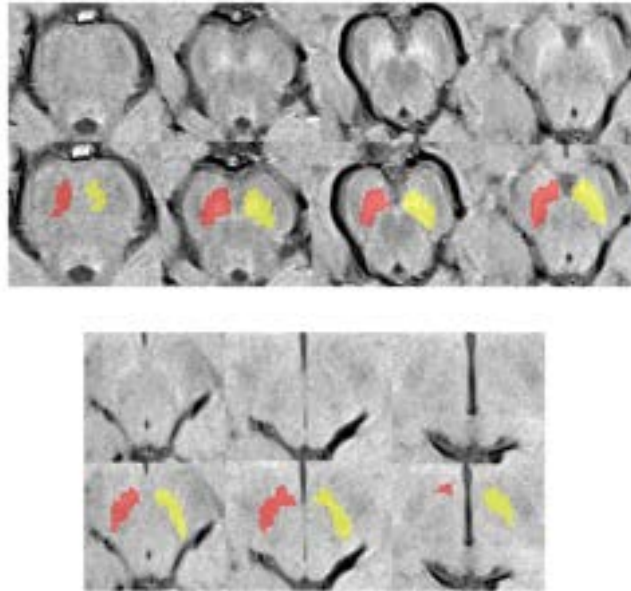


Figura 4.44: ROI de la sustancia nigra resultado de haber sido registrada desde el espacio estándar al espacio nativo de un sujeto.

Para las ROIs de los pedúnculos cerebrales, se realiza la misma operación de limpieza de slices, ya que estas solo deben estar etiquetadas en aquellas rodajas donde se encuentre la sustancia nigra. En la figura 4.45, se muestra un slice de cada tipo de modelo de ROI de PC ya registrada en el espacio nativo de un sujeto

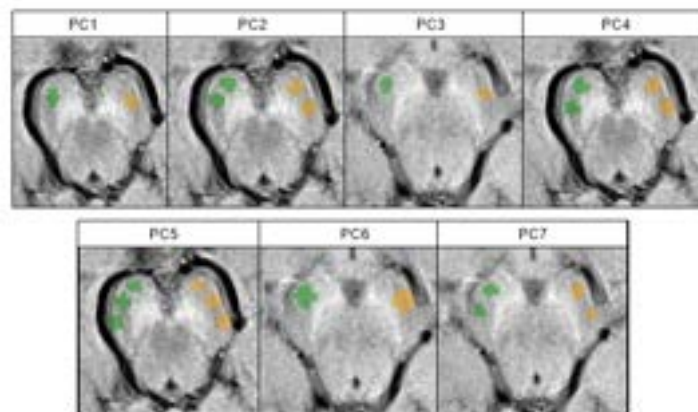


Figura 4.45: ROIs de los distintos modelos de pedúnculos cerebrales resultado de haber sido registradas desde el espacio estándar al espacio nativo de un sujeto.

SEGMENTACIÓN DE LA SN MEDIANTE UMBRALIZACIÓN Y PROCESOS MORFOLÓGICOS

Al igual que en el método de etiquetado en el espacio nativo, en esta sección se lleva a cabo la umbralización automática de la SN y la aplicación de procesos morfológicos. Se sigue el mismo procedimiento explicado anteriormente, es decir, desde una función principal, se llama a la función de limpieza previa y limpieza final de vóxeles:

- **PREV_SEG.** En este script se realiza la selección de vóxeles mediante umbralización. Para los modelos PC1 y PC2 se realiza tanto la umbralización slice a slice como la umbralización volumétrica. Para el resto de modelos (PC3, PC4, PC5, PC6 y PC7) se umbraliza únicamente mediante volumetría.

Umbralización slice a slice. En la umbralización slice a slice, se obtiene un umbral de los pedúnculos cerebrales de cada slice y se aplica a ese mismo slice para obtener la segmentación de la SN.

Umbralización volumétrica. Consiste en sacar el valor umbral mediante un promedio de toda la ROI. Para ello, se realizará una suma de todas las intensidades de todos los vóxeles de la ROI del PC y se obtendrá un único valor para realizar la umbralización de todos los slices.

- **CLEAR_SEG.** El proceso de limpieza de vóxeles es el mismo que para el caso anterior.

Localización en carpetas. DEMO_UMBRAIZACIÓN_MNI.

- Carpeta **data**.
 - **REGISTRADAS.** Esta carpeta contiene las carpetas con todos los sujetos. Dentro de la carpeta de cada sujeto:
 - *Imagen T1_FSE_nme1_avg*
 - *Imagen de la ROI de la SN.*
 - *Imágenes de la ROIs de los distintos modelos de PC.*
- Carpeta **scripts**. Esta carpeta contiene los siguientes archivos:
 - **Script** con el código que llama a las funciones de limpieza de vóxeles previa y de segmentación final.
 - **AUXILIAR** . Esta carpeta contiene a su vez:
 - *Script PRE_SEG.* Este script tiene como entrada las ROIs de la SN y de los PC, así como la imagen de T1 NM. Como salida, una imagen con una segmentación previa que consiste en un mapa binario obtenido tras la umbralización y la aplicación de los procesos morfológicos.
 - *Script clear_seg.* Este script tiene como entrada la imagen binaria obtenida con *PREV_SEG*, el objetivo es hacer la limpieza de los vóxeles que no pertenecen a la SN.
 - *Carpeta SEG_PREVIAS.* Se guardarán las segmentaciones previas obtenidas con las ROIs estandarizadas mediante la umbralización slice a slice y mediante la umbralización volumétrica. Estas imágenes también son la entrada del script *CLEAR_SEG*.

SEGMENTACIÓN PREVIA segPrev.m**Datos de entrada y salida del script.**

Los datos de entrada de la segmentación previa son:

- Imagen de T1 neuromelanina.
- Imagen de la ROI de la sustancia nigra.
- Imágenes de los diferentes modelos de ROI de los pedúnculos cerebrales.

Los datos de salida de la segmentación previa son imágenes umbralizadas en todos los slices en los que se observa la SN. Estas segmentaciones previas se guardarán en una carpeta para su posterior limpieza de vóxeles final:

- Carpeta AUXILIAR:

SEG_PREVIAS. En esta carpeta se almacenan las segmentaciones previas umbralizadas slice a slice y las segmentaciones previas umbralizadas de manera volumétrica.

Descripción detallada del código.

El primer paso es leer todas las imágenes que van a ser utilizadas y crear una matriz auxiliar donde guardar el resultado de la segmentación previa.

La segmentación para este segundo método se realiza con dos tipos de umbralización:

- Umbralización slice a slice.
- Umbralización volumétrica.

Como la umbralización slice a slice queda detallada en el primer método, se procede a explicar la umbralización volumétrica. En esta umbralización la media se hace con todos los vóxeles de la ROI. En lugar obtener un umbral para cada slice, se obtiene un único umbral para todos los slices. Por este motivo, no es necesario un bucle que recorra cada uno de los planos axiales.

```
MEAN = mean(I_slice_ROI)
SD = std(I_slice_ROI)
T_slice = MEAN + (POND*SD)
```

Para este segundo método, las ROIs de la SN y de los PC en nativo se obtienen registrando las ROIs creadas en el espacio MNI-152 (detallado en la sección N.N). Es posible que en el proceso de registro, se obtenga un mayor número de slices etiquetados de los que realmente se han considerado cuando se ha realizado en nativo. Por lo tanto, el siguiente paso es limpiar todos aquellos slices que no hayan sido etiquetados en el primer método. Mediante la variable *SegOfInt* que se ha definido en el script principal, se determinan qué slices han de ser igualados a cero.

```
if(strcmp(listROIcc(i).name(5:6),num2str(SegOfInt(i,1))))
IMG(:, :, setdiff(1:size(IMG,3),SegOfInt(i,2):SegOfInt(i,3))) = 0
end
```

A continuación se aplica el umbral a la imagen de T1 NM y se guarda en una variable:

```
SegP(:,:,j)= slice_IMG > T_slice
```

Una vez realizada la umbralización, se lleva a cabo la aplicación de los operadores morfológicos vistos anteriormente:

```
NHOOD=true(1,2,1)
se=strel('arbitrary',NHOOD)
afterOpening = imopen(SegP,se)
afterClosing = imclose(afterOpening,se)
```

Por último, se guarda el resultado de la umbralización.

SEGMENTACIÓN DE LIMPIEZA DE VÓXELES `segClear.m`

La limpieza de vóxeles se realiza de la misma manera que en el método anterior, en la sección 4.4.1. La diferencia más importante es que las segmentaciones realizadas mediante la umbralización slice a slice se guardarán con el nombre del soma correspondiente, el modelo y por último añadiendo `_label_NAT_sliceAslice`, mientras que las segmentadas con una umbralización volumétrica terminarán en `_label_NAT_vol`.

En la siguiente imagen se muestran los resultados obtenidos con las distintas segmentaciones automáticas.

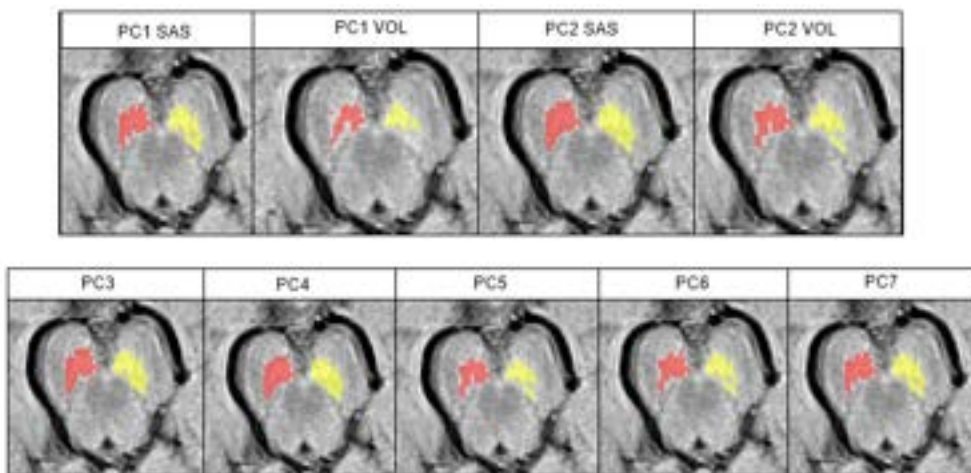


Figura 4.46: Imagen final de un slice las segmentaciones automáticas de la región de la SN con los distintos modelos de ROI de PC.

4.4.2. Segmentación del locus coeruleus

A pesar de que la degeneración de la sustancia nigra es el hallazgo neuropatológico más conocido en la enfermedad de Parkinson, los estudios postmortem han demostrado la existencia de cuerpos de Lewy ¹ así como una pérdida asociada de neuronas noradrenérgicas en el locus coeruleus (LC). Además, se ha demostrado que la pérdida de neuronas en el LC ocurre antes y en mayor magnitud que en la sustancia nigra en la enfermedad de Parkinson. Por ejemplo, en el estadio de Braak (sección C.2) acerca de la enfermedad de Parkinson, el LC empieza a verse involucrado en el estadio 2 mientras que la SN no está presente hasta el estadio 3 [33].

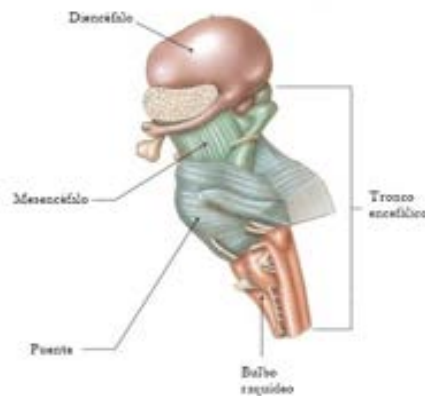


Figura 4.47: Imagen anatómica del tronco encefálico. Imagen modificada de [49].

El locus coeruleus es un núcleo noradrenérgico de neuronas pigmentadas que se sitúan en el tronco encefálico, tegmento de la porción caudal del mesencéfalo y porción rostral del puente (figura 4.47) [3] localizado bilateralmente junto al cuarto ventrículo en el puente [33].

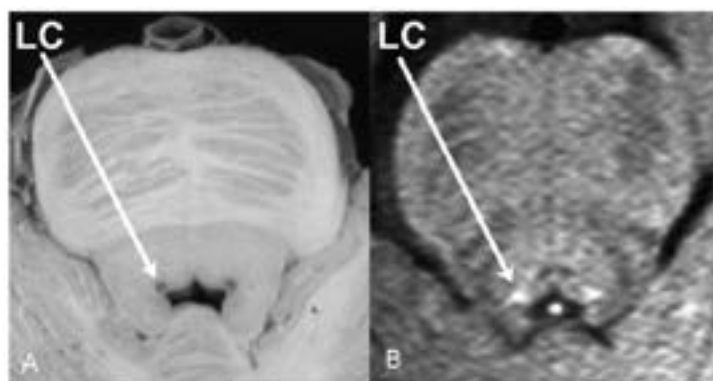


Figura 4.48: Vista axial del LC en un (A) corte histológico del tronco encefálico post-mortem y (B) imagen in vivo de alta resolución con T1-TSE scan [13].

¹Los cuerpos de Lewy (LB) son lesiones distintivas de neuronas degenerativas en los cerebros de pacientes con enfermedad de Parkinson (EP) [61]. Su presencia en el cerebro interrumpe la acción de los neurotransmisores y la función normal del cerebro se ve alterada.

El LC tiene una estructura parecida a una varilla (figura 4.49) y su tamaño es aproximadamente de 2 mm de diámetro y 15 mm de largo [2]. A pesar de su pequeño tamaño, las neuronas del LC se proyectan en numerosas áreas del cerebro incluidas la médula espinal, el cerebelo, el hipotálamo, el tálamo, la amígdala, el telencéfalo y la corteza. El LC juega un papel importante en procesos cognitivos como la atención, el aprendizaje, la memoria y la toma de decisiones. Además también está implicado en la excitación y las emociones [36] así como en mecanismos nerviosos que regulan el sueño, especialmente el sueño REM (movimientos oculares rápidos) [3] .

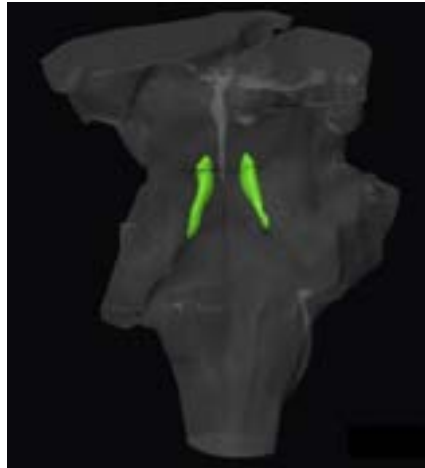


Figura 4.49: Reconstrucción del volumen del tronco cerebral y (en color verde) el locus coeruleus [41].

La segmentación del LC se lleva a cabo en el espacio nativo de cada sujeto y en el plano axial, al igual que se hizo con la segmentación de la sustancia nigra. Para realizar la segmentación del LC se toman como referencia los procedimientos seguidos en estudios anteriores como en Chen et al. [2] y Tona et al. [42]. De estos dos estudios previos se obtienen dos tipos de segmentaciones en base a la ROI de *background* que se utilice. El procedimiento a seguir es el siguiente:

1. En primer lugar, localizar el LC en los dos hemisferios de cada uno de los sujetos que van a segmentar. Su localización en el puente, justo debajo del mesencéfalo, ha sido detallada en estudios previos. Además, también es conveniente localizar el cuarto ventrículo y utilizarlo como referencia [2].
2. Posteriormente se realizan las ROIs de referencia que van a ser utilizadas para la obtención del valor umbral. Este valor umbral de intensidad de señal refleja el valor a partir del cual se seleccionarán los vóxeles como pertenecientes al LC. En Chen et al. [2] se utiliza como ROI el puente del tegmento (TG) o *pontine tegmentum*, en la figura 4.50.A aparece como un círculo en color azul. En cambio, en Tona et al. [42] se utiliza como ROI de referencia el pedúnculo cerebral medio (MCP), en la figura 4.50.B aparece de color rojo.

3. Los vóxeles pertenecientes a la región de referencia situada en los dos LC cuya intensidad sea igual o supere el umbral establecido por:

$$Mean_{ROI} + 4 X SD_{ROI} \quad (4.3)$$

se consideran como la segmentación del LC [2]. De la ecuación 4.3, $Mean_{ROI}$ y SD_{ROI} es la media y la desviación típica, respectivamente, de la intensidad de la región del TG o del MCP, en función de la metodología.

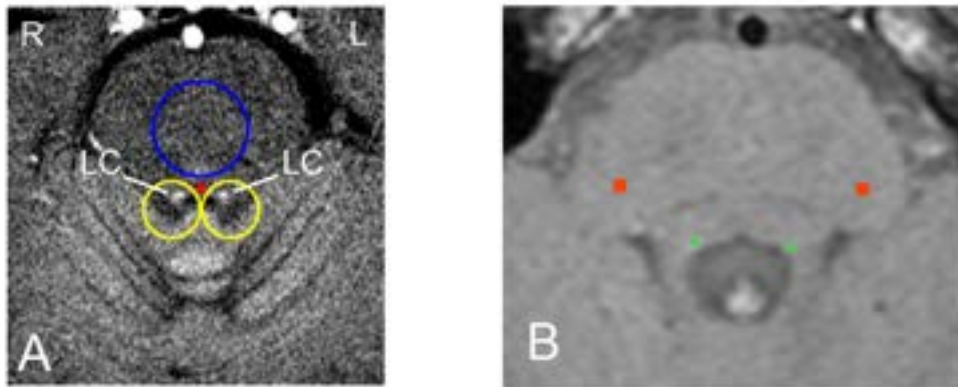


Figura 4.50: ROIs para la segmentación del LC. (A) Metodología Chen et al. [2], el círculo azul es la ROI de referencia. El círculo rojo marca el apéndice del cuarto ventrículo. Los círculos amarillos son las regiones donde se encuentra el LC. (B) Metodología Tona et al. [42],

La segmentación semi-automática del LC se lleva a cabo en dos partes:

- Una primera parte **manual** en la que se definen las regiones de referencia en cada sujeto. Esto se realiza con la herramienta ITK-SNAP.
- Una segunda parte **automática** en la que se obtiene un umbral y se aplica a las ROIs de los LC para obtener la segmentación. Se lleva a cabo mediante la herramienta Matlab.

CREACIÓN DE LAS REGIONES DE REFERENCIA (ROIs)

La parte manual de este proceso consiste en colocar las etiquetas a los vóxeles de las diferentes ROIs que van a ser utilizadas. En el caso de la segmentación del LC son necesarias las ROIs de cada uno de los hemisferios del LC y las ROIs de referencia para obtener el valor umbral de intensidad de señal.

Una vez identificada su localización, es importante saber el número de rodajas que han de ser etiquetadas. Para ello se utiliza como dato su longitud, que es de 15 mm [2]. Como las imágenes de resonancia magnética T1 neuromelanina tienen un spacing de $0.6875 \times 0.6875 \times 3$, el número de slices aproximado será de 5 ya que $5 \text{ (slices)} \times 3 \text{ mm} = 15 \text{ mm}$. A pesar de esto, el número de slices se ha decidido en función a cada sujeto, haciendo que el rango varíe entre 3 y 6 rodajas.

Los pasos seguidos para realizar las ROIs se describen a continuación:

1. Ajustar el contraste de la imagen de T1 sensible a neuromelanina hasta que se pueda observar claramente diferencias entre las zonas hiperintensas e hipointensas.

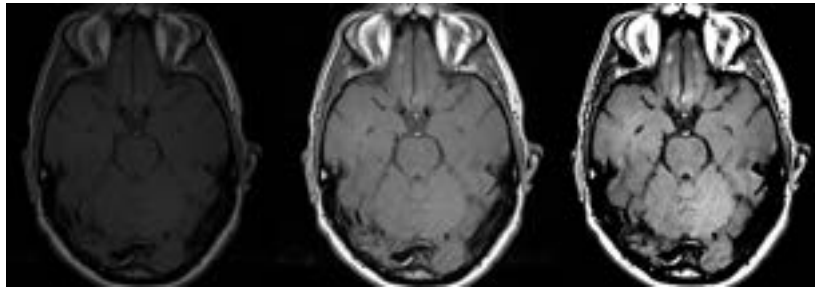


Figura 4.51: Ajuste de contraste mediante la herramienta ITK-SNAP.

2. El siguiente paso es localizar el cuarto ventrículo y colocar una etiqueta, (figura 4.52, círculo rojo). Posteriormente en los mismos slices en los que se localice el cuarto ventrículo se colocarán las ROIs para el LC. Estas ROIs, con forma de círculo de 8 mm de diámetro, se situarán en ambos hemisferios donde se observe una zona más hiperintensa.

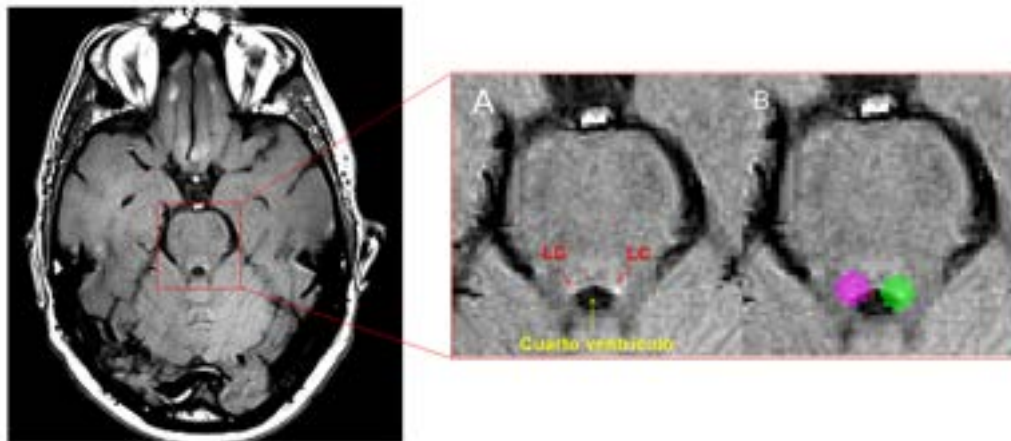


Figura 4.52: Ampliación de la región del puente. (A) Localización del cuarto ventrículo y el LC. (B) ROI del LC (círculos rosa y verde) y del cuarto ventrículo (círculo rojo).

3. A continuación, en las mismas rodajas donde se han etiquetado las regiones del LC y del cuarto ventrículo, se colocan las ROIs de referencia para ambos modelos. En el caso de la primera metodología, la ROI con forma de círculo de 12 mm de diámetro, se sitúa en el puente tegmento (figura 4.53.B), y para la segunda metodología la ROI con forma de cuadrado de 4 mm (uno en cada hemisferio) se sitúa en el pedúnculo cerebral medio (figura 4.53.C).

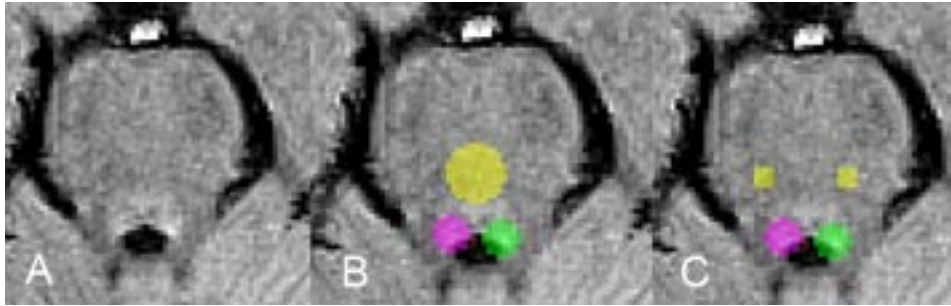


Figura 4.53: (A) Imagen sin etiquetar del puente. (B) Imagen etiquetada con la ROI de referencia situada el puente tegmento (círculo de color amarillo). (C) Imagen etiquetada con la ROI de referencia situada en el MCP (color amarillo).

4. Una vez realizadas todas las etiquetas, se guardan en carpetas separadas con el nombre de `somaXX_NAT_ROI_LC.nii.gz`

SEGMENTACIÓN DEL LC MEDIANTE UMBRALIZACIÓN

En esta sección se detalla el procedimiento a seguir para segmentar el locus coeruleus una vez se han etiquetado las ROIs necesarias. En primer lugar se realizará una breve explicación de la elección del umbral para segmentar el locus coeruleus. Después, se presentarán de forma esquematizada las carpetas necesarias para llevar a cabo la segmentación y por último, la descripción detallada del código.

Elección del umbral para la segmentación del locus coeruleus

El locus coeruleus se asemeja a un cilindro con una longitud media de 15 mm y 2 mm de ancho [2], lo que haría un total de aproximadamente 47 mm^3 ($\text{volumen cilindro} = \pi \times r^2 \times h$). A pesar de esto, los estudios previos no coinciden a la hora de concluir un volumen común para esta región.

Algunos estudios han detallado que la concentración de neuromelanina es mayor en el centro, denominado *core* del LC. El resto de la región se encuentra dispersa en las extremidades caudal y rostral. El hecho de que unos estudios hayan podido obtener la medida de todo el locus coeruleus y otros solamente de la parte del *core*, explicaría las discrepancias entre los resultados.

Además, también existen diferencias entre lo que los autores interpretan como el *core*. Para German et al. [8] y Keren et al. [13] el *core* se corresponde con los vóxeles de mayor intensidad, mientras que para Fernandes et al. [4] se corresponde con los vóxeles del LC que están presentes en el 100 % de los casos (figura 4.54). Estos estudios han obtenido un volumen del *core* de $35,26 \text{ mm}^3$ ($\pi \times 1.25^2 \times 7.2$) en el caso de German et al., y de $36,74 \text{ mm}^3$ ($\pi \times 1.56 \times 7.5$) en el estudio de Fernandes et al.

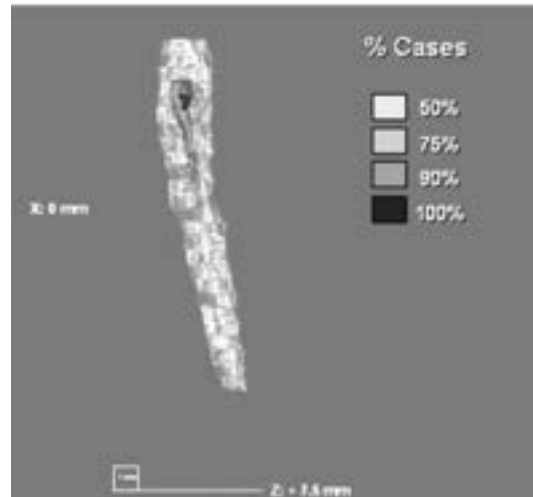


Figura 4.54: Ilustración de variabilidad de volumen global en 3D de LC [4].

Como se ha detallado anteriormente, la segmentación del locus coeruleus en este trabajo se lleva a cabo mediante un proceso de umbralización. Se ha considerado conveniente elegir un umbral que segmente un volumen similar a la región del *core* del locus coeruleus en los sujetos control. Esto es debido a que elegir un umbral que aproximase el volumen a la región entera podría sobreestimar la medida. Por lo tanto, tomando como referencia que el *core* tiene de media una longitud de 7.5 mm (en el 100 % de los casos) [4] y un ancho medio de 2 mm en la parte central, el volumen total para cada hemisferio sería aproximadamente 24 mm^3 .

Localización en carpetas. DEMO Get_LC

- Carpeta **data**. Esta carpeta contiene a su vez dos carpetas para poder llevar a cabo la segmentación con las ROIs realizadas mediante las metodologías descritas anteriormente:
 - CHEN. Esta carpeta contiene la imagen de T1 NM y la imagen con todas las ROIs descritas en la primera metodología, para cada uno de los sujetos.
 - TONA. Esta carpeta contiene la imagen de T1 NM y la imagen con todas las ROIs descritas en la segunda metodología, para cada uno de los sujetos.
- Carpeta **scripts**. Esta carpeta contiene la información de los sujetos así como un script (*Get_LC*) para realizar la segmentación del LC. También se encuentran dos carpetas para guardar las dos segmentaciones realizadas para cada sujeto, SEG_LC_CHEN y SEG_LC_TONA.

Descripción detallada del código

En primer lugar se definen las etiquetas que van a ser necesarias a la hora de trabajar la segmentación del LC:

```
label_LC_left = 2
label_LC_right = 6
label_ROI=4
```

las etiquetas número 2 y 6 se corresponden con el hemisferio izquierdo y derecho de la ROI del locus coeruleus, respectivamente. La etiqueta número 4 será la que esté asignada a la ROI de referencia para obtener el umbral.

Se crea un bucle *for* que recorre todos los sujetos. Dentro de este bucle se leen las imágenes necesarias mediante la función *niftiread* de la herramienta MATLAB:

```
brainIm=niftiread(pIMG)
LC=niftiread(pLC)
```

donde *pIMG* y *pLC* son las rutas que llevan a las imágenes de T1 NM y las ROIs, respectivamente. Las matrices de intensidad que se obtienen tras la lectura de las imágenes son *brainIm* y *LC*.

El siguiente paso es crear un intervalo de valores para ajustar el multiplicador de la desviación típica de la ecuación 4.3. El valor que se toma como óptimo será el haga que el promedio del volumen de los sujetos control se aproxime a 24 mm³.

A continuación se crea un bucle que recorra cada uno de los slices que se ha de segmentar en función de cada sujeto. Se crea una variable nueva con la ROI de referenica del slice que se va a trabajar en cada iteración:

```
LAB_PONS_SLICE=(LC(:,:,j)==label_ROI)
```

label_ROI se corresponde con la etiqueta de la ROI de referencia, bien la del puente tegmento (TG) o la del pedúnculo cerebral medio (MCP).

Para saber si hay o no que segmentar ese slice, se crea una condición, es decir, si existe la etiqueta 4 correspondiente a las ROIs de referencia, se guardará el slice de la imagen de T1 NM y el de las ROIs del LC de cada hemisferio en una variable diferente:

```
if (sum(LAB_PONS_SLICE(:)) > 0)
IMG_SLICE = squeeze(brainIm(:,:,j))
IMG_SLICE.L = IMG_SLICE(LC(:,:,j)==label_LC_left)
IMG_SLICE.R = IMG_SLICE(LC(:,:,j)==label_LC_right)
```

Lo siguiente es calcular la intensidad de la ROI de *background* para obtener el umbral de segmentación:

```
I_BG= single(IMG_SLICE(LAB_PONS_SLICE))

BG_mean = mean(I_BG(:))
SD_BG = std(I_BG(:))
THR = BG_mean + z*SD_BG
```

donde *I_BG* se corresponde con los niveles de intensidad de la imagen de T1 NM que coinciden con la máscara de la ROI de referencia (*LAB_PONS_SLICE*). Por otra parte, *BG_mean* y *SD_BG* son la media y la desviación típica de los vaores

obtenidos en *LBG*. Por último, se calcula el umbral con la ecuación 4.3.

El volumen del lado izquierdo y derecho obtenidos para cada sujeto se guardará en una variable que posteriormente será multiplicada por el *spacing* para obtener el volumen real.

```

vol_left = vol_left + sum(IMG_SLICE_L(:) > THR)
vol_right = vol_right + sum(IMG_SLICE_R(:) > THR)
end

```

Aquí termina el bucle que recorre cada slice. Tanto el volumen izquierdo (*vol_left*) como el derecho (*vol_right*) estarán formados por los vóxeles que cumplan la condición impuesta por el umbral *THR*, obtenido previamente.

Cuando estos volúmenes se multiplican por el *spacing*, es el momento de comprobar cuál es el valor del multiplicador de la desviación típica que más aproxima el volumen de los sujetos control al volumen establecido como *gold standard*.

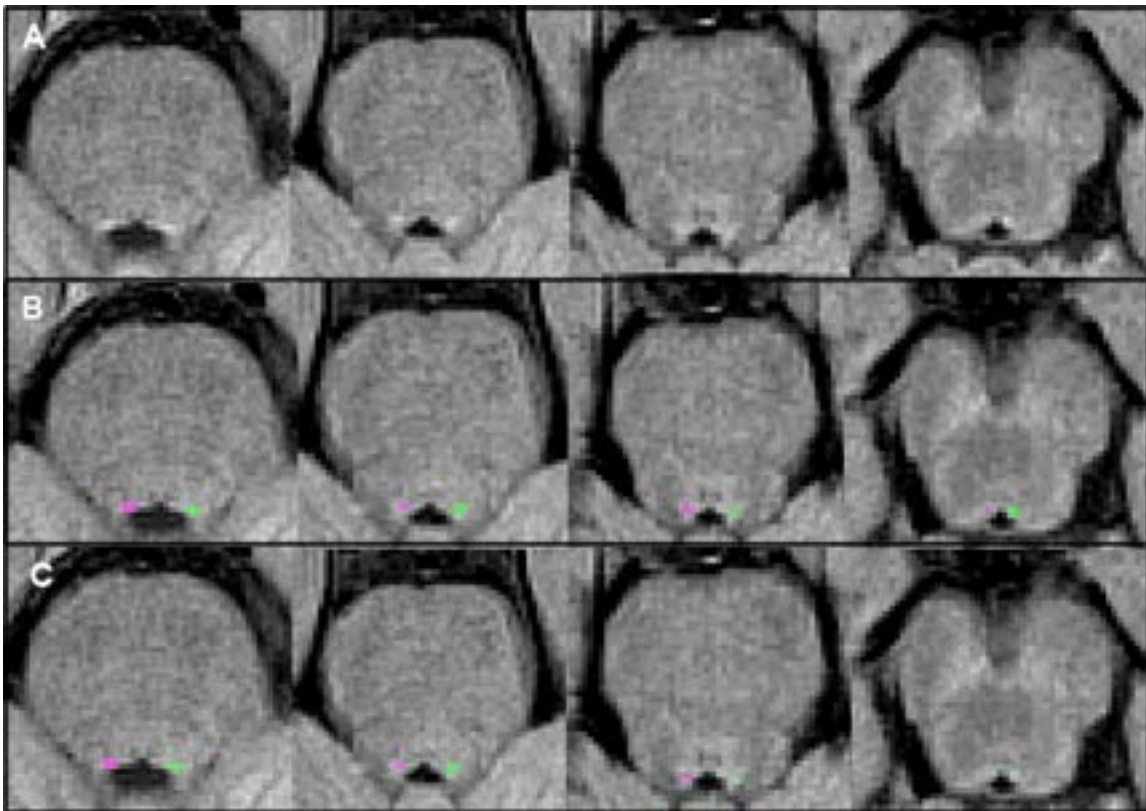


Figura 4.55: Segmentación del LC. (A) Imagen sin etiquetar. (B) Segmentación obtenida con la ROI de referencia en el tegmento pontino. (C) Segmentación obtenida con la ROI de referencia en los pedúnculos cerebrales medios.

4.5. Obtención de biomarcadores

Un biomarcador se define como una característica que se puede medir y evaluar objetivamente como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas farmacológicas a intervenciones terapéuticas [31]. Los biomarcadores sirven para confirmar diagnósticos, pruebas predictivas, monitorización de la progresión de la enfermedad una vez diagnosticada e incluso para observar las respuestas a los tratamientos [57].

En apartado del capítulo de métodos, se va a llevar a cabo la explicación de la obtención de los posibles biomarcadores de la enfermedad de Parkinson. Algunas características que van a ser objeto de estudio en las segmentaciones realizadas tanto de manera semiautomática como automática son:

- **Biomarcadores de la sustancia nigra:**

- Las medidas que son potenciales biomarcadores de la enfermedad de Parkinson según la bibliografía son: la volumetría de la SN completa, la volumetría de los vóxeles más hiperintensos de la SN y por último, la medida de intensidad de señal o Contrast to Noise Ratio (CNR) de la SN completa. Todos estos posibles biomarcadores van a ser evaluados tanto en las segmentaciones realizadas de manera semiautomática como automática.

- **Biomarcador del locus coeruleus:**

- En el caso del locus coeruleus, su segmentación ha sido realizada únicamente de manera semiautomática y las medidas elegidas son la volumetría de la propia estructura y el CNR.

4.5.1. Obtención del volumen de la SN.

El primer biomarcador, o posible biomarcador, que se busca en este trabajo es el volumen de la sustancia nigra en su totalidad. La manera de obtener dicho volumen es multiplicando el número de vóxeles de la segmentación realizada previamente por el tamaño de vóxel.

Localización en carpetas. DEMO_VOLUMEN SN

Esta demo no es muy compleja puesto que solo se necesitan las segmentaciones y un código sencillo.

- Carpeta **data**

- **NATIVO.** Esta carpeta contiene las segmentaciones en nativo
- **REGISTRADAS.** Esta carpeta contiene carpetas con los sujetos y dentro de cada sujeto las segmentaciones realizadas con las etiquetas que fueron delineadas en el espacio MNI-152 y registradas al nativo con diferentes modelos de PC.

- Carpeta **scripts.** Esta carpeta contiene el código.

Descripción detallada del código.

En primer lugar se realiza la lectura de las segmentaciones mediante un bucle y la función *MedicalVolumeLoaderITKMEX*, esta función permite obtener la matriz de intensidades y también el spacing.

```
[Seg,Spacing]= MedicalVolumeLoaderITKMEX(pSeg)
```

siendo *pSeg* la imagen de la segmentación de la sustancia nigra.

A continuación se obtiene el número de vóxeles de la SN derecha e izquierda por separado para facilitar los futuros estudios como biomarcador.

```
SN_left = (Seg ==label_SN_left)
vol_izda = sum(SN_left(:))

SN_right = (Seg ==label_SN_right)
vol_dcha = sum(SN_right(:))
```

Y posteriormente se multiplica el volumen de cada sustancia nigra por el spacing obtenido con la función *MedicalVolumeLoaderITKMEX*:

```
vol_izda = vol_izda * Spacing(1) * Spacing(2) * Spacing(3)
vol_dcha = vol_dcha * Spacing(1) * Spacing(2) * Spacing(3)
```

Por último, se calcula el volumen bilateral mediante la suma del lado derecho e izquierdo:

```
vol_bilateral = vol_dcha + vol_izda
```

4.5.2. Obtención del volumen de los hiperintensos de la SN.

Otro de los biomarcadores es la volumetría de los hiperintensos de la SN. En estudios anteriores [1] se ha demostrado que el poder discriminativo es mayor cuando se utiliza la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la sustancia nigra en lugar del volumen de toda la estructura.

Para cuantificar el volumen hiperintenso de la SN se siguen los pasos principales llevados a cabo en el estudio de [38]:

1. En primer lugar se realiza la segmentación manual del mesencéfalo en aquellos slices donde se ha segmentado la SN. Esta segmentación del mesencéfalo será empleada como región de referencia para calcular el umbral.

2. Posteriormente se calcula el valor umbral a partir del cual se seleccionarán los vóxeles como hiperintensos:

$$THR = MEAN_{mes} + \beta \times SD_{mes} \quad (4.4)$$

siendo $MEAN_{mes}$ y SD_{mes} la media y la desviación estándar de la intensidad en escala de grises de la región de interés que, en este caso, es el mesencéfalo. El multiplicador de la desviación estándar se define como β .

3. En tercer lugar se aplica la máscara de la SN a la umbralización obtenida. De esta manera, se consiguen eliminar todos los vóxeles que no pertenezcan a la región de la sustancia nigra aunque cumplan la condición del umbral.
4. Por último, se calcula el número de vóxeles y se multiplica por la dimensión de un vóxel.

Selección del multiplicador de la desviación típica (β)

Según el estudio previo de Schwarz et al. [38], el volumen de los vóxeles hiperintensos de la SN de un sujeto control es de 127.7 mm^3 . Este valor es el que se toma como referencia para escoger el multiplicador de la desviación típica. Por lo tanto, se realiza la obtención del volumen para *betas* entre 1.8 y 2.0 con un paso de 0.01 y se calcula el volumen promedio de los vóxeles hiperintensos para los sujetos control. Aquel valor de beta que haga que el volumen medio se aproxime a 127.7, será el que se utilizará para obtener los vóxeles hiperintensos de todos los sujetos.

Como en el estudio anterior no se normaliza el volumen, a la hora de calcular el volumen medio de los sujetos control no se va a hacer uso del volumen intracraneal (ICV). En cambio, una vez seleccionado el valor de β , será necesario corregir la variabilidad de los sujetos para obtener resultados normalizados. Esta variabilidad se corrige mediante la división del volumen de los hiperintensos de cada sujeto entre su ICV.

Segmentación manual del mesencéfalo.

Antes de empezar con la explicación detallada de la demo para la obtención de los vóxeles hiperintensos, se va a realizar una breve explicación de qué es el mesencéfalo y de cómo se ha segmentado de forma manual.

El mesencéfalo, también llamado cerebro medio, está ubicado entre el diencefalo, perteneciente al prosencefalo, y el puente, que pertenece al rombencefalo [21]. Su función principal es la conducción y el control de los impulsos motores que van desde la corteza cerebral hasta la unión de la espina dorsal y el encéfalo. También es responsable de generar impulsos sensoriales que se muestran por medio de la médula espinal [43].

Para su correcta segmentación manual es importante familiarizarse con los límites de su estructura, en este caso los límites superior e inferior son menos importantes puesto que solo se van a segmentar aquellos slices en los que se visualice y se haya

segmentado la sustancia nigra.

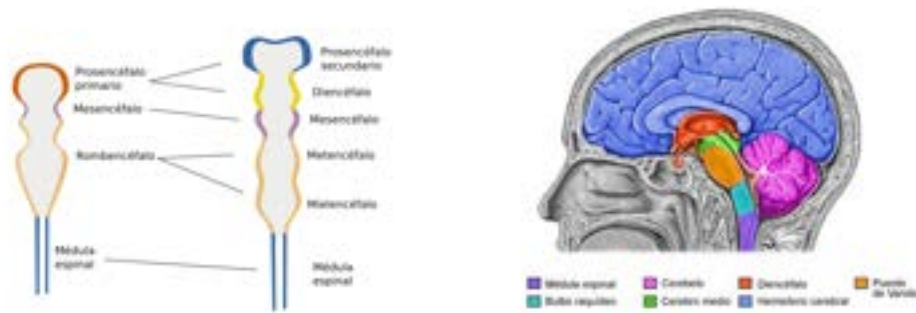


Figura 4.56: Localización del mesencéfalo. Imagen modificada de [51] y [50].

En este trabajo la segmentación se va a realizar en el plano axial. En este plano se distinguen dos partes: el *tectum* o *techo* y el *tegmentum*.

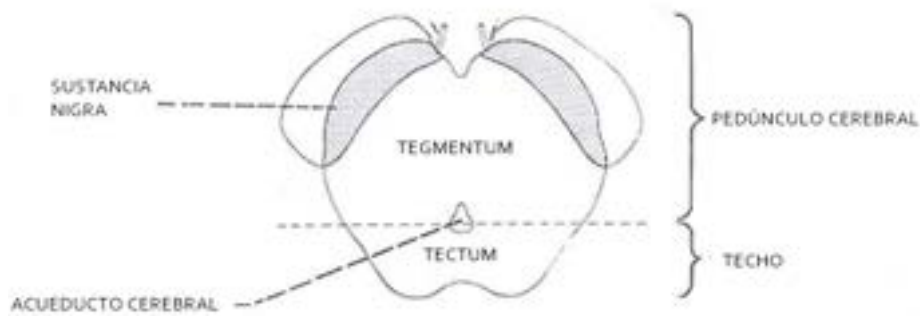


Figura 4.57: Plano axial del mesencéfalo y sus partes.

Esta segmentación manual se va a realizar en dos espacios diferentes:

1. De manera específica en el espacio nativo de cada sujeto.
2. De manera general en el espacio estándar MNI-152. Una vez segmentada en el espacio estándar, se registrará al espacio nativo de cada sujeto.

1. De manera específica en el espacio nativo.

Mediante el uso de la herramienta ITK-SNAP se seleccionan con un pincel los vóxeles pertenecientes al mesencéfalo. Como puede observarse en la figura en la mayoría de las rodajas se diferencia la estructura gracias al contraste con el tejido adyacente.

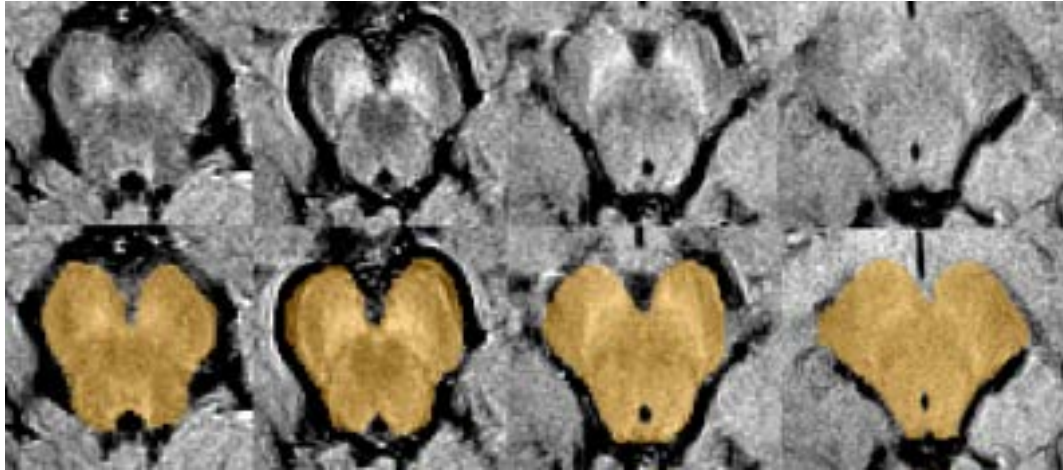


Figura 4.58: Segmentación manual del mesencéfalo en el espacio nativo de un sujeto.

2. De manera general en el espacio MNI-152.

Al igual que con las ROIs de la SN y de los pedúnculos cerebrales, en este método se segmenta el mesencéfalo un única vez en el espacio estándar con la herramienta ITK-SNAP y posteriormente se registra al espacio nativo de cada sujeto.

Al tratarse de una estructura grande el coeficiente DICE ² entre las segmentaciones en nativo y las registradas es de 0.9154, es decir, un valor bastante alto que implica una gran similitud. Esto se puede comprobar con el script `Get_DICE_mes`.

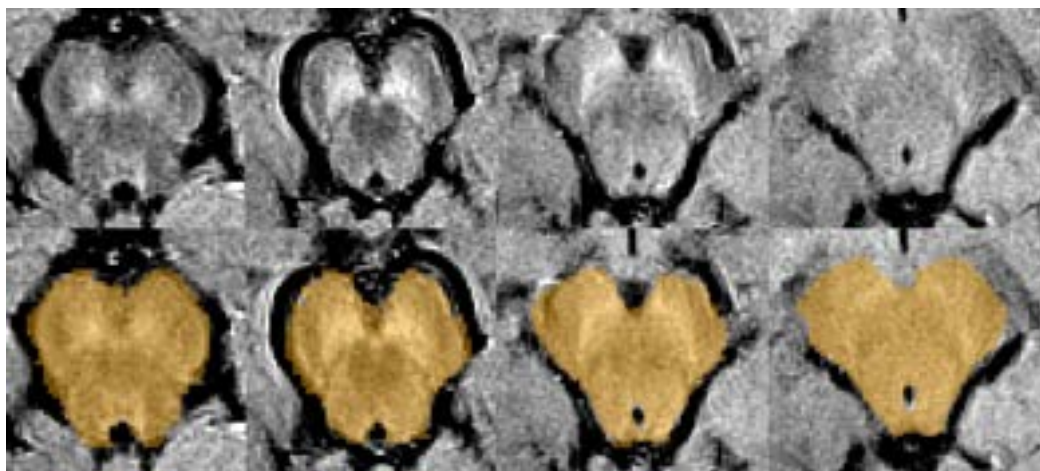


Figura 4.59: Segmentación manual del mesencéfalo en el espacio nativo de un sujeto después de haberse registrado desde el espacio MNI-152.

²El coeficiente DICE es un estadístico que compara la similitud entre dos muestras.

Demo para la obtención de los hiperintensos.

Al igual que en el caso de la obtención de la volumetría de la sustancia nigra total, para obtener la volumetría de los hiperintensos se utilizan dos demos distintas. Esto es simplemente para una mejor organización del trabajo, puesto que la implementación del código es la misma.

Para el volumen de los hiperintensos de las segmentaciones de la sustancia nigra en nativo se utiliza el script `Get_Vol_HU_nat` y para las segmentaciones registradas `Get_Vol_HU_reg`.

Localización en carpetas. DEMO_VOLUMEN HIPERINTENSOS

■ HIPERINTENSOS DE LA SN EN NATIVO

● Carpeta **data**.

- **NATIVO**. Esta carpeta contiene las carpetas con todos los sujetos. Y dentro de cada sujeto:
 - ◇ *Imagen de la segmentación de la SN.*
 - ◇ *Imagen de la segmentación del mesencéfalo.*
 - ◇ *Imagen T1_FSE_nmel_avg.*

- Carpeta **script**. Esta carpeta contiene el código y una tabla con toda la información de los sujetos utilizados:
 - `Get_Vol_HU_nat`.
 - Tabla con información SOMAS.

■ HIPERINTENSOS DE LA SN REGISTRADA

● Carpeta **data**.

- **REGISTRADAS**. Esta carpeta contiene las carpetas con todos los sujetos. Y dentro de cada sujeto:
 - ◇ *Imágenes de las segmentaciones de la SN según los distintos modelos de PC.*
 - ◇ *Imagen de la segmentación del mesencéfalo.*
 - ◇ *Imagen T1_FSE_nmel_avg.*

- Carpeta **script**. Esta carpeta contiene el código y una tabla con toda la información de los sujetos utilizados:
 - `Get_Vol_HU_reg`.
 - Tabla con información SOMAS.

Descripción detallada del código.

En esta sección se detalla el código implementado para la obtención del volumen de los vóxeles más hiperintensos de la SN, tanto para las segmentaciones en nativo como las que han sido obtenidas mediante diferentes modelos de ROI de pedúnculos cerebrales.

En primer lugar, se guardan en variables la información necesaria de la tabla que se ha mencionado anteriormente. Para una la implementación del código de necesita de cada sujeto: la identificación del soma (*ID*), el diagnóstico (*diag*), el primer lado más afectado (*onset side*) y el volumen intracraneal (*ICV*).

```
ID=SOMAS.ID
diag = string(SOMAS.DIAG)
onset = SOMAS.ONSET_SIDE
ICV=SOMAS.ICV/1e6
```

A continuación, el siguiente paso es el de la lectura de las imágenes que ese van a utilizar mediante *niftiread*:

```
brainIm = niftiread(pIMG)
MT = niftiread(pMT)
SN = niftiread(pSN)
```

donde *pIMG* es la imagen de T1 neuromalanina, *pMT* es la imagen de la segmentación del mesencéfalo y *pSN* es la imagen de a segmentación de la SN.

Antes de comenzar con la selección de vóxeles, se define el rango de β , que como se ha mencionado anteriormente, es un valor que varía entre 1.8 y 2.0 con un paso de 0.01, estas iteraciones se implementarán con un bucle *for*.

```
z_inf = 1.8
z_inc = .01
z_sup = 2
```

En este punto, se comienza a realizar la selección de vóxeles. Para ello, lo primero es obtener el umbral a partir del cual se considerará a un vóxel como hiperintenso.

El proceso se lleva a cabo slice a slice y únicamente en aquellas rodajas en las que existe segmentación de la SN y por tanto, segmentación del mesencéfalo. Mediante el uso de un bucle que recorre todos los cortes de la imagen en la vista axial se extraen los slices en los que existe segmentación tanto del mesencéfalo como de la SN.

Se guardará cada slice de la imagen de la segmentación del mesencéfalo en una variable temporal y si dicha rodaja contiene segmentación, se obtendrá un umbral. Esto se realiza mediante una sentencia condicional *if*:

```
LAB_MT_SLICE = MT(:, :, j)
if (sum(LAB_MT_SLICE(:)) > 0)
```

donde *LAB_MT_SLICE* es la variable temporal. En las rodajas donde se cumpla la condición se obtendrá el valor de la intensidad de la imagen original de aquellos vóxeles que coincidan con la segmentación del mesencéfalo:

```
I.BG = single(IMG_SLICE(MT(:, :, j) > 0))
```

En la variable *I.BG* se guardan los valores de intensidad obtenidos y después se calcula el valor umbral:

```

BG_mean = mean(L_BG(:))
SD_BG = std(L_BG(:))
THR = BG_mean + z*SD_BG

```

Para obtener el umbral se necesita la media y la desviación estándar de los valores contenidos en la variable *L_BG*.

El siguiente paso es guardar, en cada iteración, el volumen izquierdo y derecho en una variable con el objetivo de obtener el volumen total al finalizar las iteraciones:

```

vol_left = vol_left + sum(IMG_SLICE_L(:) > THR)
vol_rigth = vol_rigth + sum(IMG_SLICE_R(:) > THR)

```

Una vez obtenido el volumen, se procede a guardar en una variable aquellos vóxeles de la imagen original que estén por encima del umbral y que coincidan con la segmentación de la SN tanto izquierda como derecha. A la vez se realiza el etiquetado.

```

HiperVoxels(:, :, j) = (IMG_SLICE > THR & SN(:, :, j) == label_SN_left) * label_SN_left +
(IMG_SLICE > THR & SN(:, :, j) == label_SN_right) * label_SN_right

```

Una vez obtenido los volúmenes izquierdo y derecho totales para todos los umbrales establecidos, hay que multiplicarlos por el spacing.

Para obtener el volumen izquierdo y derecho se procede de la siguiente manera:

```

vol_left = vol_left * dV vol_rigth = vol_rigth * dV

```

Y para obtener el volumen del contralateral al lado clínicamente más afectado multiplicando los vóxeles por el spacing (*dV*), se utiliza una sentencia condicional:

```

if((onset(i)==0) || (onset(i)==9) || (onset(i)==2)) vol_rigth = vol_left * dV
else
vol_rigth = vol_rigth * dV
end

```

Es decir, si el sujeto tiene como lado más afectado el lado derecho (*onset==0*) o tiene ambos lados afectados de la misma manera (*onset==2*) o bien si el sujeto es un sujeto control (*onset==9*), se guarda el volumen izquierdo en una variable llamada *vol_rigth*. Si por el contrario su lado afectado es el izquierdo (*onset==1*), también se guarda en la variable *vol_rigth*. Esto hace que todos los lados contralaterales se guarden en una misma columna de la matriz.

El último paso consiste en normalizar los volúmenes mediante el uso del volumen intracraneal (*ICV*) y posteriormente guardar los datos en una variable para su posterior estudio.

En la figura 4.60 se muestra un ejemplo del resultado de la obtención de los vóxeles hiperintensos de la SN en un sujeto.

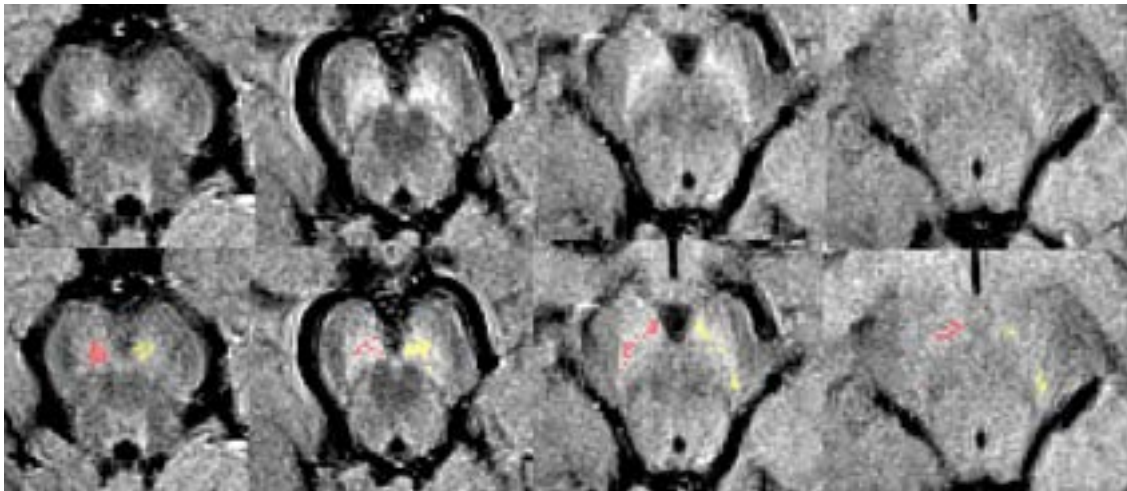


Figura 4.60: Imagen de la selección de vóxeles hiperintensos etiquetados para los dos hemisferios.

Algorithm 8 Obtención del volumen de los vóxeles hiperintensos de la segmentación de la SN.

Require: Imagen T1 NM, segmentación del mesencéfalo y segmentación de la sustancia nigra.

Ensure: Imagen con los vóxeles hiperintensos de la SN.

```

% Obtención de datos de los somas
% Bucle para recorrer todos los somas.
1: for  $i = 1$  to  $numel(listIMG)$  do
2:   Obtener ruta concreta de las imágenes
3:   Lectura de las imágenes  $\rightarrow niftiread$ 
   % Establecer intervalos para el valor multiplicador de la desviación típica ( $z$ ).
   % Bucle para recorrer el plano axial.
4:   for  $j = 1$  to  $size(brainIm, 3)$  do
5:     Crear una variable de cada slice de la segmentación del mesencéfalo
6:      $\rightarrow LAB\_MT\_SLICE = double(IMG(:,:,j))$ 
7:     if existe segmentación del mesencéfalo then
8:       Guardar los vóxeles de la imagen de T1 NM que pertenezcan al mesencéfalo en una
       variable
       {Obtener valor umbral }
9:       Media de los valores del mesencéfalo  $\rightarrow mean$ 
10:      Desviación estándar de la región del mesencéfalo  $\rightarrow std$ 
11:      Umbral = media + ( $z$  * desviación estándar)
       {Aplicar el umbral al slice de la imagen de T1 NM}
12:      Todos los vóxeles de la imagen T1 NM  $\zeta$  umbral establecido  $\rightarrow$  Guardar en variable
13:      Obtener volumen mediante la multiplicación del spacing (dV)
14:      Guardar valores de los volúmenes
15:     end if
16:   end for
17: end for

```

4.5.3. Obtención de la intensidad de señal (CNR) de la SN

En cuanto a las medidas seleccionadas para evaluar en la segmentación de la SN, la última es el nivel de intensidad de la señal en la imagen de T1 NM en la región toda la región segmentada.

El procedimiento llevado a cabo para la obtención del contraste de ruido (CNR) se basa en un estudio anterior [10] que utiliza la siguiente fórmula:

$$CNR_{SN} = \frac{(MN_{SN} - MN_{PC})}{SD_{PC}} \quad (4.5)$$

donde MN_{SN} y MN_{PC} se corresponden con la media de la señal de intensidad de la SN y del pedúnculo cerebral, respectivamente, y SD_{PC} se trata de la desviación estándar de la ROI del pedúnculo cerebral

Localización en carpetas. DEMO GET_CNR

- Carpeta **data**.
 - NATIVO. Esta carpeta contiene las segmentaciones semiautomáticas.
 - REGISTRADAS. Esta carpeta contiene a su vez carpetas con las segmentaciones realizadas de manera automática, con los distintos modelos de segmentación.
- Carpeta **script**. Esta carpeta contiene dos scripts con los que se realiza la obtención de las intensidades. Además contiene las tablas con la información de los sujetos y la función que se utiliza para leer las imágenes (*MedicalVolumeLoaderITKMEX*).

Descripción detallada del código

Lo primero que se realiza es la lectura de las imágenes necesarias, es decir, la imagen de T1 NM, la segmentación de la sustancia nigra y por último, la ROI de los pedúnculos cerebrales. Esto se lleva a cabo con la función *MedicalVolumeLoaderITKMEX*, con ella se obtiene la matriz de intensidades.

```
[IMG,~,~,~,~] = MedicalVolumeLoaderITKMEX(pathIMG)
[LABEL,~,~,~,~] = MedicalVolumeLoaderITKMEX(pathLabel)
[ROIcc,~,~,~,~] = MedicalVolumeLoaderITKMEX(pathROIcc)
```

siendo *pathIMG*, *pathLabel* y *pathROIcc* las rutas a la imagen de T1NM, a la segmentación de la SN y a la ROI del PC, respectivamente.

A continuación se distingue entre la sustancia nigra del hemisferio derecho e izquierdo, mediante el uso de las etiquetas previamente definidas. Además se realiza la binarización de las ROIs de los pedúnculos cerebrales.

```
label_SN_left = 4
label_SN_right = 1
```

```

LABEL_LEFT = (LABEL == label_SN_left)
LABEL_RIGHT = (LABEL == label_SN_right)
ROIcc = (ROIcc == 7 | ROIcc == 8)

```

Posteriormente se calculan las intensidades de la imagen de T1 NM correspondiente a la estructura de la SN izquierda y derecha. Y se guardan en una nueva variable.

```

I_LAB_LEFT = single(IMG(LABEL_LEFT))
I_LAB_RIGHT = single(IMG(LABEL_RIGHT))

```

También, se calcula la intensidad correspondiente en la T1 NM con la ROI de los PC, así como la media y la desviación típica de los valores obtenidos:

```

I_ROI = single(IMG(ROIcc))
I_ROI_mean = mean(I_ROI)
SD_PC = std(I_ROI)

```

Por último, se calcula el valor de la intensidad de señal como se expresa en la ecuación 4.6:

```

I_LAB_LEFT = mean(I_LAB_LEFT(:))
I_LAB_RIGHT = mean(I_LAB_RIGHT(:))

hiperLevel_L = (I_LAB_LEFT - I_ROI_mean) / SD_PC
hiperLevel_R = (I_LAB_RIGHT - I_ROI_mean) / SD_PC

```

donde *hiperLevel_L* es el valor del CNR para el hemisferio izquierdo e *hiperLevel_R* para el derecho.

4.5.4. Obtención del volumen deL LC

Para obtener el volumen de la segmentación del LC se ha utilizado el mismo script que para realizar la propia segmentación. Esto es debido a que la obtención de la segmentación se basaba en el volumen promedio de la segmentación de los sujetos control. De esta manera una vez se selecciona el umbral óptimo, es posible calcular el volumen del locus coeruleus como queda detallado en la sección 4.4.2:

```

vol_left = vol_left + sum(IMG_SLICE_L(:) > THR)
vol_right = vol_right + sum(IMG_SLICE_R(:) > THR)

```

Una vez obtenido el volumen, es necesario multiplicarlo por el *spacing* para que el volumen que se va a evaluar sea el real. El *spacing* se puede conseguir mediante la función *MedicalVolumeLoaderITKMEX*, que permite obtener la matriz de intensidades y también el *spacing*:

```

[Seg,Spacing]= MedicalVolumeLoaderITKMEX(pSeg)

```

o bien, como la segmentación se lleva a cabo en el espacio nativo de cada sujeto, se puede crear una variable *dV* con el tamaño de vóxel del espacio nativo y multiplicarlo por las variables del volumen izquierdo y derecho:

```

dV= 0.6875*0.6875*3
vol_left=vol_left *dV
vol_rightt=vol_rightt *dV

```

Por último, antes de evaluar la calidad como biomarcador, se normalizan los volúmenes mediante la división del mismo entre el volumen intracraneal (ICV).

4.5.5. Obtención de la intensidad de señal (CNR) del LC

El procedimiento llevado a cabo para la obtención del contraste de ruido (CNR) del LC es el mismo que para la sustancia nigra:

$$CNR_{LC} = \frac{(MN_{LC} - MN_{LC})}{SD_{LC}} \quad (4.6)$$

donde MN_{LC} y MN_{LC} se corresponden con la media de la señal de intensidad del LC y de LA ROI de *background* que se utilice según la metodología empleada.

Descripción detallada del código

Lo primero que se realiza es la lectura de las imágenes necesarias, es decir, la imagen de T1 NM, la segmentación del LC y por último, la ROI de referencia utilizada en cada caso. Esto se lleva a cabo con la función *MedicalVolumeLoaderITKMEX*, con ella se obtiene la matriz de intensidades.

```

[IMG,~,~,~,~] = MedicalVolumeLoaderITKMEX(pIMG)
[LABEL,~,~,~,~] = MedicalVolumeLoaderITKMEX(pLC)
[ROIcc,~,~,~,~] = MedicalVolumeLoaderITKMEX(pROI)

```

siendo $pIMG$, pLC y $pROI$ las rutas a la imagen de T1NM, a la segmentación del LC y a la ROI de referencia, respectivamente.

A continuación se distingue entre el locus coeruleus del hemisferio derecho e izquierdo, mediante el uso de las etiquetas previamente definidas.

```

label_SN_left = 2
label_SN_right = 6
label_ROI =4

```

```

LABEL_LEFT = (LABEL == label_SN_left)
LABEL_RIGHT = (LABEL == label_SN_right)
ROI = (ROI = label_ROI)

```

Posteriormente se calculan las intensidades de la imagen de T1 NM correspondiente a la estructura del LC izquierda y derecha. Y se guardan en una nueva variable.

```

I_LAB_LEFT = single(IMG(LABEL_LEFT))
I_LAB_RIGHT = single(IMG(LABEL_RIGHT))

```

También, se calcula la intensidad correspondiente en la T1 NM con la ROI de referencia utilizada, así como la media y la desviación típica de los valores obtenidos:

$$\begin{aligned} I_{ROI} &= \text{single}(\text{IMG}(\text{ROI})) \\ I_{ROI_mean} &= \text{mean}(I_{ROI}) \\ SD_{PC} &= \text{std}(I_{ROI}) \end{aligned}$$

Por último, se calcula el valor de la intensidad de señal como se expresa en la ecuación 4.6:

$$\begin{aligned} I_{LAB_LEFT} &= \text{mean}(I_{LAB_LEFT}(:)) \\ I_{LAB_RIGHT} &= \text{mean}(I_{LAB_RIGHT}(:)) \\ \text{hiperLevel}_L &= (I_{LAB_LEFT} - I_{ROI_mean}) / SD_{PC} \\ \text{hiperLevel}_R &= (I_{LAB_RIGHT} - I_{ROI_mean}) / SD_{PC} \end{aligned}$$

donde *hiperLevel_L* es el valor del CNR para el hemisferio izquierdo e *hiperLevel_R* para el derecho.

Capítulo 5

Resultados

En este capítulo se exponen los resultados obtenidos con los métodos planteados en el capítulo 4 y se realiza una evaluación de los mismos a través de análisis estadísticos. Los principales análisis utilizados son el análisis de la varianza (ANOVA), el análisis de validación cruzada dejando uno fuera (LOO) y análisis de las características del receptor (ROC). Además, se hace uso del coeficiente DICE, que mide el grado de similitud entre muestras para comprobar la calidad de las segmentaciones.

Por una parte el **análisis de la varianza con un factor** (ANOVA) se utiliza para contrastar la hipótesis nula de que el valor medio de dos o más poblaciones coincide, frente a la hipótesis alternativa de que las poblaciones difieren en cuanto a su valor esperado. En este estudio las dos poblaciones que se comparan son los pacientes con la enfermedad de Parkinson *de novo* y los sujetos control. Este análisis queda detallado en el Anexo B, sección B.4.

Por otro lado, el **análisis de la validación cruzada dejando uno fuera** o Leave-One-Out (LOO) se utiliza para evaluar la calidad de diagnóstico de la enfermedad a través de medidas como la sensibilidad, especificidad y precisión. Además, con esta información se realiza un **análisis ROC** con el que se muestra el rendimiento del modelo de clasificación a través del área bajo la curva (AUC).

Se considera conveniente realizar algunas aclaraciones sobre los términos que van a ser utilizados en este capítulo. Todas ellas quedan detalladas de manera más explícita en el Anexo B. Las medidas que se muestran en las tablas de resultados siguen, por lo general, un orden:

p-valor	SE %	SP %	VPP %	VPN %	ACC %	AUC %
---------	------	------	-------	-------	-------	-------

Siendo: p-valor el obtenido con el ANOVA, SE la sensibilidad, SP la especificidad, VPP el valor predictivo positivo, VPN valor predictivo negativo, ACC la precisión y AUC el área bajo la curva obtenida con el análisis ROC. Todas ellas, a excepción del p-valor, se expresan en tanto por ciento.

5.1. Evaluación de los biomarcadores obtenidos con las segmentaciones semiautomáticas de la SN.

La evaluación de los biomarcadores potenciales de la enfermedad de Parkinson se basa en la capacidad para discriminar entre los sujetos sanos (HC) y los sujetos con la enfermedad de Parkinson (EP). También, se valorará la calidad de diagnóstico que ofrece cada uno de ellos.

Los biomarcadores que se basan en la segmentación de una estructura cerebral están estrechamente relacionados con la calidad de dicha segmentación. Para considerar válido el proceso de segmentación llevado a cabo en este estudio, el grado de similitud de las segmentaciones obtenidas con respecto a las segmentaciones realizadas en el estudio previo [5], que se toma como referencia, deberá ser el máximo posible.

Cálculo del coeficiente DICE.

Para obtener la segmentación semiautomática de la sustancia nigra se utilizan, además de la imagen de T1 NM, imágenes binarias que sirven para localizar la estructura cerebral que se desea segmentar (ROI SN) o bien para obtener un valor umbral a partir del cual segmentar (ROI PC) (Sección 4.4.1). Por este motivo antes de evaluar la segmentación final, se ha de comprobar mediante el coeficiente DICE (detallado en el Anexo B.6) que las imágenes que se utilizan son adecuadas.

En primer lugar, como las imágenes de T1 NM no son binarias no se puede realizar el cálculo del coeficiente DICE. Por otra parte, la imagen necesaria para crear la máscara que localiza la SN ha sido modificada con respecto al estudio de referencia. En el estudio previo [5] se utilizó un rectángulo que se posicionaba encima de la estructura de la SN. En este trabajo se ha optado por optimizar el proceso de limpieza de vóxeles, creando una ROI con forma ovalada que cubre todo lo que se considera SN. Por consiguiente, se ha decidido no calcular el coeficiente DICE, puesto que al no ser parecidas no se espera obtener un buen resultado.

La tercera imagen necesaria para llevar a cabo la segmentación de la SN es la ROI de los pedúnculos cerebrales, necesaria para calcular el valor umbral. Ésta se basa en el estudio previo que se toma como referencia [5] ya que tiene forma circular de 4mm y se delineó slice a slice en todas las rodajas donde se podía visualizar la SN. Por tanto, en este caso sí se considera importante calcular el coeficiente DICE.

Una vez que el coeficiente DICE de la ROI de los PC se valida, el siguiente paso consiste en realizar la segmentación semiautomática de la SN. Posteriormente, se procede a calcular el coeficiente DICE de estas segmentaciones.

Por último, para seleccionar los vóxeles más hiperintensos dentro de la SN, se utiliza el mesencéfalo como región de referencia para obtener el umbral. La segmentación del mesencéfalo se realiza manualmente y en el espacio nativo en ambos estudios. De esta estructura cerebral también se calcula el coeficiente DICE.

5.1. EVALUACIÓN DE LOS BIOMARCADORES OBTENIDOS CON LAS SEGMENTACIONES SEMIAUTOMÁTICAS

El estudio previo que se toma como referencia contaba con un total de 24 sujetos y este estudio cuenta con 43 sujetos. Por lo tanto, los resultados que se muestran en la tabla 5.1, son resultados promedio de todos los coeficientes DICE de los sujetos comunes a ambos estudios.

	ROIs PC	Segmentación SN	Segmentación MES
DICE	0.5081	0.7565	0.8903

Tabla 5.1: Coeficientes DICE promedio entre las ROIs y las segmentaciones de este trabajo y el estudio previo.

El resultado promedio del coeficiente DICE entre las segmentaciones de la SN no es muy alto y una posible causa puede ser la discrepancia en el número de slices utilizados entre ambos trabajos. Aunque el grado de similitud entre ambas segmentaciones no es el esperado, en gran parte, debido a que el coeficiente DICE de la ROI de los PC no es muy alto, se tomará como válido el proceso de segmentación. Éste ha sido llevado a cabo con un valor del multiplicador de la desviación estándar de 2 en la ecuación 4.2.

En el caso de la segmentación del mesencéfalo a pesar de diferir en el número de slices de algunos sujetos, al ser una estructura grande, se obtiene un DICE bastante elevado y totalmente válido.

Una vez que el procedimiento seguido para obtener las segmentaciones se valida mediante los coeficientes DICE, se procede a realizar las ROIs y las segmentaciones en el resto de sujetos que el estudio previo no tenía.

5.1.1. Evaluación de la volumetría de la SN como biomarcador diferencial de la enfermedad de Parkinson

En estudios anteriores como [1] o [10], que han utilizado imágenes de resonancia magnética, se ha demostrado una reducción significativa en las medidas de volumen de la SN en los sujetos con la enfermedad de Parkinson con respecto a los sujetos control. Por este motivo, se ha realizado un estudio de la volumetría de la SN para comprobar su capacidad como biomarcador de la enfermedad de Parkinson en pacientes *de novo*. El proceso de obtención del volumen queda detallado en la sección 4.5.1.

Las medidas que se evalúan para la volumetría de la segmentación de la sustancia nigra son ¹:

- Volumetría de la sustancia nigra izquierda (SN_I)
- Volumetría de la sustancia nigra derecha (SN_D)
- Volumetría de la sustancia nigra bilateral (SN_BI)
- Volumetría de la sustancia nigra contralateral al lado clínicamente más afectado (SN_CONTRA)
- Volumetría de la sustancia nigra ipsilateral al lado clínicamente más afectado (SN_IPSI)

Los volúmenes obtenidos de cada una de las medidas quedan reflejados en la siguiente tabla siguiendo el patrón: *media ± desviación estándar*.

	SN_I	SN_D	SN_BI	SN_CONTRA	SN_IPSI
HC	301.69 ± 71.49	264.16 ± 76.03	565.85 ± 140.36	301.69 ± 71.49	264.16 ± 76.03
EP	263.31 ± 70.57	243.21 ± 50.56	506.52 ± 100.41	250.92 ± 77.45	255.60 ± 41.69

Tabla 5.2: Valores promedio del volumen de la segmentación semiautomática de la SN de los sujetos control (HC) y de los pacientes con la enfermedad de Parkinson *de novo* (EP) en mm³.

Para comprobar su capacidad como biomarcador discriminando entre EP *de novo* y HC, se calcula el p-valor obtenido mediante ANOVA. Por otra parte, se empleará el análisis LOO y con la curva ROC se obtendrá la calidad de diagnóstico.

	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
SN_I	0,0845	70	50	65	59	60	0,589
SN_D	0,2881	48	40	48	40	44	0,500
SN_BI	0,1153	52	55	57	50	53	0,583
SN_CONTRA	0,0319	65	55	63	58	60	0,648
SN_IPSI	0,6440	52	40	50	42	47	0,365

Tabla 5.3: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

¹El lado contralateral de los sujetos control es considerado como el lado izquierdo, y el ipsilateral como el derecho.

Entre los valores que se muestran en la tabla 5.3, destaca el volumen del lado contralateral al clínicamente más afectado. Con el ANOVA, se obtiene un p-valor de 0,0319 que se encuentra dentro del umbral de significancia estadística aceptado ($\alpha < 0,05$) para poder rechazar la hipótesis nula (figura 5.5). Y de la misma manera, con el análisis LOO, se obtiene un AUC de 0,648 que se consideraría satisfactorio pero no robusto. A pesar de estos valores, los resultados de sensibilidad y especificidad, así como la precisión no son valores que ofrezcan una excelente clasificación. Por consiguiente, no se considerará como biomarcador de la enfermedad de Parkinson en pacientes *de novo*.

En cuanto al análisis de la varianza para el lado izquierdo, derecho, bilateral e ipsilateral, se obtienen p-valores elevados, no pudiendo de esta manera rechazar la hipótesis nula que establece que los valores medios de ambas poblaciones son iguales. Por otra parte, al realizar el estudio de validación cruzada dejando uno fuera (LOO), se obtienen valores de sensibilidad y especificidad muy bajos que no pueden ser utilizados para realizar pruebas diagnósticas. Con estos valores se lleva a cabo el análisis ROC, pero como es de esperar, el área bajo la curva es aproximadamente de 0,5 en la mayoría de los casos, haciendo que el diagnóstico sea totalmente arbitrario.

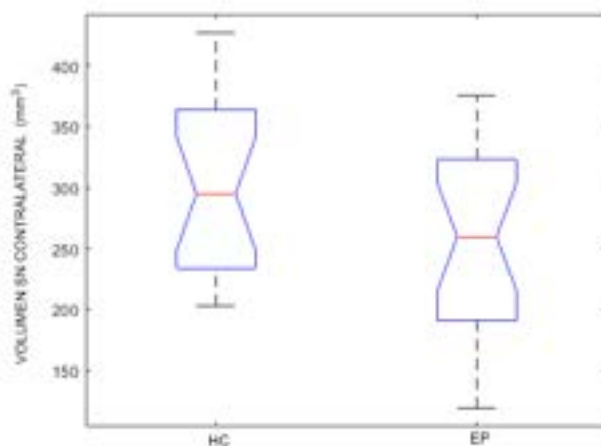


Figura 5.1: Diagrama caja-bigotes del volumen de la segmentación semiautomática de la sustancia nigra del lado contralateral al clínicamente más afectado (SN_CONTRA).

5.1.2. Evaluación de la volumetría de los hiperintensos de la SN como biomarcador diferencial de la enfermedad de Parkinson

Estudios previos como [10] y [37], han demostrado que los vóxeles hiperintensos de la SN muestran mejores resultados que el volumen completo de la SN, a la hora de discriminar entre pacientes con la enfermedad de Parkinson y sujetos control. En este apartado se comprueba que esta afirmación también es válida cuando se trata de discriminar entre pacientes *de novo* y sujetos control. En la sección 4.5.2 se detalla el procedimiento para obtener el volumen de los vóxeles más hiperintensos de la SN.

El proceso de ajustar el valor que multiplica a la desviación estándar de la fórmula 4.4, con la que se obtiene el umbral de selección de vóxeles, se basa en el valor promedio del volumen de los vóxeles hiperintensos de los sujetos control. El valor que se toma como *gold standard* es el que se establece en [38]. En este estudio previo se establece que el volumen post-mortem de los vóxeles hiperintensos es de $127,7 \text{ mm}^3 \pm 23,1$. Es importante destacar que este volumen no está normalizado y por consiguiente, no se dividirá entre el volumen intracraneal para obtener la media del volumen de los HC.

Las medidas que se evalúan para la volumetría de los vóxeles más hiperintensos de la segmentación de la sustancia nigra son:

- Volumetría hiperintensos de la sustancia nigra izquierda (HSN_I)
- Volumetría hiperintensos de la sustancia nigra derecha (HSN_D)
- Volumetría hiperintensos de la sustancia nigra bilateral (HSN_BI)
- Volumetría hiperintensos de la sustancia nigra contralateral al lado clínicamente más afectado (HSN_CONTRA)
- Volumetría hiperintensos de la sustancia nigra ipsilateral al lado clínicamente más afectado (HSN_IPSI)

Los volúmenes obtenidos de cada una de las medidas quedan reflejados en la siguiente tabla siguiendo el patrón: *media* \pm *desviación estándar*.

	HSN_I	HSN_D	HSN_BI	HSN_CONTRA	HSN_IPSI
HC	73,31 \pm 23,25	54,73 \pm 21.38	128.04 \pm 21.38	73,31 \pm 23,25	54,73 \pm 21.38
EP	44.64 \pm 25.14	52.40 \pm 28.37	97.04 \pm 48.04	42.29 \pm 23.47	64.30 \pm 19.87

Tabla 5.4: Valores promedio del volumen de los vóxeles más hiperintensos de la segmentación semiautomática de la SN de los sujetos control (HC) y de los pacientes con la enfermedad de Parkinson *de novo* (EP) en mm^3 .

Una vez se ha elegido el multiplicador de la desviación estándar que mejor se ajusta, el siguiente paso es comprobar la calidad como biomarcador. Para evaluar la capacidad de diagnóstico del volumen de los hiperintensos se debe normalizar mediante el volumen intracraneal (ICV) de cada sujeto.

	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
HSN_I	0,0008	74	80	81	73	77	0,772
HSN_D	0,6768	52	55	57	50	53	0,443
HSN_BI	0,0494	65	65	68	62	65	0,630
HSN_CONTRA	3,18x10e-5	87	80	83	84	84	0,837
HSN_IPSI	0,2896	57	60	62	55	58	0,561

Tabla 5.5: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos de la SN. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

En la tabla 5.5 se muestran los resultados obtenidos con el ANOVA y el análisis de validación cruzada para discriminar a los sujetos control de los que padecen la

5.1. EVALUACIÓN DE LOS BIOMARCADORES OBTENIDOS CON LAS SEGMENTACIONES SEMIAUTOMÁTICAS

enfermedad *de novo*, utilizando como biomarcador el volumen de los vóxeles más hiperintensos.

En general, los resultados muestran una gran mejoría de diagnóstico comparado con los obtenidos al utilizar el volumen completo de la SN. Aún así, destaca un peor resultado del lado derecho con respecto a la volumetría de la SN completa, con un aumento del p-valor de un 0,2881 a un 0,6768.

El valor del volumen de los vóxeles hiperintensos de ambos lados al mismo tiempo (SN_BI) tiene un p-valor $< 0,05$ pero un AUC no muy elevado, por lo tanto no se considera como biomarcador fiable. Por otro lado, los resultados del lado ipsilateral al clínicamente más afectado muestran una capacidad de diagnóstico mala, con una predicción totalmente aleatoria.

El volumen de los hiperintensos del lado contralateral al clínicamente más afectado es, sin duda, un biomarcador que garantiza su efectividad a la hora de discriminar entre los grupos de sujetos pacientes y controles. Por un lado se obtiene un p-valor $< 0,001$ que permiten rechazar la hipótesis nula y afirmar que hay diferencias entre las poblaciones de sujetos sanos y enfermos. Por otro lado, se obtiene un AUC de 0,837 en el análisis de la validación cruzada que implica robustez y buen rendimiento del clasificador. No hay que pasar por alto que el volumen de los hiperintensos del lado izquierdo también garantiza la discriminación entre ambas poblaciones con un p-valor $< 0,001$ y un área bajo la curva de 0,772.

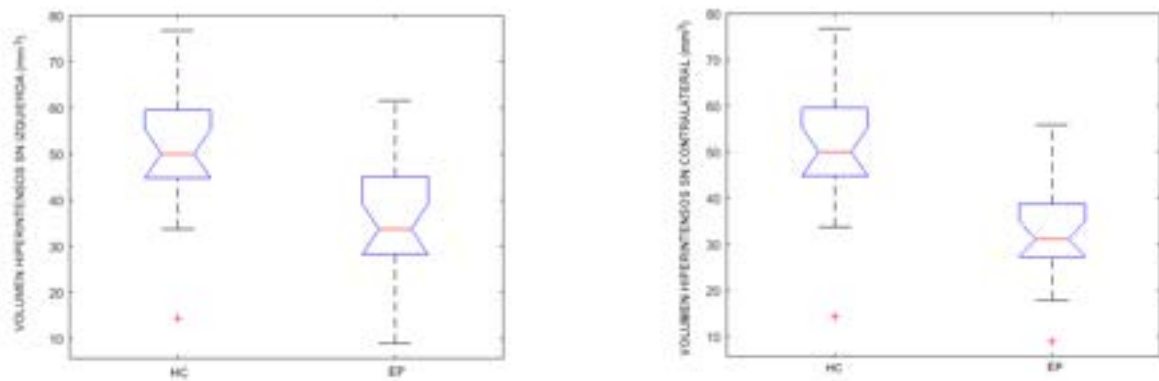


Figura 5.2: Diagrama caja-bigotes del volumen de los hiperintensos de la sustancia nigra del lado izquierdo (HSN_I) y del lado contralateral al clínicamente más afectado (HSN_CONTRA).

5.1.3. Evaluación de contraste señal a ruido (CNR) de la SN como biomarcador diferencial de la enfermedad de Parkinson

El siguiente biomarcador a evaluar es el contraste a ruido (CNR) de la estructura de la sustancia nigra segmentada de manera semiautomática. El proceso de obtención de los valores del CNR se detalla en la sección 4.5.3.

Las medidas que se evalúan para el CNR de la segmentación de la sustancia nigra son:

- CNR de la sustancia nigra izquierda (CNR_I)
- CNR de la sustancia nigra derecha (CNR_D)
- CNR de la sustancia nigra bilateral (CNR_BI)
- CNR de la sustancia nigra contralateral al lado clínicamente más afectado (CNR_CONTRA)
- CNR de la sustancia nigra ipsilateral al al lado clínicamente más afectado (CNR_IPSI)

Las intensidades obtenidas de cada una de las medidas quedan reflejados en la siguiente tabla siguiendo el patrón: *media* \pm *desviación estándar*.

	CNR_I	CNR_D	CNR_BI	CNR_CONTRA	CNR_IPSI
HC	3,07 \pm 0,48	2,96 \pm 0,45	6,03 \pm 0,92	3,07 \pm 0,48	2,96 \pm 0,45
EP	2,73 \pm 0,38	2,81 \pm 0,43	5,54 \pm 0,80	2,73 \pm 0,38	2,82 \pm 0,43

Tabla 5.6: Valores promedio del CNR de la segmentación semiautomática de la SN de los sujetos control (HC) y de los pacientes con la enfermedad de Parkinson *de novo* (EP).

	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
CNR_I	0,0127	70	70	73	67	70	0.702
CNR_D	0,2849	52	60	60	52	56	0.546
CNR_BI	0,0685	57	60	62	55	58	0.620
CNR_CONTRA	0,0116	78	70	75	74	74	0.722
CNR_IPSI	0,2977	48	55	55	48	51	0.539

Tabla 5.7: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO del CNR de las segmentaciones de la SN. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

Los resultados obtenidos reflejados en la tabla 5.7, muestran unos valores no muy aceptables para el caso del lado derecho, bilateral e ipsilateral. En cambio, para el lado conralateral se obtiene un p-valor de 0,0116 que es menor de 0,05 y un área bajo la curva de 0,722, que es aceptable. Los resultados del lado izquierdo se asemejan a los del lado contralateral pero tienen una sensibilidad, especificidad y una precisión menor.

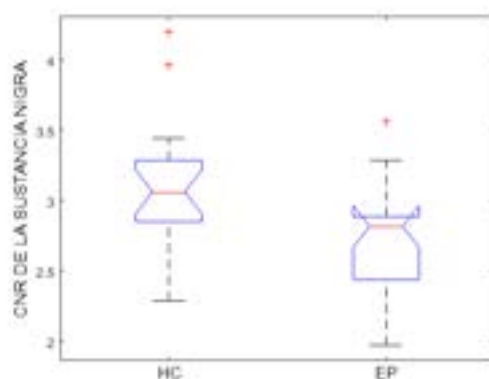


Figura 5.3: Diagrama caja-bigotes del CNR de la sustancia nigra del lado contralateral al clínicamente más afectado (CNR_CONTRA).

5.2. Evaluación de los biomarcadores obtenidos con las segmentaciones automáticas de la SN.

5.2.1. Evaluación de la volumetría de la SN como biomarcador diferencial de la enfermedad de Parkinson

En esta sección se evalúa la calidad de la volumetría de la SN completa como biomarcador, como en la sección 5.1.1, pero esta vez con las segmentaciones automáticas y utilizando como ROI de los pedúnculos cerebrales los distintos modelos creados.

Las medidas que se evalúan para la volumetría de la segmentación automática de la sustancia nigra son:

- Volumetría de la sustancia nigra izquierda (SN_I)
- Volumetría de la sustancia nigra derecha (SN_D)
- Volumetría de la sustancia nigra bilateral (SN_BI)
- Volumetría de la sustancia nigra contralateral al lado clínicamente más afectado (SN_CONTRA)
- Volumetría de la sustancia nigra ipsilateral al lado clínicamente más afectado (SN_IPSI)

Los resultados de la segmentación automática no difieren mucho de los obtenidos para la segmentación semiautomática. Se vuelve a corroborar que la volumetría de la SN derecha, izquierda, bilateral, ipsilateral no son buenos biomarcadores para la detección de la enfermedad en un sujeto. Los p-valores son, en la mayoría de casos, mayores de 0,05 y por lo tanto, no se puede rechazar la hipótesis nula que establece que ambas poblaciones tienen las mismas distribuciones.

El lado contralateral es el que mejores resultados ofrece y por ello se detalla en la tabla 5.8 un resumen con los resultados de los análisis. No por ello se ha considerado que esta medida pueda ser utilizada como biomarcador fiable, al menos por sí sola.

Volumen de la SN del lado contralateral							
MODELOS	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
PC1 SAS	0,4308	60	60	60	60	60	0.557
PC1 VOL	0,0591	65	60	62	63	63	0.655
PC2 SAS	0,0350	65	65	65	65	65	0.702
PC2 VOL	0,0441	65	65	65	65	65	0.667
PC3	0,5932	65	60	62	63	63	0.480
PC4	0,3190	65	60	62	63	63	0.595
PC5	0,8651	25	15	23	17	20	0.125
PC6	0,2248	65	50	57	59	57	0.563
PC7	0,2918	65	55	59	61	60	0.573

Tabla 5.8: Resumen de los resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO sobre la volumetría de la SN del lado contralateral al clínicamente más afectado. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

Uno de los casos destacables es el lado contralateral al clínicamente más afectado es el modelo PC2 SAS. El ANOVA da como resultado un p-valor de 0,0350 y el área bajo la curva es de 0,702. Ambos valores son muy aceptables y la sensibilidad y especificidad tienen valores moderadamente buenos.

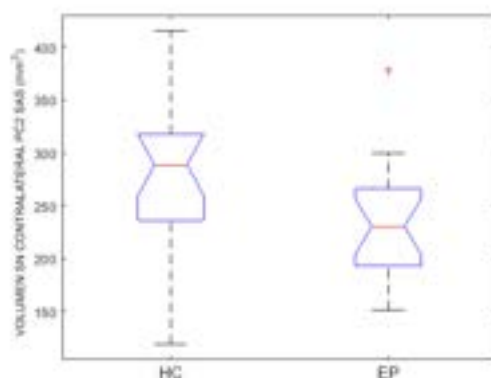


Figura 5.4: Diagrama caja-bigotes de la volumetría de la segmentación automática con el modelo PC2 SAS de la sustancia negra del lado contralateral al clínicamente más afectado (CNR_CONTRA).

Todos los resultados de la volumetría de las distintas segmentaciones automáticas de la sustancia negra, junto con los valores obtenidos de los análisis ANOVA y LOO que evalúan esta medida como biomarcador de la enfermedad, quedan detalladas en el Anexo A.1.

Comparación de las segmentaciones realizadas de manera semiautomática y las segmentaciones realizadas de manera automática.

En este estudio, las segmentaciones realizadas de manera semiautomática son las consideradas como *gold standard*, por lo tanto, se realiza el cálculo del coeficiente DICE entre la segmentación semiautomática y las creadas de manera automática.

	PC1SAS	PC1VOL	PC2SAS	PC2VOL	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7
DICE	0,7753	0,6895	0,7870	0,7175	0,7091	0,7121	0,7208	0,7380	0,7305

Tabla 5.9: Valor promedio de los coeficientes DICE entre la segmentación semiautomática y las diferentes segmentaciones automáticas.

En la tabla 5.9 se puede observar que el modelo de segmentación automática que posee una mayor similitud con la segmentación semiautomática es el PC2 SAS. Este resultado es coherente con lo evaluado en el anterior apartado respecto a de volumetría de la SN en el lado contralateral.

En general, todos los resultados de los coeficientes DICE son muy aceptables, por lo que se considera que la segmentación automática hace un buen trabajo.

5.2.2. Evaluación de la volumetría de los hiperintensos de la SN como biomarcador diferencial de la enfermedad de Parkinson

En esta sección se estudia la calidad de la volumetría de los vóxeles más hiperintensos como biomarcador de la enfermedad de Parkinson, en las segmentaciones automáticas. El procedimiento a seguir es el mismo que en el caso de las segmentaciones semiautomáticas. En la sección 4.5.2 se detalla el proceso de obtención de los vóxeles más hiperintensos.

En la siguiente tabla se muestran los valores de β elegidos para la selección de los vóxeles hiperintensos y el volumen promedio de los vóxeles hiperintensos de los sujetos control en mm^3 .

	β	Volumen promedio vóxeles hiperintensos sujetos HC
PC1 SAS	1.78	129,04 \pm 54,50
PC1 VOL	1,78	125,06 \pm 54,97
PC2 SAS	1.80	125.84 \pm 53.90
PC2 VOL	1.78	128.11 \pm 56.91
PC3	1.80	125.06 \pm 54,48
PC4	1.80	129.25 \pm 55.03
PC5	1.80	125.77 \pm 55.19
PC6	1.80	125.49 \pm 54.60
PC7	1.78	128.54 \pm 57.47

Tabla 5.10: Valores del multiplicador de la desviación estándar (β) y el volumen que se obtiene con dicho umbral para los sujetos control (HC).

Una vez se selecciona el valor de β , se procede al estudio del biomarcador. Para ello, es necesario normalizar los volúmenes antes de realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada dejando uno fuera (LOO).

Las medidas que se evalúan para la volumetría de los vóxeles más hiperintensos de las segmentaciones automáticas de la sustancia nigra son:

- Volumetría hiperintensos de la sustancia nigra izquierda (HSN_I)
- Volumetría hiperintensos de la sustancia nigra derecha (HSN_D)
- Volumetría hiperintensos de la sustancia nigra bilateral (HSN_BI)
- Volumetría hiperintensos de la sustancia nigra contralateral al lado clínicamente más afectado (HSN_CONTRA)
- Volumetría hiperintensos de la sustancia nigra ipsilateral al lado clínicamente más afectado (HSN_IPSI)

Para facilitar la comprensión de esta sección se realiza una recopilación de los mejores resultados obtenidos con esta medida. En caso de que el lector esté interesado en todos los resultados de las volumetrías de los hiperintensos y los resultados obtenidos que evalúan su calidad de diagnóstico, ver Anexo A.2.

Recopilación de los mejores resultados.

La medida que ha resultado ser mejor clasificador y por lo tanto, biomarcador en todos los modelos de segmentación automática, ha sido la volumetría de los hiperintensos del lado contralateral al clínicamente más afectado. En la tabla 5.11 se muestran los resultados de esta medida mediante el análisis de la validación cruzada y el ANOVA.

Hiperintensos de la SN del lado contralateral							
MODELOS	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
PC1 SAS	0,0005	70	70	70	70	70	0.765
PC1 VOL	0,0002	65	70	68	67	68	0.780
PC2 SAS	0,0002	70	70	70	70	70	0.777
PC2 VOL	0,0002	75	70	71	74	73	0.780
PC3	0,0003	70	70	70	70	70	0.775
PC4	0,0002	70	70	70	70	70	0.777
PC5	0,0005	70	65	67	68	68	0.762
PC6	0,0002	70	65	67	68	68	0.775
PC7	0,0005	70	70	70	70	70	0.760

Tabla 5.11: Tabla resumen de los resultados de la volumetría de los hiperintensos del lado contralateral al clínicamente más afectado como biomarcador de la enfermedad.

Los modelos con mejores resultados en cuanto al p-valor y al área bajo la curva son el PC1 VOL y el PC2 VOL. Cabe destacar que todos los valores son bastante parecidos y que por lo tanto, cualquiera de ellos serviría a la hora de utilizarlo como biomarcador por sí solo. En la tabla 5.2.2 se comparan ambos modelos. Como ya se ha detallado, el p-valor y el área bajo la curva coinciden pero la sensibilidad (SE) y la precisión (ACC) mejoran en el modelo PC2 VOL.

	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
PC1 VOL	0,0002	65	70	68	67	68	0,780
PC2 VOL	0,0002	75	70	71	74	73	0,780

Tabla 5.12: Valores estadísticos para los modelos con mejores resultados.

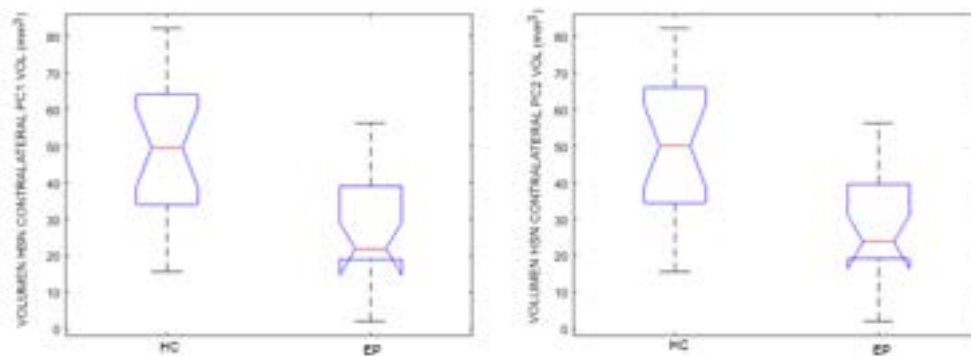


Figura 5.5: Diagrama caja-bigotes del volumen de los hiperintensos de la sustancia nigra del lado contralateral al clínicamente más afectado (HNS_CONTRA) del modelo PC1 VOL (izquierda) y PC2 VOL (derecha).

5.2.3. Evaluación de la intensidad de señal de la SN como biomarcador diferencial de la enfermedad de Parkinson

Al igual que con las segmentaciones semiautomáticas, el último biomarcador en relación a la sustancia nigra es el contraste a ruido (CNR) de la estructura de la sustancia nigra segmentada de manera automática.

Las medidas que se evalúan para el CNR de la segmentación de la sustancia nigra son:

- CNR de la sustancia nigra izquierda (CNR_I)
- CNR de la sustancia nigra derecha (CNR_D)
- CNR de la sustancia nigra bilateral (CNR_BI)
- CNR de la sustancia nigra contralateral al lado clínicamente más afectado (CNR_CONTRA)
- CNR de la sustancia nigra ipsilateral al lado clínicamente más afectado (CNR_IPSI)

En la tabla 5.13 se recogen los datos del lado contralateral al lado clínicamente más afectado ya que ha resultado ser la medida que mejor clasificaba a los grupos de sujetos entre EP y HC. Aun así, esto no sucede en todos los modelos, de hecho se podría destacar únicamente el modelo PC2 VOL con p-valor de 0,05 y un AUC moderadamente bueno de 0,677.

CNR de la segmentación de la SN del lado contralateral							
MODELOS	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
PC1 SAS	0,0798	50	60	56	55	55	0.610
PC1 VOL	0,1195	55	50	52	53	53	0.573
PC2 SAS	0,1399	50	55	53	52	53	0.555
PC2 VOL	0,0262	70	65	67	68	68	0.677
PC3	0,4903	10	75	29	45	43	0.345
PC4	0,0395	70	45	56	60	57	0.623
PC5	0,3372	70	45	56	60	57	0.515
PC6	0,2689	55	50	52	53	53	0.563
PC7	0,4576	60	55	57	58	57	0.515

Tabla 5.13: Tabla resumen de los resultados del CNR del lado contralateral al clínicamente más afectado de la SN como biomarcador de la enfermedad.

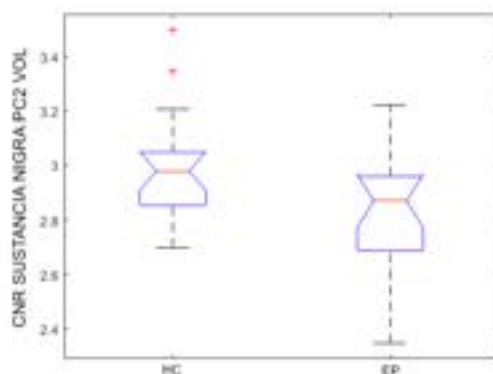


Figura 5.6: Diagrama caja-bigotes del CNR de la sustancia nigra del lado contralateral al clínicamente más afectado (CNR_CONTRA) con el modelo de segmentación automática PC2 VOL.

El resto de valores para las medidas del lado derecho, izquierdo, bilateral e ipsilateral al clínicamente más afectado se encuentran en el Anexo A.3.

5.3. Evaluación de los biomarcadores obtenidos con las segmentaciones semiautomáticas del LC

Como ya se ha detallado en la sección 4.4.2, cuando una persona padece la enfermedad de Parkinson, el locus coeruleus sufre una pérdida de neuronas noradrenérgicas y por lo tanto, el volumen de neuronas pigmentadas disminuye. Esta pérdida de neuronas pigmentadas hace que el LC sea una región en la que buscar diferencias significativas entre los sujetos sanos y los que padecen la enfermedad de Parkinson.

5.3.1. Evaluación de la volumetría del LC como biomarcador diferencial de la enfermedad de Parkinson

En esta sección se realiza la evaluación de la volumetría del locus coeruleus como biomarcador de la enfermedad.

Las medidas que se evalúan para la volumetría de la segmentación semiautomática del locus coeruleus son:

- Volumetría del locus coeruleus izquierdo (LC_I)
- Volumetría del locus coeruleus derecho (LC_D)
- Volumetría del locus coeruleus bilateral (LC_BI)
- Volumetría del locus coeruleus contralateral al lado clínicamente más afectado (LC_CONTRA)
- Volumetría del locus coeruleus ipsilateral al lado clínicamente más afectado (LC_IPSI)

La segmentación del LC se ha realizado con dos ROIs de *background*. La primera segmentación se basa en metodología descrita por Chen et al. y la segunda en la metodología descrita por Tona et al.

Los volúmenes obtenidos del LC con la primera metodología [2], es decir, situando la ROI de referencia en el puente tegmento (TG) son los que se muestran en siguiente tabla siguiendo el patrón: *media ± desviación estándar*:

	LC_I	LC_D	LC_BI	LC_CONTRA	LC_IPSI
HC	25.734 ± 16.58	10.99 ± 6.899	36.723 ± 22.66	25.74 ± 16.58	10.99 ± 6.90
EP	19.244 ± 13.37	8.64 ± 6.260	27.89 ± 18.55	18.03 ± 12.22	9.86 ± 9.62

Tabla 5.14: Valores promedio del volumen sin normalizar del locus coeruleus segmentado con la metodología de Chen et al. de los sujetos control (HC) y de los pacientes con la enfermedad de Parkinson *de novo* (EP) en mm³.

El objetivo era conseguir que la volumetría de cada hemisferio de los sujetos control se aproximase al volumen calculado para el *core* de 24 mm³. El resultado promedio obtenido para el lado izquierdo (25,74 mm³) se aproxima bastante al deseado. En cambio, el lado derecho queda bastante lejos del objetivo con 10,99 mm³. Esto sugiere una lateralización del LC con un volumen mayor en el caso del

hemisferio izquierdo.

Como bien se detalla en la sección 4.4.2, donde se explica el proceso de obtención del volumen, para esta metodología el multiplicador de la desviación típica que mejor se ajusta al criterio establecido es 3.6. Los valores que se obtienen con el ANOVA y el LOO son de los volúmenes del LC normalizado y quedan reflejados en la siguiente tabla:

	p-valor	SE	SP	VPP	VPN	ACC	AUC
LC_I	0,1239	67	50	58	59	59	0.598
LC_D	0,2094	67	40	54	53	54	0.545
LC_BI	0,1298	67	50	58	59	59	0.586
LC_CONTRA	0,0848	67	50	58	59	59	0.614
LC_IPSI	0,4547	62	40	52	50	51	0.507

Tabla 5.15: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO del volumen de las segmentaciones del LC con la primera metodología. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

Como se puede observar en la tabla 5.19, los resultados obtenidos muestran unos p-valores muy altos que hacen que no se pueda rechazar la hipótesis nula. Por otro lado, el área bajo la curva del análisis ROC está muy por debajo del caso ideal en todas las medidas. Esto hace que la capacidad de diagnóstico empleando los datos de la volumetría sea mala y no puedan ser utilizados para realizar pruebas diagnósticas de la enfermedad.

Por otro lado, los volúmenes obtenidos con la segunda metodología [42] en la que la ROI de referencia se sitúa en los pedúnculos cerebrales medios (MCP), son los que se muestran en la siguiente tabla siguiendo el patrón: *media ± desviación estándar*:

	LC_I	LC_D	LC_BI	LC_CONTRA	LC_IPSI
HC	24.96 ± 10.81	10.92 ± 6.56	35.88 ± 16.46	24.96 ± 10.81	10.92 ± 6.56
EP	20.86 ± 9.14	11.21 ± 5.51	32.07 ± 12.77	19.72 ± 8.57	12.36 ± 7.81


Tabla 5.16: Valores promedio del volumen sin normalizar del locus coeruleus segmentado con la metodología de Tona et al. de los sujetos control (HC) y de los pacientes con la enfermedad de Parkinson *de novo* (EP) en mm³.

En esta segunda metodología el volumen del hemisferio izquierdo también se aproxima al volumen estimado de la región del *core* del locus coeruleus. En el caso del hemisferio derecho el volumen promedio de los sujetos control vuelve a quedar lejos del estimado. Al igual que en las segmentaciones basadas en la metodología de Chen et al., se observa una lateralización de la región ya que el volumen izquierdo es mayor que el derecho.

En este caso, el valor del multiplicador de la desviación típica que mejor se ajusta al volumen promedio de los sujetos control tomado como *gold standard* (24 mm³ por hemisferio), es 4 y los resultados que evalúan la calidad de diagnóstico se muestran en la siguiente tabla:

	p-valor	SE	SP	VPP	VPN	ACC	AUC
LC_I	0,0954	67	55	61	61	61	0.626
LC_D	0,8289	43	20	36	25	32	0.145
LC_BI	0,2125	67	50	58	59	59	0.560
LC_CONTRA	0,0530	76	55	64	69	66	0.662
LC_IPSI	0,8096	33	60	47	46	46	0.321

Tabla 5.17: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO del volumen de las segmentaciones del LC con la segunda metodología. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

La tabla 5.17 muestra los resultados de las medidas obtenidas con las segmentaciones basadas en la metodología de Tona et al.. La hipótesis nula no se puede rechazar en ninguno de los casos, aunque el lado contralateral al clínicamente más afectado queda bastante cerca de la condición $\alpha < 0,05$. Por otro lado los valores que evalúan la calidad de diagnóstico, como la sensibilidad y la especificidad, no son muy elevados y por tanto, no se consiguen buenos resultados del área bajo la curva. Todo esto hace, que la volumetría obtenida con esta segunda metodología tampoco sea un buen biomarcador de la enfermedad. 

5.3.2. Evaluación de la intensidad de señal del LC como biomarcador diferencial de la enfermedad de Parkinson

El último biomarcador a evaluar es el contraste a ruido (CNR) de la estructura del locus coeruleus de la segmentación semiautomática. El proceso de obtención de los valores del CNR se detalla en la sección 4.5.5.

Las medidas que se evalúan para el CNR de la segmentación de la sustancia nigra son:

- CNR del locus coeruleus izquierdo (CNR_I)
- CNR del locus coeruleus derecho (CNR_D)
- CNR del locus coeruleus bilateral (CNR_BI)
- CNR del locus coeruleus contralateral al lado clínicamente más afectado (CNR_CONTRA)
- CNR del locus coeruleus ipsilateral al lado clínicamente más afectado (CNR_IPSI)

Los valores de CNR obtenidos del LC con la primera metodología [2] son los que se muestran en siguiente tabla siguiendo el patrón: *media ± desviación estándar*:

	CNR_I	CNR_D	CNR_BI	CNR_CONTRA	CNR_IPSI
HC	3.80 ± 0.45	3.57 ± 0.59	7.36 ± 0.96	3.80 ± 0.45	3.57 ± 0.59
EP	3.74 ± 0.48	3.10 ± 1.48	6.85 ± 1.64	3.81 ± 0.50	3.03 ± 1.44

Tabla 5.18: Valores promedio del CNR de la segmentación semiautomática del LC basada en la primera metodología de los sujetos control (HC) y de los pacientes con la enfermedad de Parkinson *de novo* (EP).

los resultados que evalúan la calidad de diagnóstico se muestran en la siguiente tabla:

	p-valor	SE	SP	VPP	VPN	ACC	AUC
CNR_I	0,4471	48	60	56	52	54	0.460
CNR_D	0,2018	38	65	53	50	51	0.476
CNR_BI	0,2039	38	65	53	50	51	0.498
CNR_CONTRA	0,7786	43	45	45	43	44	0.260
CNR_IPSI	0,1334	33	65	50	48	49	0.507

Tabla 5.19: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO del CNR de las segmentaciones del LC con la primera metodología. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

La tabla 5.19 muestra unos resultados poco significativos para todas las medidas. En ningún caso se puede rechazar la hipótesis nula pues todos los p-valores son mucho mayores que el nivel de significancia establecido en 0,05. De la misma manera la calidad de diagnóstico es totalmente arbitraria, con unos valores de sensibilidad y especificidad muy bajos, al igual que el área bajo la curva.

Los valores de CNR obtenidos con la segunda metodología [42] son los que se muestran en la siguiente tabla siguiendo el patrón: *media* \pm *desviación estándar*:

	CNR_I	CNR_D	CNR_BI	CNR_CONTRA	CNR_IPSI
HC	4.45 \pm 0.57	4.16 \pm 0.60	8.62 \pm 1.12	4.45 \pm 0.57	4.16 \pm 0.60
EP	4.10 \pm 0.65	3.80 \pm 1.09	7.90 \pm 1.43	4.16 \pm 0.75	3.74 \pm 1.00

Tabla 5.20: Valores promedio del CNR de la segmentación semiautomática del LC basada en la segunda metodología de los sujetos control (HC) y de los pacientes con la enfermedad de Parkinson *de novo* (EP).

los resultados que evalúan la calidad de diagnóstico se muestran en la siguiente tabla:

	p-valor	SE	SP	VPP	VPN	ACC	AUC
CNR_I	0,0700	57	60	60	57	59	0.629
CNR_D	0,1955	62	60	62	60	61	0.631
CNR_BI	0,0822	62	65	65	62	63	0.633
CNR_CONTRA	0,1631	57	55	57	55	56	0.617
CNR_IPSI	0,1106	62	60	62	60	61	0.636

Tabla 5.21: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO del CNR de las segmentaciones del LC con la segunda metodología. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

Por último, los resultados obtenidos para el CNR con la segmentación basada en Tona et al. tampoco presenta resultados significativos. Los p-valores son menores que en el caso de la segmentación basada en Chen et al.. Aún así, ninguno de ellos es menor de 0,05. Por otro lado, la sensibilidad ha mejorado también con respecto al método anterior. Esto hace que al haber una SE y una SP más equilibrada, los resultados de las AUC sean mejores, aunque poco robustos.

Capítulo 6

Discusión y conclusiones

6.1. Discusión

En este estudio se ha detectado la disminución del volumen de la sustancia nigra en los pacientes con la enfermedad de Parkinson *de novo*, como ya se había demostrado en estudios anteriores tanto con pacientes *de novo* [45] como con pacientes con la enfermedad en estadios más avanzados [1] [38], utilizando imágenes de resonancia magnética T1 sensibles a neuromelanina. Además, se ha encontrado una mayor precisión de diagnóstico cuando se trata con los vóxeles más hiperintensos de la SN en lugar de la SN completa, como bien se enunciaba en Castellanos et al. [1].

Para obtener el volumen de la sustancia nigra en las imágenes T1 NM se han utilizado dos métodos. El primer método semiautomático está basado en estudios previos [10]. Por otro lado, el método automático tiene como fin que la segmentación se lleve a cabo de una forma más general. Para ello, la creación de las ROIs se basa en un atlas probabilístico creado con los sujetos control que participaban en este estudio. El objetivo era comparar las segmentaciones obtenidas con ambos métodos y evaluar si la capacidad de diagnóstico difería de manera significativa o no. Los resultados obtenidos en ambos casos verifican que el volumen completo de la sustancia nigra no es un buen biomarcador de la enfermedad cuando se comparan los pacientes *de novo* con los sujetos control. En cambio, sí lo es la volumetría de los hiperintensos del lado contralateral al clínicamente más afectado. La segmentación semiautomática está basada en regiones de referencia específicas para cada sujeto frente a la automática, en la que las regiones de referencia se registran desde el atlas probabilístico a cada uno de los sujetos. Esto se ve reflejado en los resultados obtenidos ya que al realizar el análisis ROC de la segmentación semiautomática se obtiene un área bajo la curva de 0.837 frente al 0.780 obtenido con la segmentación automática.

Además, otro de los objetivos de este proyecto era desarrollar un estudio sobre la importancia de la localización de la región de referencia de los pedúnculos cerebrales. Esta región es necesaria para la segmentación de la sustancia nigra. En estudios previos, había sido descrita como una circunferencia de 4mm de diámetro en todos los slices donde se podía observar la sustancia nigra [2] o como circunferencia de 6 mm [14]. En estos trabajos previos se detallaba la forma de la ROI pero no se definía una metodología precisa a la hora de situarla. Etiquetar la ROI manualmen-

te aumenta la variabilidad de los resultados. Esta variabilidad está presente tanto si las etiquetas las realizan dos expertos diferentes, como el mismo experto en dos momentos temporales distintos. Por este motivo, se han desarrollado varios modelos de ROIs para los pedúnculos cerebrales en las segmentaciones automáticas. También se han desarrollado dos metodologías de segmentación, slice a slice y volumétrica (detalladas en la sección 4.4.1). Todas estas combinaciones, tanto a forma y localización como la metodología para segmentar, dan lugar a nueve modelos de segmentación automática. La calidad de diagnóstico de la enfermedad utilizando la volumetría completa de la SN como biomarcador no difiere ni entre los modelos ni cuando se compara con los resultados de la segmentación semiautomática. Por lo tanto, esta medida sigue sin poder utilizarse como biomarcador robusto de la enfermedad. De la misma manera, el volumen de los hiperintensos del lado contralateral al clínicamente más afectado ofrece una calidad de discriminación entre los pacientes *de novo* y los sujetos sanos muy parecida en todos los modelos y algo peor que en la segmentación semiautomática. Aun así, se considera un buen biomarcador de la enfermedad ya que en todos los casos consigue rechazar la hipótesis nula con p-valores $< 0,001$ y con áreas bajo la curva $\geq 0,760$, siendo el mayor área igual a 0,780.

Otra de las medidas que destaca por sus buenos resultados, es el lado izquierdo de los vóxeles hiperintensos. Esto concuerda con los datos demográficos de los sujetos utilizados en este experimento. Únicamente seis de los pacientes con la enfermedad tiene el *onset side* en el lado izquierdo, lo que quiere decir que la mayoría de los sujetos tienen el lado contralateral en el lado izquierdo. Frente a estos resultados positivos obtenidos con el lado izquierdo y el contralateral, sobre todo con este último, están los resultados del lado derecho, el lado izquierdo y derecho a la vez, es decir, bilateral y el lado ipsilateral al lado clínicamente más afectado con los que no se han obtenido resultados que hagan que puedan ser medidas utilizadas para clasificar los grupos de interés de este estudio.

En cuanto a la segmentación de la SN, la última medida estudiada como posible biomarcador es el contraste ruido (CNR). En estudios previos se ha concluido que discriminaba entre los sujetos pacientes y sujetos control con una buena calidad de diagnóstico [2]. En este estudio, es de nuevo el lado contralateral el que vuelve a destacar sobre el resto de medidas. Aunque solo se han obtenido buenos resultados en el método semiautomático. Realizando una comparación con los resultados publicados en Isaias et al., la diferencia de valores habiendo utilizado la misma metodología difiere ya que en este estudio previo el CNR de la SN contralateral para los sujetos control es de $4,91 \pm 0,38$ y de $4,28 \pm 0,41$ para los pacientes con la enfermedad, mientras que en el presente estudio se obtiene un CNR de $3,07 \pm 0,48$ para los sujetos control y de $2,73 \pm 0,38$ para los pacientes con la enfermedad. Por otro lado, los resultados al realizar el análisis con los valores de CNR también presentan una diferencia significativa ya que al realizar el estudio ANOVA se ha obtenido un p-valor de 0,0116 frente al p-valor $< 0,001$ obtenido en Isaias et al [10]. En el caso de las segmentaciones automáticas, estas medidas han obtenido unos p-valores y áreas bajo la curva menos significativos que en el caso semiautomático. Aunque de nuevo es el lado contralateral el que destaca sobre el resto de medidas, no garantiza un buen diagnóstico en todos los modelos. Es el PC2 VOL el que consigue un menor p-valor con un 0,0262 que hace que se pueda rechazar la hipótesis nula, pero un área

bajo la curva demasiado baja como para poder considerarlo un biomarcador robusto.

Por otro lado, el locus coeruleus es una estructura muy importante en la detección temprana de la enfermedad de Parkinson, ya que se degenera en estadios anteriores a la SN, como bien se establece en la escala de valoración de Braak (ver Anexo C.2). Uno de los principales retos de este estudio, en cuanto a esta LC se refiere, ha sido su segmentación. La segmentación de esta región puede llevarse a cabo mediante diferentes técnicas, como el crecimiento de regiones [1] o la umbralización. Esta última es la metodología utilizada en el presente estudio siguiendo las referencias utilizadas en Chen et al. [2] y Tona et al. [42]. Por lo tanto, se obtienen dos segmentaciones del locus coeruleus, ya que en el primer estudio (Chen et al.) se sitúa la ROI de referencia en el puente tegmento y en el segundo (Tona et al.), se sitúa en los pedúnculos cerebrales medios.

Para conseguir una buena segmentación del LC, se ha intentado aproximar el volumen promedio de los sujetos sanos al establecido en la bibliografía. En German et al. así como en Fernandes et al. consideran que hay una región del LC, denominada *core*, que se corresponde con los vóxeles de mayor intensidad y con los vóxeles del LC que están presentes en el 100 % de los casos, respectivamente. Esta región tiene como valores medios 7,5 mm de largo y 2 mm de ancho y será la medida utilizada como referencia para segmentar. Los resultados que mejor aproximaban el volumen promedio de los sujetos control a los 24 mm³, se han obtenido con un multiplicador de la desviación típica de 3,6 cuando ROI se sitúa en el puente tegmento y de 4 cuando la localización son los pedúnculos cerebrales medios. En la primera metodología el volumen del hemisferio izquierdo es de $25,74 \pm 16,58$ y de $10,99 \pm 6,90$ el derecho. Por otro lado, en la segunda metodología se obtiene un volumen de $24,96 \pm 10,81$ para el hemisferio izquierdo y de $10,92 \pm 6,56$ para el derecho. En ambos casos se observa una lateralización ya que el lado izquierdo tiene mayor volumen que el derecho. Esto no coincide con lo que se concluye en la mayoría de estudios anteriores en los cuales se realiza la simetría de la estructura. Sin embargo, German et al. menciona que aunque hay simetría bilateral, los dos lados no parecen ser idénticos. También, destaca el estudio de [42] donde se observa una bilateralidad, pero a diferencia del presente estudio, establece que el volumen derecho del LC es mayor que el del hemisferio izquierdo.

6.2. Conclusión

En este estudio se ha detectado exitosamente una reducción del volumen de la SN en los pacientes con la enfermedad de Parkinson *de novo* al compararlos con los sujetos control. La enfermedad de Parkinson, generalmente, se detecta cuando se han perdido alrededor del 60 % de las neuronas dopaminérgicas de la SN. A pesar de esto, en las fases tempranas de la enfermedad también se puede detectar la pérdida de neuromelanina mediante las imágenes de resonancia magnética ponderadas en T1 sensibles a neuromelanina. En la sustancia nigra, la medida que ha presentado una mayor discriminación entre los sujetos control y los pacientes *de novo* y ha demostrado una muy buena calidad de diagnóstico, ha sido la volumetría de los vóxeles más hiperintensos del lado contralateral en la segmentación semiautomática.

Otra de las conclusiones importantes de este proyecto es que con la segmentación semiautomática se han obtenido mejores resultados. Sin embargo, ambas metodologías pueden ser utilizadas para la búsqueda de los vóxeles más hiperintensos del lado contralateral como biomarcador.

También, se ha concluido que la localización de la ROI de los pedúnculos cerebrales para obtener la segmentación de la SN no es relevante. Con todos los modelos de ROI de PC se han obtenido valores parecidos de la volumetría completa de la SN, de los hiperintensos de la SN y del CNR de la región completa. Esto supone que en futuros estudios no sea necesario su localización rigurosa para la segmentación de la SN, pues ha se ha podido demostrar que ésta no es relevante.

En la segmentación semiautomática, las medidas de contraste de ruido han demostrado no ser tan significativas como la volumetría de los hiperintensos. A pesar de esto, ha resultado ser de nuevo el lado contralateral el que destaca frente al resto de medidas del CNR. Se ha obtenido un p-valor de 0,0116 y un área bajo la curva de 0,722. En el caso de las segmentaciones semiautomática, los resultados empeoran con respecto a la anterior. De todas las medidas, la única que sobresale con un resultado moderadamente bueno es el lado contralateral en el PC2. Aun así, sus valores son moderadamente significativos.

Frente a lo esperado, la volumetría del locus coeruleus ha resultado no ser un biomarcador robusto de la enfermedad en este proyecto. La segmentación obtenida no ha sido útil a la hora de discriminar entre sujetos con la enfermedad *de novo* y sujetos control. Por otra parte, las medidas de contraste de ruido obtenidas para las segmentaciones del LC, no se han obtenido resultados significativos en ninguna de las metodologías propuestas.



6.3. Impacto social y económico

La enfermedad de Parkinson es la segunda enfermedad neurodegenerativa con más prevalencia e incidencia después de la enfermedad de Alzheimer. Se estima que esta enfermedad afecta a más de 150.000 personas en España y que en 2030 afectará a unos 9,3 millones de personas en el mundo, según la Asociación de la enfermedad de Parkinson Europea (EPDA).

Las enfermedades neurológicas son uno de los grupos de enfermedades más costosas para el sistema sanitario y para toda la sociedad en general. Al proceso de la enfermedad le acompaña el impacto psíquico, la reducción de la calidad de vida, la incapacidad laboral, la pérdida de habilidades sociales, la necesidad de cuidadores y la dependencia [32].

En Europa hay más de 1,2 millones de personas con la enfermedad de Parkinson y la EPDA calcula que el coste anual para el sistema sanitario europeo es de 13,900 millones de euros anuales. Los costes de la enfermedad son la suma de los costes directos sanitarios y no sanitarios, los costes indirectos y los intangibles. Los costes directos son todos aquellos relacionados directamente con el tratamiento de la enfermedad: medicamentes, consultas, ingresos hospitalarios, pruebas diagnósticas, etc. Los costes indirectos son las terapias alternativas, la asistencia en el hogar, etc [32].

Aunque el diagnóstico clínico a día de hoy siga siendo la principal herramienta de diagnóstico, son muchos los avances en la neuroimagen en estos últimos años. Un diagnóstico precoz beneficia a la persona que padece la enfermedad, puesto que es en el inicio de la misma donde se obtiene una mejor respuesta a los fármacos. Además reduce considerablemente los costes para el sistema sanitario y la sociedad.

Este proyecto ha tratado de ayudar y aportar técnicas que mejoren el diagnóstico de la enfermedad de Parkinson. Una de las mejoras, frente a estudios previos, ha sido el uso de imágenes de resonancia magnética. Esta técnica, a diferencia de otras como el PET, no utiliza radiación ionizante y tiene un coste menor. Por otra parte, es importante incidir en que el estudio se ha llevado a cabo con pacientes en etapas tempranas de la enfermedad. Esto es importante puesto que como se ha mencionado anteriormente, la detección precoz es fundamental.



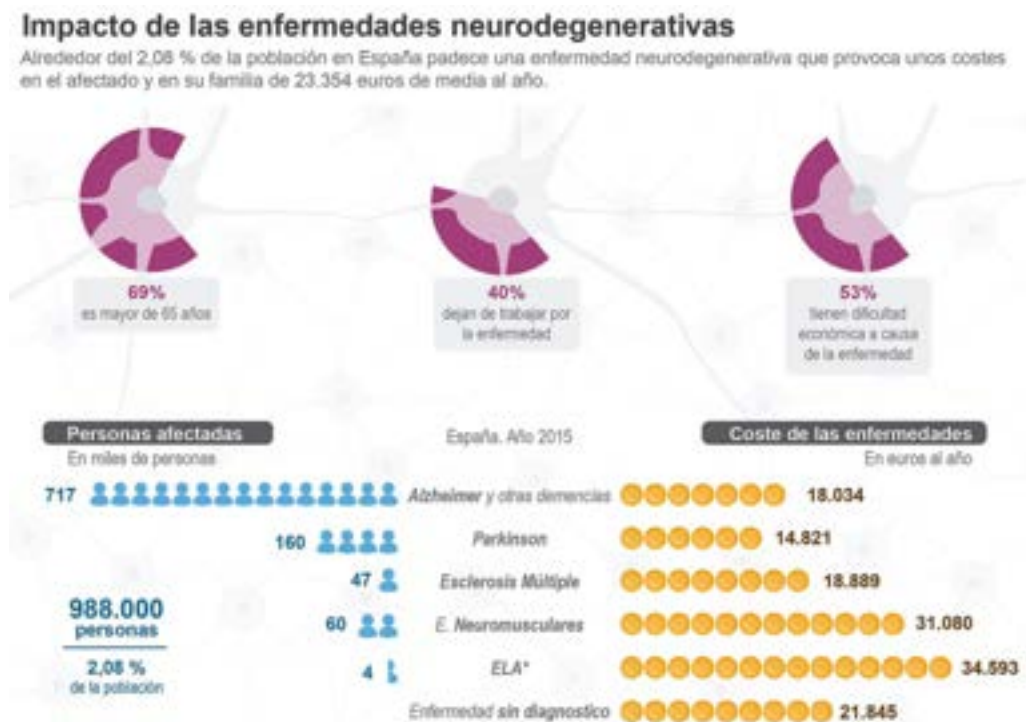


Figura 6.1: Cada paciente gasta de media más 23.000 euros al año. Las enfermedades neurodegenerativas suponen un coste total de 32.372 millones de euros anuales en España [25].

6.4. Desarrollos futuros

Algunos de los posibles desarrollos futuros de este trabajo se exponen a continuación:

- Ampliar la base de datos de las imágenes de resonancia magnética para confirmar la robustez de los biomarcadores obtenidos.
- Mejorar la segmentación del locus coeruleus. Una posible opción es reducir la ROI situada en la región del locus coeruleus. Esto haría que la segmentación fuera más estricta.
- Mejora de los biomarcadores obtenidos tanto para la sustancia nigra como para el locus coeruleus, y buscar nuevas alternativas.

Apéndice A

Anexo A: TABLAS

A.1. Tablas volumetría de la SN segmentada automáticamente y sus estadísticos como biomarcadores de la enfermedad.

Las medidas que se evalúan para la volumetría de la segmentación automática de la sustancia nigra son:

- Volumetría de la sustancia nigra izquierda (SN_I)
- Volumetría de la sustancia nigra derecha (SN_D)
- Volumetría de la sustancia nigra bilateral (SN_BI)
- Volumetría de la sustancia nigra contralateral al lado clínicamente más afectado (SN_CONTRA)
- Volumetría de la sustancia nigra ipsilateral al lado clínicamente más afectado (SN_IPSI)

En las siguientes tablas se muestran los valores promedio de la volumetría de la segmentación automática de la SN (*media ± desviación estándar*) y los análisis ANOVA y de validación cruzada para cada modelo.

PC1 SAS	SN_I	SN_D	SN_BI	SN_CONTRA	SN_IPSI
HC	253,04 ± 64,82	228,52 ± 50,05	481,56 ± 104,82	253.04 ± 64.82	228,52 ± 50,05
EP	240,20 ± 61,35	238,43 ± 53,65	478,64 ± 84,95	236.87 ± 63.56	241,76 ± 50,90

Tabla A.1: Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC1 SAS para su segmentación.

PC1 SAS	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
SN_I	0,5241	40	25	35	29	33	0.133
SN_D	0,5494	40	40	40	40	40	0.458
SN_BI	0,9233	60	65	63	62	63	0.577
SN_CONTRA	0,4308	60	60	60	60	60	0.557
SN_IPSI	0,4119	40	40	40	40	40	0.475

Tabla A.2: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC1 SAS. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC1 VOL	SN_I	SN_D	SN_BI	SN_CONTRA	SN_IPSI
HC	217,50 ± 62,50	174,13 ± 65,08	391,64 ± 117,46	217.50 ± 62.05	174,13 ± 65,08
EP	178,74 ± 75,68	176,82 ± 59,12	355,56 ± 114,54	175.62 ± 73.59	179,94 ± 61,63

Tabla A.3: Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC1 VOL para su segmentación.

PC1 VOL	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
SN_I	0,0845	65	60	62	63	63	0.633
SN_D	0,8919	30	15	26	18	23	0.100
SN_BI	0,3316	60	50	55	56	55	0.522
SN_CONTRA	0,0591	65	60	62	63	63	0.655
SN_IPSI	0,7735	55	45	50	50	50	0.3150

Tabla A.4: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC1 VOL. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC2 SAS	SN_I	SN_D	SN_BI	SN_CONTRA	SN_IPSI
HC	275, 26 ± 68,41	239,39 ± 67,74	514,65 ± 127,16	275.26 ± 68.41	239,39 ± 67,74
EP	238,43 ± 50,75	239,85 ± 55,68	478,28 ± 76,40	231.77 ± 56.84	246,51 ± 48,29

Tabla A.5: Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC2 SAS para su segmentación.

PC2 SAS	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
SN_I	0,0607	65	65	65	65	65	0.690
SN_D	0,9814	10	5	10	5	8	0.005
SN_BI	0,2799	55	60	58	57	57	0.593
SN_CONTRA	0,0350	65	65	65	65	65	0.702
SN_IPSI	0,7038	60	45	52	53	53	0.3770

Tabla A.6: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC2 SAS. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC2 VOL	SN_I	SN_D	SN_BI	SN_CONTRA	SN_IPSI
HC	242,04 ± 64,86	198,95 ± 78,15	440,99 ± 132,67	242.040 ± 64.86	198,95 ± 78,15
EP	199,08 ± 80,65	189,80 ± 62,50	388,88 ± 125,82	196.03 ± 74.50	192,84 ± 70,00

Tabla A.7: Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC2 VOL para su segmentación.

A.1. TABLAS VOLUMETRÍA DE LA SN SEGMENTADA AUTOMÁTICAMENTE Y SUS ESTADÍSTICOS COMO

PC2 VOL	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
SN_I	0,0712	55	65	61	59	60	0.630
SN_D	0,6847	50	55	53	52	53	0.453
SN_BI	0,2102	60	65	63	62	63	0.577
SN_CONTRA	0,0441	65	65	65	65	65	0.667
SN_IPSI	0,7960	45	50	47	48	48	0.3280

Tabla A.8: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC2 VOL. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC3	SN_I	SN_D	SN_BI	SN_CONTRA	SN_IPSI
HC	328,59 ± 106,02	295,35 ± 121,32	623,94 ± 223,37	328,59 ± 106,02	295,35 ± 121,32
EP	313,94 ± 142,55	309,47 ± 136,80	623,41 ± 270,01	307,13 ± 143,16	316,28 ± 136,04

Tabla A.9: Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC3 para su segmentación.

PC3	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
SN_I	0,7143	55	60	58	57	57	0.438
SN_D	0,7317	40	45	42	43	43	0.320
SN_BI	0,9946	0	0	0	0	0	0.000
SN_CONTRA	0,5932	65	60	62	63	63	0.480
SN_IPSI	0,6106	55	45	50	50	50	0.427

Tabla A.10: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC3. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC4	SN_I	SN_D	SN_BI	SN_CONTRA	SN_IPSI
HC	380,13 ± 104,05	335,75 ± 119,42	715,88 ± 217,86	380,13 ± 104,05	335,75 ± 119,42
EP	353,64 ± 128,01	339,96 ± 120,73	693,599 ± 235,61	341,66 ± 134,90	351,94 ± 113,17

Tabla A.11: Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC4 para su segmentación.

PC4	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
SN_I	0,4771	60	60	60	60	60	0.555
SN_D	0,9124	20	30	22	27	25	0.102
SN_BI	0,7578	45	60	53	52	53	0.393
SN_CONTRA	0,3190	65	60	62	63	63	0.595
SN_IPSI	0,6625	50	55	53	52	53	0.4430

Tabla A.12: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC4. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC5	SN_I	SN_D	SN_BI	SN_CONTRA	SN_IPSI
HC	313,28 ± 118,97	278,55 ± 136,88	591,84 ± 248,21	313,28 ± 118,97	278,55 ± 136,88
EP	317,77 ± 135,71	294,44 ± 115,52	612,21 ± 237,47	306,28 ± 139,19	305,93 ± 112,57

Tabla A.13: Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC5 para su segmentación.

PC5	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
SN_I	0,9121	35	45	39	41	40	0.182
SN_D	0,6938	45	60	53	52	53	0.452
SN_BI	0,7923	50	55	53	52	53	0.397
SN_CONTRA	0,8651	25	15	23	17	20	0.125
SN_IPSI	0,4939	50	60	56	55	55	0.5050

Tabla A.14: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC5. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC6	SN_I	SN_D	SN_BI	SN_CONTRA	SN_IPSI
HC	294,32 ± 67,36	246,34 ± 91,92	540,66 ± 149,96	294.32 ± 67.36	246,34 ± 91,92
EP	272,60 ± 84,89	259,91 ± 71,13	532,52 ± 139,21	265.59 ± 79.44	266,93 ± 77,71

Tabla A.15: Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC6 para su segmentación.

PC6	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
SN_I	0,3758	60	50	55	56	55	0.500
SN_D	0,6045	60	45	52	53	53	0.472
SN_BI	0,8597	45	35	41	39	40	0.240
SN_CONTRA	0,2248	65	50	57	59	57	0.563
SN_IPSI	0,4489	60	45	52	53	53	0.5120

Tabla A.16: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC6. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC7	SN_I	SN_D	SN_BI	SN_CONTRA	SN_IPSI
HC	301,79 ± 96,28	253,02 ± 104,44	554,80 ± 192,09	301.79 ± 96.28	253,02 ± 104,44
EP	281,54 ± 91,88	268 99 ± 82,38	550,53 ± 159,33	269.98 ± 91.83	280,54 ± 82,58

Tabla A.17: Valores promedio de la volumetría de la SN utilizando el modelo PC7 para su segmentación.

PC7	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
SN_I	0,5004	55	55	55	55	55	0.490
SN_D	0,5944	55	45	50	50	50	0.395
SN_BI	0,9393	10	10	10	10	10	0.025
SN_CONTRA	0,2918	65	55	59	61	60	0.573
SN_IPSI	0,3610	65	45	54	56	55	0.4820

Tabla A.18: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de la SN con el modelo PC7. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

A.2. Tablas volumetría de los vóxeles más hiperintensos la SN segmentada de manera automática y sus estadísticos.

En las siguientes tablas se muestran los valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la segmentación automática de la SN (*media \pm desviación estándar*) y los análisis ANOVA y de validación cruzada para cada modelo.

PC1 SAS	HSN_I	HSN_D	HSN_BI	HSN_CONTRA	HSN_IPSI
HC	71,47 \pm 32,37	57,57 \pm 28,26	129,05 \pm 54,50	71,47 \pm 32,37	57,57 \pm 28,26
EP	43,60 \pm 24,53	56,15 \pm 27,20	99,75 \pm 44,81	42,47 \pm 23,93	57,29 \pm 27,14

Tabla A.19: Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC1 SAS para su segmentación.

PC1 SAS	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
HSN_I	0,001	70	65	67	68	68	0.752
HSN_D	0,6123	55	45	50	50	50	0.427
HSN_BI	0,0257	65	60	62	63	63	0.657
HSN_CONTRA	0,0005	70	70	70	70	70	0.765
HSN_IPSI	0,7320	50	40	45	44	45	0.3380

Tabla A.20: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC1 SAS. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC1 VOL	HSN_I	HSN_D	HSN_BI	HSN_CONTRA	HSN_IPSI
HC	71,68 \pm 30,79	53,39 \pm 31,72	125,07 \pm 54,98	71,68 \pm 30,79	53,39 \pm 31,72
EP	42,89 \pm 23,98	53,32 \pm 27,45	96,21 \pm 45,10	41,55 \pm 22,75	54,66 \pm 27,88

Tabla A.21: Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC1 VOL para su segmentación.

PC1 VOL	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
HSN_I	0,0005	65	70	68	67	68	0.760
HSN_D	0,7258	60	40	50	50	50	0.380
HSN_BI	0,0307	70	55	61	65	63	0.642
HSN_CONTRA	0,0002	65	70	68	67	68	0.780
HSN_IPSI	0,8604	45	25	38	31	35	0.130

Tabla A.22: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC1 VOL. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC2 SAS	HSN_I	HSN_D	HSN_BI	HSN_CONTRA	HSN_IPSI
HC	70,90 \pm 31,44	54,95 \pm 27,20	125,85 \pm 53,90	70,89 \pm 31,44	54,95 \pm 27,20
EP	42,04 \pm 23,78	54,17 \pm 27,08	96,21 \pm 44,22	39,92 \pm 22,06	56,29 \pm 27,36

Tabla A.23: Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC2 SAS para su segmentación.

PC2 SAS	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
HSN_I	0,0005	65	65	65	65	65	0.765
HSN_D	0,6654	50	50	50	50	50	0.415
HSN_BI	0,0238	65	60	62	63	63	0.662
HSN_CONTRA	0,0002	70	70	70	70	70	0.777
HSN_IPSI	0,8648	35	25	32	28	30	0.158

Tabla A.24: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC2 SAS. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC2 VOL	HSN_I	HSN_D	HSN_BI	HSN_CONTRA	HSN_IPSI
HC	73,10 ± 31,12	55,02 ± 32,31	128,11 ± 56,91	73,10 ± 31,12	55,02 ± 32,31
EP	43,82 ± 24,43	54,17 ± 28,48	97,98 ± 46,64	42,47 ± 23,12	55,51 ± 28,99

Tabla A.25: Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC2 VOL para su segmentación.

PC2 VOL	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
HSN_I	0,0005	70	70	70	70	70	0.765
HSN_D	0,6927	50	45	48	47	48	0.418
HSN_BI	0,0303	70	55	61	65	63	0.648
HSN_CONTRA	0,0002	75	70	71	74	73	0.780
HSN_IPSI	0,8036	45	30	39	35	38	0.228

Tabla A.26: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC2 VOL. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC3	HSN_I	HSN_D	HSN_BI	HSN_CONTRA	HSN_IPSI
HC	70,83 ± 31,09	54,24 ± 29,46	125,07 ± 54,48	70,83 ± 31,09	54,24 ± 29,46
EP	43,32 ± 23,91	55,73 ± 28,85	99,05 ± 46,19	41,41 ± 22,33	57,64 ± 29,11

Tabla A.27: Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC3 para su segmentación.

PC3	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
HSN_I	0,0008	65	65	65	65	65	0.760
HSN_D	0,8542	50	30	42	38	40	0.180
HSN_BI	0,0455	65	55	59	61	60	0.638
HSN_CONTRA	0,0003	70	70	70	70	70	0.775
HSN_IPSI	0,9676	15	0	13	0	8	0.025

Tabla A.28: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC3. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

A.2. TABLAS VOLUMETRÍA DE LOS VÓXELES MÁS HIPERINTENSOS LA SN SEGMENTADA DE MANERA A

PC4	HSN_I	HSN_D	HSN_BI	HSN_CONTRA	HSN_IPSI
HC	73,17 ± 32,09	56,08 ± 28,11	129.25 ± 55.03	73.17 ± 32.09	56,08 ± 28,11
EP	44.17 ± 24.58	56.15 ± 28.88	100.32 ± 46.71	42.04 ± 22.82	58.28 ± 29.22

Tabla A.29: Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC4 para su segmentación.

PC4	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
HSN_I	0,0006	65	70	68	67	68	0.758
HSN_D	0,7343	50	40	45	44	45	0.388
HSN_BI	0,0309	65	60	62	63	63	0.647
HSN_CONTRA	0,0002	70	70	70	70	70	0.777
HSN_IPSI	0,9288	15	15	15	15	15	0.045

Tabla A.30: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC4. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC5	HSN_I	HSN_D	HSN_BI	HSN_CONTRA	HSN_IPSI
HC	71.40 ± 32.45	54.38 ± 29.09	125.77 ± 55.19	71.40 ± 32.45	54.38 ± 29.09
EP	44.67 ± 24.58	55.66 ± 29.62	100.32 ± 47.41	42.47 ± 22.74	57.85 ± 30.06

Tabla A.31: Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC5 para su segmentación.

PC5	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
HSN_I	0,0014	65	65	65	65	65	0.735
HSN_D	0,8331	50	30	42	38	40	0.230
HSN_BI	0,0520	65	55	59	61	60	0.620
HSN_CONTRA	0,0005	70	65	67	68	68	0.762
HSN_IPSI	0,9689	15	0	13	0	8	0.015

Tabla A.32: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC5. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC6	HSN_I	HSN_D	HSN_BI	HSN_CONTRA	HSN_IPSI
HC	71.61 ± 31.49	53.88 ± 29.64	125.49 ± 54.60	71.61 ± 31.49	53.88 ± 29.64
EP	43.67 ± 24.21	55.51 ± 28.54	99.19 ± 46.11	41.41 ± 22.27	57.78 ± 28.94

Tabla A.33: Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC6 para su segmentación.

PC6	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
HSN_I	0,0008	65	65	65	65	65	0.750
HSN_D	0,8636	40	25	35	29	33	0.150
HSN_BI	0,0444	65	55	59	61	60	0.640
HSN_CONTRA	0,0002	70	65	67	68	68	0.775
HSN_IPSI	0,9328	30	25	29	26	28	0.088

Tabla A.34: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC6. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC7	HSN_I	HSN_D	HSN_BI	HSN_CONTRA	HSN_IPSI
HC	73.38 ± 32.03	55.16 ± 32.90	128.54 ± 57.47	73.38 ± 32.03	55.16 ± 32.90
EP	46.156 ± 24.648	58.49 ± 29.35	104.65 ± 47.40	44.24 ± 23.77	60.41 ± 29.09

Tabla A.35: Valores promedio de la volumetría de los vóxeles hiperintensos de la SN utilizando el modelo PC7 para su segmentación.

PC7	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
SN_I	0,0012	65	70	68	67	68	0.742
HSN_D	0,9973	0	0	0	0	0	0.000
HSN_BI	0,0710	65	55	59	61	60	0.623
HSN_CONTRA	0,0005	70	70	70	70	70	0.760
HSN_CONTRA	0,8340	35	45	39	41	40	0.293

Tabla A.36: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la volumetría de los hiperintensos con el modelo PC7. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

A.3. Tablas de intensidades de la SN segmentada automáticamente y la calidad como biomarcadores de la enfermedad

PC1 SAS	CNR_I	CNR_D	CNR_BI	CNR_CONTRA	CNR_IPSI
HC	2.70 ± 0.31	2.58 ± 0.37	5.28 ± 0.66	2.70 ± 0.31	2.58 ± 0.37
EP	2.51 ± 0.40	2.57 ± 0.37	5.08 ± 0.75	2.51 ± 0.38	2.58 ± 0.39

Tabla A.37: Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC1 SAS para su segmentación.

PC1 SAS	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
CNR_I	0,1012	55	60	58	57	57	0.608
CNR_D	0,9167	30	25	29	26	28	0.123
CNR_BI	0,3765	55	55	55	55	55	0.510
CNR_CONTRA	0,0798	50	60	56	55	55	0.610
CNR_IPSI	0,9699	15	5	14	6	10	0.008

Tabla A.38: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC1 SAS. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

A.3. TABLAS DE INTENSIDADES DE LA SN SEGMENTADA AUTOMÁTICAMENTE Y LA CALIDAD COMO B

PC1 VOL	CNR_I	CNR_D	CNR_BI	CNR_CONTRA	CNR_IPSI
HC	2.94 ± 0.18	2.89 ± 0.20	5.83 ± 0.36	2.94 ± 0.18	2.89 ± 0.20
EP	2.85 ± 0.20	2.90 ± 0.23	5.75 ± 0.40	2.85 ± 0.19	2.90 ± 0.23

Tabla A.39: Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC1 VOL para su segmentación.

PC1 VOL	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
CNR_I	0,1322	50	50	50	50	50	0.575
CNR_D	0,8174	35	55	44	46	45	0.250
CNR_BI	0,5283	50	50	50	50	50	0.465
CNR_CONTRA	0,1195	55	50	52	53	53	0.573
CNR_IPSI	0,8091	40	55	47	48	48	0.292

Tabla A.40: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC1 VOL. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC2 SAS	CNR_I	CNR_D	CNR_BI	CNR_CONTRA	CNR_IPSI
HC	2.79 ± 0.32	2.68 ± 0.38	5.47 ± 0.68	2.79 ± 0.32	2.68 ± 0.38
EP	2.62 ± 0.42	2.67 ± 0.39	5.29 ± 0.79	2.62 ± 0.40	2.68 ± 0.41

Tabla A.41: Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC2 SAS para su segmentación.

PC2 SAS	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
CNR_I	0,1708	50	55	53	52	53	0.550
CNR_D	0,9606	15	15	15	15	15	0.023
CNR_BI	0,4679	45	50	47	48	48	0.457
CNR_CONTRA	0,1399	50	55	53	52	53	0.555
CNR_IPSI	0,9927	0	0	0	0	0	0.000

Tabla A.42: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC2 SAS. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC2 VOL	CNR_I	CNR_D	CNR_BI	CNR_CONTRA	CNR_IPSI
HC	2.99 ± 0.19	2.93 ± 0.21	5.92 ± 0.38	2.99 ± 0.19	2.93 ± 0.21
EP	2.85 ± 0.22	2.93 ± 0.23	5.78 ± 0.42	2.84 ± 0.21	2.94 ± 0.24

Tabla A.43: Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC2 VOL para su segmentación.

PC2 VOL	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
CNR.I	0,0446	70	65	67	68	68	0.635
CNR.D	0,9223	25	30	26	29	28	0.098
CNRN.BI	0,2684	50	55	53	52	53	0.532
CNR.CONTRA	0,0262	70	65	67	68	68	0.677
CNR.IPSI	0,9702	0	20	0	17	10	0.020

Tabla A.44: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC2 VOL. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC3	CNR.I	CNR.D	CNR.BI	CNR.CONTRA	CNR.IPSI
HC	3.74 ± 0.82	3.59 ± 0.63	7.32 ± 1.44	3.74 ± 0.82	3.59 ± 0.63
EP	4.17 ± 2.53	4.21 ± 2.49	8.38 ± 5.02	4.15 ± 2.53	4.23 ± 2.49

Tabla A.45: Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC3 para su segmentación.

PC3	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
CNR.I	0,4754	10	75	29	45	43	0.353
CNR.D	0,2814	20	75	44	48	48	0.492
CNR.BI	0,3710	20	75	44	48	48	0.448
CNR.CONTRA	0,4903	10	75	29	45	43	0.345
CNR.IPSI	0,2707	20	75	44	48	48	0.498

Tabla A.46: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC3. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC4	CNR.I	CNR.D	CNR.BI	CNR.CONTRA	CNR.IPSI
HC	3.73 ± 0.65	3.62 ± 0.61	7.34 ± 1.25	3.73 ± 0.65	3.62 ± 0.61
EP	3.34 ± 0.46	3.39 ± 0.43	6.74 ± 0.8	3.35 ± 0.47	3.39 <i>pm</i> 0.42

Tabla A.47: Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC4 para su segmentación.

PC4	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
CNR.I	0,0372	75	45	58	64	60	0.622
CNR.D	0,1899	50	50	50	50	50	0.565
CNR.BI	0,0827	70	45	56	60	57	0.583
CNR.CONTRA	0,0395	70	45	56	60	57	0.623
CNR.IPSI	0,1819	55	50	52	53	53	0.568

Tabla A.48: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC4. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

A.3. TABLAS DE INTENSIDADES DE LA SN SEGMENTADA AUTOMÁTICAMENTE Y LA CALIDAD COMO B.

PC5	CNR_I	CNR_D	CNR_BI	CNR_CONTRA	CNR_IPSI
HC	3.30 ± 0.71	3.20 ± 0.61	6.50 ± 1.32	3.30 ± 0.71	3.20 ± 0.61
EP	3.12 ± 0.39	3.20 ± 0.39	6.32 ± 0.76	3.13 ± 0.39	3.19 ± 0.39

Tabla A.49: Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC5 para su segmentación.

PC5	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
CNR_I	0,3257	65	45	54	56	55	0.518
CNR_D	0,9830	10	10	10	10	10	0.020
CNR_BI	0,5919	60	40	50	50	50	0.397
CNR_CONTRA	0,3372	70	45	56	60	57	0.515
CNR_IPSI	0,9628	20	15	19	16	18	0.030

Tabla A.50: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC5. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC6	CNR_I	CNR_D	CNR_BI	CNR_CONTRA	CNR_IPSI
HC	3.13 ± 0.23	3.07 ± 0.25	6.20 ± 0.47	3.13 ± 0.23	3.07 ± 0.25
EP	3.06 ± 0.28	3.13 ± 0.30	6.19 ± 0.56	3.04 ± 0.24	3.14 ± 0.33

Tabla A.51: Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC6 para su segmentación.

PC6	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
CNR_I	0,3820	50	50	50	50	50	0.542
CNR_D	0,4747	55	50	52	53	53	0.520
CNR_BI	0,9580	15	15	15	15	15	0.023
CNR_CONTRA	0,2689	55	50	52	53	53	0.563
CNR_IPSI	0,4221	55	55	55	55	55	0.535

Tabla A.52: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC6. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

PC7	CNR_I	CNR_D	CNR_BI	CNR_CONTRA	CNR_IPSI
HC	3.15 ± 0.31	3.10 ± 0.33	6.25 ± 0.62	3.15 ± 0.31	3.10 ± 0.33
EP	3.09 ± 0.27	3.16 ± 0.28	6.25 ± 0.53	3.09 ± 0.25	3.16 ± 0.30

Tabla A.53: Valores promedio de la intensidad de la SN utilizando el modelo PC7 para su segmentación.

PC7	p-valor	SE	SP	PPV	VPN	ACC	AUC
CNR.I	0,4703	60	55	57	58	57	0.500
CNR.D	0,5109	50	55	53	52	53	0.467
CNR.BI	0,9894	5	0	5	0	3	0.000
CNR.CONTRA	0,4576	60	55	57	58	57	0.515
CNR.IPSI	0,521	50	55	53	52	53	0.448

Tabla A.54: Resultados obtenidos al realizar el ANOVA y el análisis de validación cruzada mediante LOO de la intensidad de la segmentación de la SN con el modelo PC7. Utilizando como variable de clasificación el grupo, es decir, HC y EP *de novo*.

Apéndice B

Anexo B: ESTADÍSTICA

B.1. Contraste de hipotesis

Una hipótesis estadística es una afirmación respecto a una o varias características de una población. Contrastar una hipótesis es comparar las predicciones con la realidad que se observa.

El contraste de hipótesis es un procedimiento estadístico utilizado para aceptar o rechazar una hipótesis que se realiza sobre un parámetro en una población. Las dos hipótesis que se contrastan son la **hipótesis Nula** (H_0), que es la que se va a evaluar, y la **hipótesis Alternativa** (H_1), que es la que se acepta cuando se rechaza la hipótesis nula. La hipótesis alternativa generalmente es la que se desea investigar y en la mayoría de los casos reales, la que se desea aceptar.

Un contraste de hipótesis puede rechazar la hipótesis nula pero no puede probarla. Si no se rechaza la hipótesis nula es debido a que en la muestra seleccionada no hay evidencias para descartarla, no porque sea necesariamente cierta. Por el contrario, si se rechaza H_0 es porque se puede afirmar con seguridad que la hipótesis nula es falsa, y por tanto, se acepta de manera implícita la hipótesis alternativa.

Para llevar a cabo el análisis del contraste de hipótesis se selecciona una muestra aleatoria de la población, y sobre ella se toma una decisión en base a la información que proporcionen los resultados.

Una vez enunciadas las hipótesis debe decidirse si la prueba se va a realizar de manera unilateral, es decir, cuando la hipótesis se establece en términos de mayor o menor, o bilateral, cuando la hipótesis se establece en términos de igual o distinto.

Para saber cuál de las dos hipótesis es correcta sería necesario realizar una investigación con toda la población como muestra. Debido a que esto no es posible, hay que tener en cuenta posibles errores:

- **Error de Tipo I o error α** : Rechaza la hipótesis H_0 cuando es cierta.
- **Error de Tipo II o error β** : Acepta la hipótesis H_0 cuando es falsa.

	H_0 cierta	H_0 falsa
H_0 rechazada	Error tipo I	Decisión correcta
H_0 no rechazada	Decisión correcta	Error tipo II

Tabla B.1: Cuatro casos posibles de resultados en el contraste de hipótesis.

Por otra parte, un contraste de hipótesis es un método que determina, a un cierto nivel de significación α , para qué valores de la muestra se rechaza o no se rechaza la hipótesis nula. Por lo tanto, se trata de determinar, a un nivel de significación α , una región crítica de rechazo y una región de aceptación.

- **Región de rechazo o región crítica.** Está formada por el conjunto de valores que llevan a rechazar la hipótesis nula.
- **Región de aceptación o región de no rechazo.** Está formada por el conjunto de valores que llevan a aceptar la hipótesis nula.

El nivel de significación para un contraste bilateral se concentra en dos partes simétricas respecto de la media. Y en el caso del contraste unilateral, el nivel de significación se concentra únicamente en una parte.

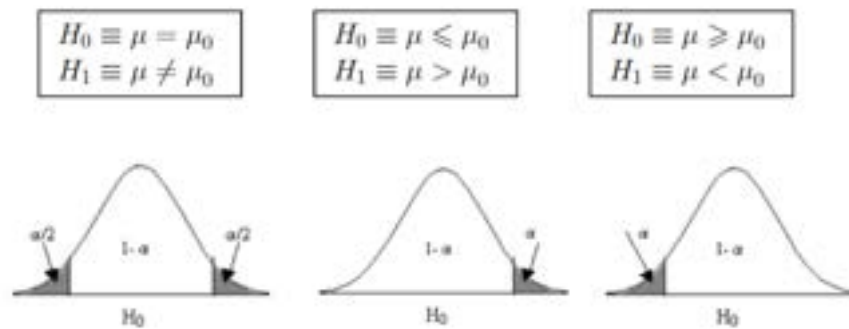


Figura B.1: De izquierda a derecha: contraste bilateral y contrastes unilaterales [64].

De la mano del concepto de nivel de significación viene el concepto de nivel crítico p o **p-valor**, que es el nivel de significación más pequeño para el cual hay que rechazar la hipótesis nula. De manera que si $p \leq \alpha$, la hipótesis nula se rechaza.

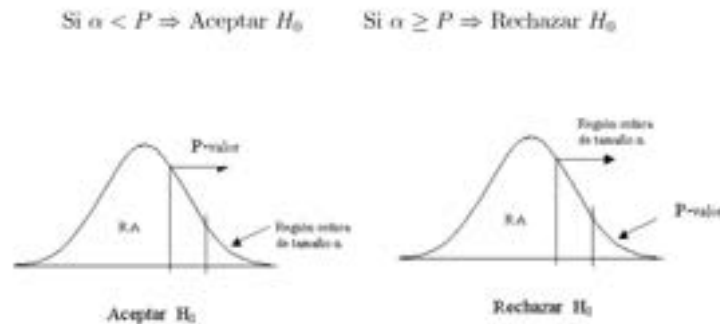


Figura B.2: Representación del nivel mínimo de significación o p-valor [64].

Por lo tanto, α es un número elegido antes de realizar el experimento y una vez conocido, se obtiene la región crítica. Por otro lado, p es un valor que se conoce una vez realizado el experimento y una vez obtenido se adquieren los resultados.

El resultado de un contraste de hipótesis puede ser:

- **Estadísticamente significativo:** cuando se rechaza H_0 .
- **Estadísticamente no significativo:** cuando se acepta H_0 .

B.2. Pruebas diagnósticas

Una prueba diagnóstica es un proceso que pretende determinar en un paciente la presencia o no de cierta condición, generalmente patológica, no susceptible de ser observada directamente con alguno de los cinco sentidos elementales.

Para evaluar los resultados de una prueba diagnóstica hay que tener en cuenta ciertos conceptos, como por ejemplo los diferentes tipos de resultados que se pueden obtener:

- **Verdaderos positivos (VP):** son los sujetos en los que la enfermedad está presente y el diagnóstico da como resultado que el paciente padece la enfermedad.
- **Verdadero negativo (VN):** son los sujetos en los que la enfermedad no está presente y el diagnóstico da como resultado que no padece la enfermedad.
- **Falso positivo (FP):** son los sujetos que no padecen la enfermedad pero el diagnóstico determina que la enfermedad está presente en el sujeto.
- **Falso negativo (FN):** son sujetos que padecen la enfermedad pero el diagnóstico determina que la enfermedad no está presente en el sujeto.

	Diagnóstico real		
		Enfermo	Sano
Resultado de la prueba	Positivo	Verdadero positivo (VP)	Falso positivo (FP)
	Negativo	Falso negativo (FN)	Verdadero negativo (VN)

Tabla B.2: Relación entre el resultado de una prueba diagnóstica y la presencia o ausencia de una enfermedad.

El resultado óptimo es obtener el mayor número de verdaderos positivos y de verdaderos negativos, es decir, resultados positivos en pacientes enfermos y negativos en sujetos sanos.

La calidad (validez) de los resultados se puede medir mediante la sensibilidad y la especificidad [34].

- Sensibilidad. Se define como la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo que padece la enfermedad. Cuanto mayor es la sensibilidad, mejor es el clasificador detectando a los sujetos enfermos. Se define también como fracción de verdaderos positivos (FVP):

$$SENSIBILIDAD = \frac{VP}{VP + FN} \quad (B.1)$$

- Especificidad. Se define como la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano. Cuanto mayor es la especificidad, mejor es el clasificador detectando sujetos sanos. Por ello, se define como fracción de verdaderos negativos (FVN):

$$ESPECIFICIDAD = \frac{VN}{VN + FP} \quad (B.2)$$

La sensibilidad y especificidad no predicen el diagnóstico de un paciente en concreto cuando se realiza una prueba, aunque y definen su validez independientemente de la prevalencia de la enfermedad en la población a la cual se aplica.

En un caso real, el médico a cargo de informar al paciente sobre su verdadero diagnóstico se planteará cuál es la probabilidad de que el paciente esté sano o enfermo ante un resultado de la prueba negativa o positivo, respectivamente [34].

La seguridad de los resultados se puede medir mediante los valores predictivos. Estos valores presentan la limitación de que dependen en gran medida de lo frecuente que sea la enfermedad a diagnosticar en la población objeto de estudio.

- Valor predictivo positivo. Es la probabilidad de que el paciente con un diagnóstico positivo, realmente padezca la enfermedad. Puede estimarse como la proporción de pacientes con un resultado positivo en la prueba que finalmente resultaron enfermos:

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP} \quad (B.3)$$

- Valor predictivo negativo. Es la probabilidad de que el paciente con un diagnóstico negativo, realmente no padezca la enfermedad. Puede estimarse como el número de verdaderos negativos entre el total de pacientes con un resultado negativo en la prueba:

$$VPN = \frac{VN}{FN + VN} \quad (B.4)$$

B.3. Análisis ROC

En medicina, como se ha expuesto anteriormente, es interesante tener la capacidad de predecir correctamente la presencia o ausencia de una enfermedad a través de pruebas diagnósticas. Para ello, se puede utilizar el análisis ROC (Receiver operating characteristics) o de las características operativas del receptor.

Una curva ROC es una representación gráfica que ilustra la relación entre la sensibilidad y la especificidad de un sistema clasificador para diferentes puntos de corte. En el eje de las abscisas, eje x, se representa el valor de 1- especificidad (falsos positivos) y en el eje de las ordenadas, eje y, la sensibilidad (verdaderos positivos).

Una prueba con discriminación perfecta (figura B.3 A), sin solapamiento de resultados en las dos poblaciones, tiene una curva ROC que pasa por la esquina superior izquierda, donde S y E toman valores máximos (S y $E = 1$). Una prueba sin discriminación (figura B.3 B), con igual distribución de resultados en los dos subgrupos, da lugar a una línea diagonal de 45° , desde la esquina inferior izquierda hasta la superior derecha. La mayoría de las curvas ROC caen entre estos dos extremos (figura B.3 C).

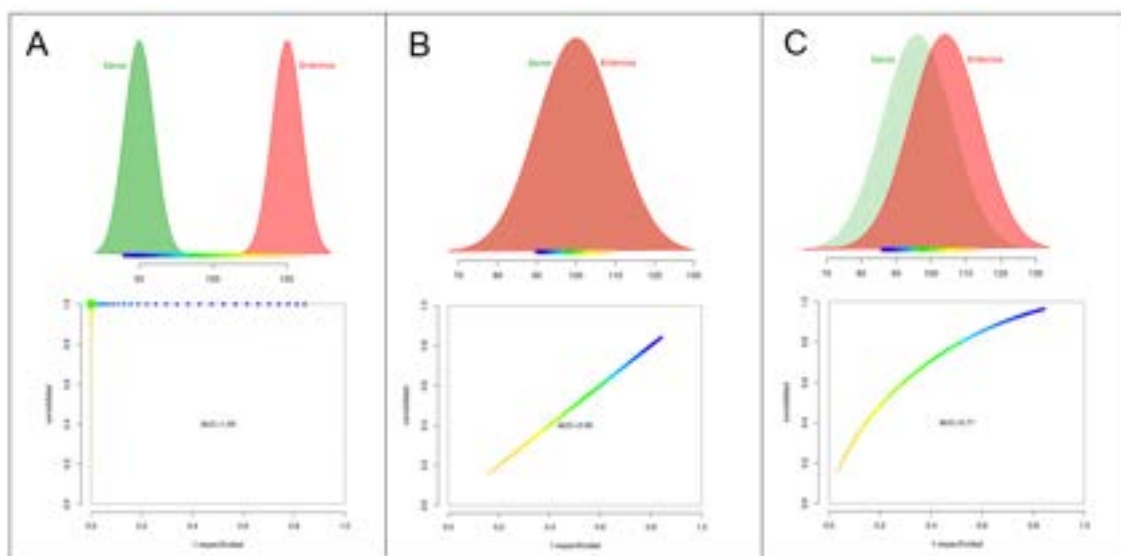


Figura B.3: Curvas de distribución de sujetos enfermos y sanos y curvas ROC. Discriminación perfecta (A), ninguna discriminación (B), ejemplo de discriminación intermedia (C).

B.3.1. Área bajo la curva (AUC)

El área bajo la curva (AUC) de la curva ROC estima la capacidad de discriminar entre sujetos enfermos y sujetos sanos. Es un índice de exactitud de la prueba diagnóstica, siendo un valor entre 0 y 1. Si el AUC es igual a 1, la prueba diagnóstica es perfecta y por tanto clasifica al 100 % de los enfermos como enfermos y al 100 % de los sanos como sanos. En cambio, si el AUC tiene un valor de 0.5 el resultado de la prueba es totalmente aleatorio.

B.4. Análisis ANOVA

El análisis ANOVA (Análisis de la varianza) se utiliza en este estudio para evaluar la capacidad de los biomarcadores a la hora de discriminar entre sujetos control y pacientes con la enfermedad de Parkinson.

Cuando se requiere comparar tres o más grupos y se emplea la prueba t de Student, se ve incrementado el *Error de tipo I*. Esto quiere decir que, a mayor número de comparaciones, mayor es la posibilidad de rechazar equivocadamente la hipótesis nula. Por lo tanto, para este tipo de pruebas se realiza el análisis ANOVA, que es una generalización de la prueba t de Student.

El nombre *Análisis de varianza* se basa en que el procedimiento utiliza las varianzas para determinar si las medias son o no diferentes. Para ello, se realiza una comparación de la varianza entre las medias de los grupos y la varianza dentro de los grupos. De esta manera se determina si todos los grupos son parte de una población más grande o si por el contrario, son poblaciones separadas con características diferentes.

Análisis de la varianza con un factor.

Se utiliza ANOVA de un factor cuando lo que se quiere estudiar es si las medias de una variable son diferentes entre los niveles o grupos.

En el análisis debe haber una **variable de respuesta continua**, en este estudio la variable será, entre otras, el volumen de la SN o el volumen de los vóxeles hiperintensos de la SN y, al menos un **factor categórico** (pacientes) con dos o más niveles, como los sujetos control o los pacientes con la enfermedad de Parkinson.

En todo contraste de hipótesis se requiere la formulación de una hipótesis nula y una hipótesis alternativa, en este caso con K poblaciones siendo $K \geq 2$:

- **Hipótesis nula:** Las medias de los K grupos son iguales.
- **Hipótesis alternativa:** al menos uno de los grupos tiene una media distinta al resto de grupos.

En el caso de que la hipótesis nula sea rechazada, no se podrá saber entre qué grupos están las diferencias.

Resultados del ANOVA con la herramienta MATLAB.

El análisis de la varianza de este estudio se realiza con la herramienta de software MATLAB. Además de proporcionar el **p-valor**, el resultado queda representado mediante un diagrama de caja bigotes.

El gráfico de caja, es una forma de presentación estadística mediante cuartiles, destinada principalmente a resaltar aspectos de la distribución de las observaciones.

Los elementos principales del diagrama son:

- **Caja:** la caja es un rectángulo que abarca el intervalo intercuartílico de la distribución; es decir, desde el primer cuartil hasta el tercer cuartil. Esto abarca el 50 % de las observaciones centrales.
- **Mediana:** se dibuja mediante una línea o asterisco dentro de la caja y representa el valor de la mediana.
- **Bigotes:** los bigotes se representan la variabilidad mediante dos líneas que salen de la caja y que hacen referencia a las observaciones que están fuera del 50 % central de la distribución.

Para su representación se utilizan tres cuartiles y los valores máximo y mínimo de los datos, así como los valores atípicos:

- El primer cuartil (Q_1) es el valor mayor que el 25 % de los valores de la distribución.
- El segundo cuartil (Q_2) es la mediana de la distribución, es decir, es el valor de la variable que ocupa el valor central en un conjunto de datos ordenados.
- El tercer cuartil (Q_3) es el valor que sobrepasa el 75 % de los valores de la distribución.

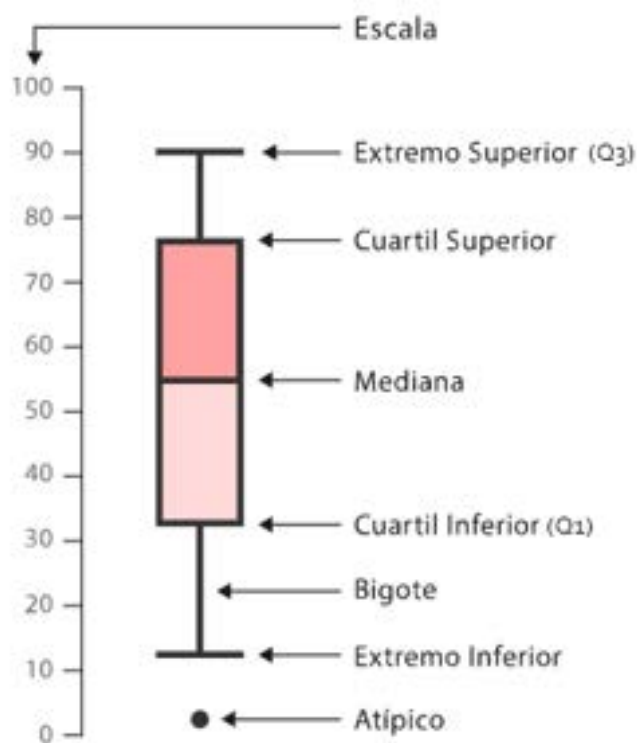


Figura B.4: Diagrama de caja bigotes [48].

La información que podemos obtener de la representación del diagrama de caja bigotes se resume en los siguientes puntos:

- Si la parte inferior de la caja es mayor que la superior, esto implica que la información comprendida entre el 25% y el 50% de la población está más dispersa que entre el 50% y el 75%. En el caso de que la parte superior sea mayor, será al revés.
- Si un bigote es más corto que otro quiere decir que la población está más concentrada.

B.5. Validación cruzada

La validación cruzada es una técnica utilizada para evaluar los resultados de un análisis estadístico. Consiste en repetir y calcular la media aritmética obtenida de las medidas de evaluación sobre diferentes particiones del grupo de datos principal. Este método se utiliza cuando el objetivo principal es predecir y estimar cómo de preciso es el modelo que se ha implementado.

Validación cruzada de K iteraciones dejando uno fuera.

La validación cruzada de K iteraciones divide los datos de muestra en K subconjuntos, es decir, dejando uno fuera o en inglés, Leave One Out (LOO). Uno de los subconjuntos se utiliza como dato de prueba y el resto (K-1) como datos de entrenamiento. El proceso de validación cruzada se repite k iteraciones con cada uno de los posibles subconjuntos de datos de prueba. Por último, se realiza la media aritmética de cada iteración para obtener un único resultado [6].

Este es un método muy preciso ya que se evalúa a partir de K combinaciones de datos de entrenamiento y de prueba, pero tiene como desventaja el requerimiento de tiempo computacional.

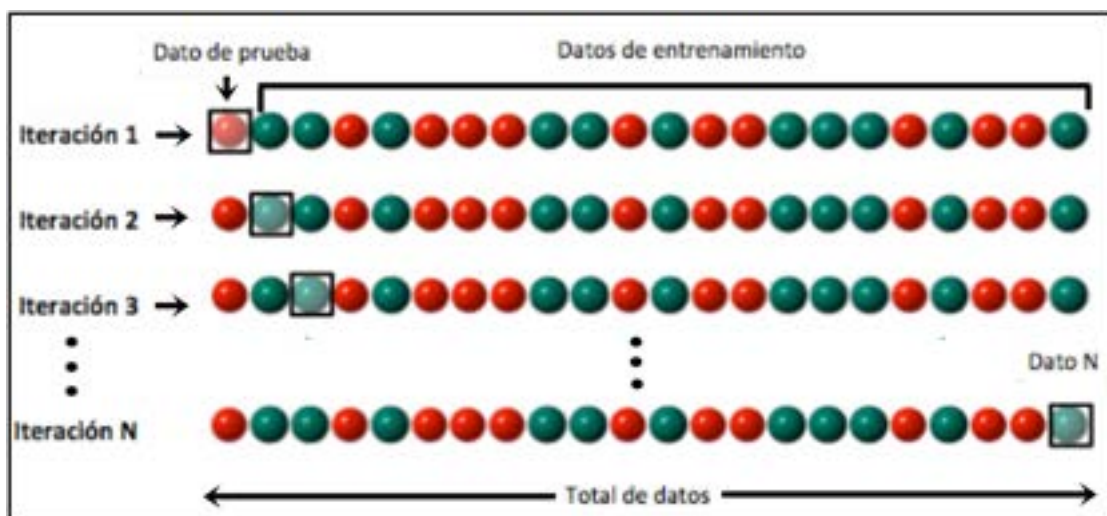


Figura B.5: Validación cruzada dejando uno fuera. Imagen modificada de [53].

B.6. Coeficiente DICE.

El coeficiente DICE es una medida de similitud entre dos muestras. En este estudio las muestras son imágenes binarias. De forma matemática se expresa como [58]:

$$Q = \frac{2|A \cap B|}{|A| + |B|} \quad (\text{B.5})$$

donde A y B se corresponden con las dos imágenes binarias. Los valores de este coeficiente se encuentran entre 0 (ningún grado de similitud) y 1 (cuando las muestras son idénticas).

Apéndice C

Anexo C: Escalas de valoración

Una escala de valoración o de clasificación proporciona información sobre una característica mediante la asignación de un valor. Para valorar el grado de severidad de la enfermedad de Parkinson es necesario que un evaluador asigne un valor a la característica o síntoma de acuerdo con una escala ya establecida.

C.1. Escala de Hoehn y Yahr

La escala de Hoehn y Yahr se usa para medir cómo progresan los síntomas de Parkinson y el nivel de discapacidad. Fue publicada en 1967 con estadios del 1 al 5, desde entonces se han agregado el estadio 0 y se han propuesto las etapas 1.5 y 2.5 que son bastante utilizadas.

- **Estapa 0:** no hay signos de la enfermedad.
- **Estapa 1:** enfermedad exclusivamente unilateral.
 - **Estapa 1.5:** afectación unilateral y axial, incluyendo cuello y columna vertebral.
- **Estapa 2:** afectación bilateral pero sin alteración del equilibrio.
 - **Estapa 2.5:** afectación bilateral leve con recuperación en la prueba de retropulsión (test del empujón).
- **Estapa 3:** afectación bilateral leve a moderada con cierta inestabilidad postural pero físicamente independiente.
- **Estapa 4:** incapacidad grave. Capaz de caminar o permanecer de pie sin ayuda.
- **Estapa 5:** permanece en silla de ruedas o en camado si no tiene ayuda.

C.2. Estadios de Braak

El neuropatólogo Braak ha sugerido seis estadios que explicarían la progresión clínico-patológica de la enfermedad de Parkinson [63] [24]:

- **Estadio 1:** queda afectado bulbo olfatorio, el núcleo motor del vago y el plexo mientérico.
- **Estadio 2:** en este estadio se afecta el complejo **coeruleus**/subceruleus, el núcleo magnocelular y el núcleo posterior del rafe.
- **Estadio 3:** en este punto se ven afectados la **sustancia nigra** pars compacta, el núcleo pedúnculo pontino parte compacta y el subnúcleo central de la amígdala.
- **Estadio 4:** queda afectado el núcleo intersticial de la estría terminalis, el núcleo accesorio cortical y basolateral de la amígdala, el claustró ventra, el núcleo intralaminar del tálamo, el sector CA4 del cuerno de Ammon y la corteza temporal anteromedial.
- **Estadio 5:** en este estadio los cuerpos de Lewy se encuentran en mayor cantidad que en etapas previas y se extienden por la corteza prefrontal y las áreas de asociación sensorial terciarias.
- **Estadio 6:** en este estadio final los cuerpos de Lewy se encuentran ya en las áreas primarias motoras y somatosensoriales.

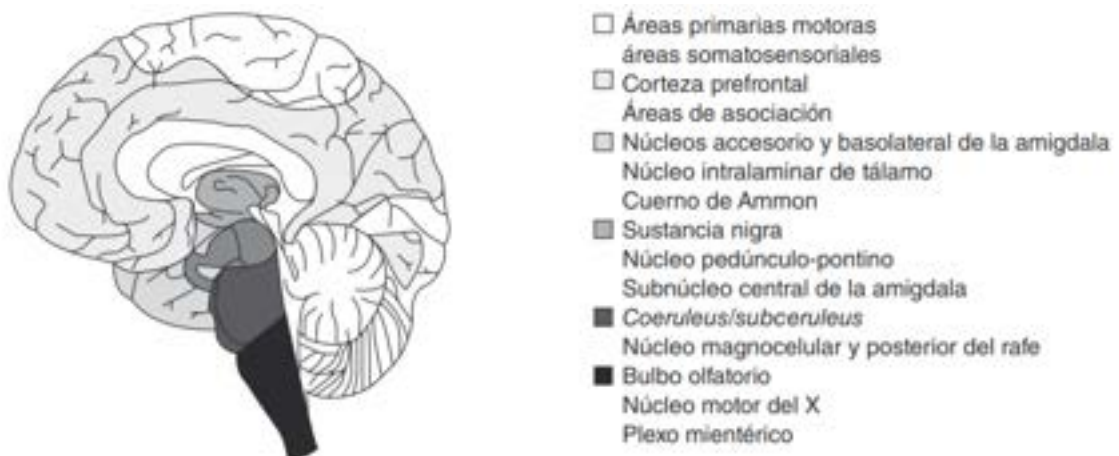


Figura C.1: Modelo de los seis estadios de Braak [24].

C.3. Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS)

La escala UPDRS combina los elementos de varias escalas para elaborar una herramienta completa y flexible que sirva para monitorizar el curso de la una persona que padezca la enfermedad de Parkinson. La escala consiste en tres secciones que evalúan las áreas claves de la enfermedad y una cuarta sección que evalúa cualquier complicación del tratamiento.

- **Parte I:** evaluación de la actividad mental, el comportamiento y el estado de ánimo.
- **Parte II:** autoevaluación de las actividades de la vida cotidiana.
- **Parte III:** evaluación de las funciones motoras.
- **Parte IV:** evaluación de las complicaciones de la terapia.

La prueba UPDRS es llevada a cabo por profesionales de la salud y los puntos se asignan a cada parte según la respuesta de la persona que está siendo evaluada. La puntuación oscilará entre 0 si no tiene la enfermedad y 199 si tiene una discapacidad total.

Apéndice D

Anexo D: Terminología anatómica

D.1. Planos anatómicos

Los planos anatómicos son las referencias espaciales que sirven para describir la disposición de los diferentes tejidos, órganos y sistemas, y las relaciones que hay entre ellos [17].

Desde la posición anatómica, podemos trazar tres cortes o planos anatómicos. Estos planos nos permitirán comprender mejor la situación o la dirección que tienen las estructuras del cuerpo:

- **Plano sagital:** es un plano vertical que va desde la parte anterior del cuerpo hasta la posterior. Divide al cuerpo en dos mitades, izquierda y derecha.
- **Plano coronal:** es un plano vertical que divide al cuerpo en dos secciones, ventral y dorsal. La línea imaginaria corta los hombros.
- **Plano horizontal o axial:** es un plano horizontal que divide el cuerpo en dos mitades, inferior y superior.

En la siguiente figura se muestran los tres planos anatómicos dividiendo el cerebro humano:

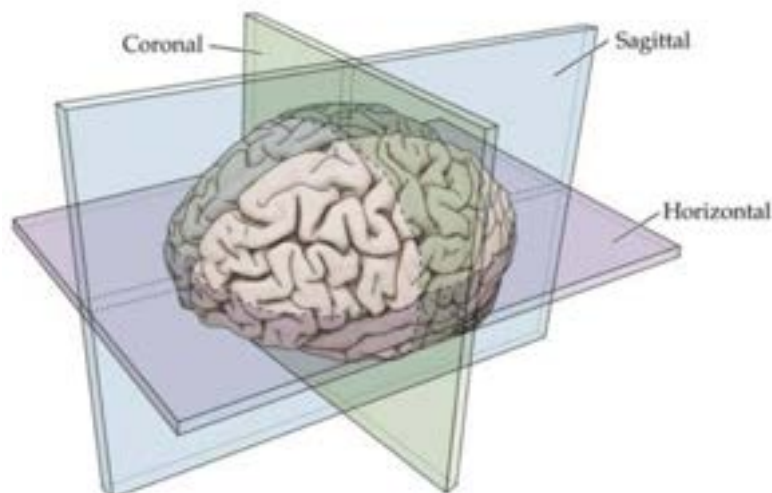


Figura D.1: Planos anatómicos situados en el cerebro humano. Imagen modificada de [40].

D.2. Terminología para la orientación anatómica

Algunos de los términos direccionales más utilizados en anatomía son:

- Ventral o anterior: que se dirige hacia delante.
- Dorsal o posterior: que se dirige hacia atrás.
- Lateral: lejos de la línea del cuerpo.
- Medial: hacia o en la línea central del cuerpo.
- Proximal: más cerca del origen de una parte del cuerpo.
- Distal: más lejos del origen de una parte del cuerpo.
- Rostral: más cerca del rostro.
- Caudal: más cerca de los pies o el extremo inferior de la médula espinal.

En la siguiente figura se muestran señaladas las direcciones más utilizadas:

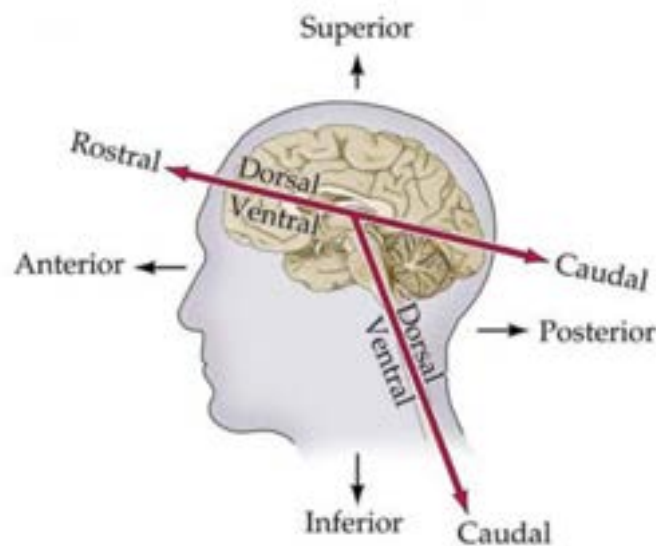


Figura D.2: Términos direccionales en anatomía. Imagen modificada de [54].

Por último es importante destacar los términos ipsilateral y contralateral, que en este proyecto han sido múltiples veces utilizados. El lado ipsilateral se trata del mismo lado del cuerpo y contralateral, situada al otro lado del cuerpo.

Bibliografía

- [1] Gabriel Castellanos, María A Fernández-Seara, Oswaldo Lorenzo-Betancor, Sara Ortega-Cubero, Marc Puigvert, Javier Uranga, Marta Vidorreta, Jaione Irigoyen, Elena Lorenzo, Arrate Muñoz-Barrutia, et al. Automated neuromelanin imaging as a diagnostic biomarker for parkinson's disease. *Movement Disorders*, 30(7):945–952, 2015.
- [2] Xiangchuan Chen, Daniel E Huddleston, Jason Langley, Sinyeob Ahn, Christopher J Barnum, Stewart A Factor, Allan I Levey, and Xiaoping Hu. Simultaneous imaging of locus coeruleus and substantia nigra with a quantitative neuromelanin mri approach. *Magnetic resonance imaging*, 32(10):1301–1306, 2014.
- [3] Alan R Crossman and David Neary. *Neuroanatomía: texto y atlas en color*. Elsevier Masson, 2007.
- [4] P Fernandes, J Regala, F Correia, and AJ Goncalves-Ferreira. The human locus coeruleus 3-d stereotactic anatomy. *Surgical and radiologic anatomy*, 34(10):879–885, 2012.
- [5] José David Ferrero Ferrero. *ESCUELA TECNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA Y DISEÑO INDUSTRIAL*. PhD thesis, UNIVERSIDAD POLITECNICA DE MADRID, 2018.
- [6] Aivack Fuentes. Validación cruzada. [urlhttps://es.scribd.com/doc/259289518/Validacion-cruzada](https://es.scribd.com/doc/259289518/Validacion-cruzada). Accedido 29-5-2019.
- [7] Manfred Gerlach, Walter Maetzler, Karl Broich, Harald Hampel, Lucas Rems, Torsten Reum, Peter Riederer, Albrecht Stöffler, Johannes Streffer, and Daniela Berg. Biomarker candidates of neurodegeneration in parkinson's disease for the evaluation of disease-modifying therapeutics. *Journal of neural transmission*, 119(1):39–52, 2012.
- [8] DC German, BS Walker, K Manaye, WK Smith, DJ Woodward, and AJ North. The human locus coeruleus: computer reconstruction of cellular distribution. *Journal of Neuroscience*, 8(5):1776–1788, 1988.
- [9] Allan K Hansen, Karoline Knudsen, Thea P Lillethorup, Anne M Landau, Peter Parbo, Tatyana Fedorova, Hélène Audrain, Dirk Bender, Karen Østergaard, David J Brooks, et al. In vivo imaging of neuromelanin in parkinson's disease using 18 f-av-1451 pet. *Brain*, 139(7):2039–2049, 2016.
- [10] Ioannis U Isaias, Paula Trujillo, Paul Summers, Giorgio Marotta, Luca Mainardi, Gianni Pezzoli, Luigi Zecca, and Antonella Costa. Neuromelanin imaging

- and dopaminergic loss in parkinson's disease. *Frontiers in aging neuroscience*, 8:196, 2016.
- [11] Carlos Juri and Vivian Wanner. Neuroimágenes en enfermedad de parkinson: Rol de la resonancia magnética, el spect y el pet. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 27(3):380–391, 2016.
- [12] Kenichi Kashihara, Takayoshi Shinya, and Fumiyo Higaki. Neuromelanin magnetic resonance imaging of nigral volume loss in patients with parkinson's disease. *Journal of Clinical Neuroscience*, 18(8):1093–1096, 2011.
- [13] Noam I Keren, Carl T Lozar, Kelly C Harris, Paul S Morgan, and Mark A Eckert. In vivo mapping of the human locus coeruleus. *Neuroimage*, 47(4):1261–1267, 2009.
- [14] Jason Langley, Daniel E Huddleston, Xiangchuan Chen, Jan Sedlacik, Nishant Zachariah, and Xiaoping Hu. A multicontrast approach for comprehensive imaging of substantia nigra. *Neuroimage*, 112:7–13, 2015.
- [15] Jason Langley, Daniel E Huddleston, Christine J Liu, and Xiaoping Hu. Reproducibility of locus coeruleus and substantia nigra imaging with neuromelanin sensitive mri. *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*, 30(2):121–125, 2017.
- [16] J Benito León. Epidemiología de la enfermedad de parkinson en españa y su contextualización mundial. *Revista de neurología*, 66(4):125–134, 2018.
- [17] M2anatomia. Bases de anatomía. planos anatómicos del cuerpo., howpublished = <http://m2anatomia.blogspot.es/1467761016/planos-anatomicos-del-cuerpo/>, year = 2016, note = Accedido 20-3-2019.
- [18] Josep M Martí-Climent, E Prieto, J López Lafuente, and J Arbizu. Neuroimagen: Fundamentos técnicos y prácticos. *Revista Española de Medicina Nuclear*, 29(4):189–210, 2010.
- [19] Ricarda A Menke, Jan Scholz, Karla L Miller, Sean Deoni, Saad Jbabdi, Paul M Matthews, and Mojtaba Zarei. Mri characteristics of the substantia nigra in parkinson's disease: a combined quantitative t1 and dti study. *Neuroimage*, 47(2):435–441, 2009.
- [20] Ana Pérez Menéndez. El número de afectados por la enfermedad de parkinson se duplicará en 20 años y se triplicará en 2050. [urlhttp://www.sen.es/saladeprensa/pdf/Link238.pdf](http://www.sen.es/saladeprensa/pdf/Link238.pdf), 2018. Accedido 13-4-2019.
- [21] Paolo Calabresi Michele Romoli. *Cómo nos movemos. un viaje al sistema cerebral que controla el movimiento*. Pearson educación, 1996.
- [22] Edward J Modestino, Chioma Amenechi, AnnaMarie Reinhofer, and Patrick O'Toole. Side-of-onset of parkinson's disease in relation to neuropsychological measures. *Brain and behavior*, 7(1):e00590, 2017.
- [23] M Carmen Juan Lizandra-Carlos Monserrat and Aranda-Vicente Grau Colomer. Contribución de la informática en su evolución.

- [24] Hugo Morales-Briceño, Amin Cervantes-Arriaga, and Mayela Rodríguez-Violante. Diagnóstico premotor de la enfermedad de parkinson. *Gaceta médica de México*, 147(1):22–32, 2011.
- [25] Miguel Mulas. El impacto de las enfermedades neurodegenerativas en españa. [urlhttps://www.agenciasinc.es/Multimedia/Infografias/El-impacto-de-las-enfermedades-neurodegenerativas-en-Espana](https://www.agenciasinc.es/Multimedia/Infografias/El-impacto-de-las-enfermedades-neurodegenerativas-en-Espana). Accedido 15-6-2019.
- [26] Toshiki NAKANE, Takashi NIHASHI, Hisashi KAWAI, and Shinji NAGANAWA. Visualization of neuromelanin in the substantia nigra and locus ceruleus at 1.5 t using a 3d-gradient echo sequence with magnetization transfer contrast. *Magnetic Resonance in Medical Sciences*, 7(4):205–210, 2008.
- [27] National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering (NIBIB). Imagen por resonancia magnética. [urlhttps://www.nibib.nih.gov/espanol/temas-cientificos/imagen-por-resonancia-magn%C3%A9tica-irm](https://www.nibib.nih.gov/espanol/temas-cientificos/imagen-por-resonancia-magn%C3%A9tica-irm). Accedido 17-4-2019.
- [28] National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Enfermedad de parkinson: Esperanza en la investigación. [urlhttps://espanol.ninds.nih.gov/trastornos/parkinson_disease_spanish.htm](https://espanol.ninds.nih.gov/trastornos/parkinson_disease_spanish.htm), 2016. Accedido 12-4-2019.
- [29] Chigumi Ohtsuka, Makoto Sasaki, Kanako Konno, Mizuho Koide, Kanako Kato, Junko Takahashi, Satoshi Takahashi, Kohsuke Kudo, Fumio Yamashita, and Yasuo Terayama. Changes in substantia nigra and locus coeruleus in patients with early-stage parkinson’s disease using neuromelanin-sensitive mr imaging. *Neuroscience letters*, 541:93–98, 2013.
- [30] J Pascau, JD Gispert, S Reig, R Martínez, and M Desco. Registro de imágenes en medicina nuclear. *Rev R Acad Cien Exact Fis Nat*, 96(1-2):29–43, 2002.
- [31] Rafael Penadés, Clemente Garcia-Rizo, Miquel Bioque, Alexandre González-Rodríguez, Bibiana Cabrera, Gisela Mezquida, and Miquel Bernardo. Búsqueda de nuevos biomarcadores de la cognición en esquizofrenia. *Schizophrenia research: cognition*, 2(4):196–203, 2015.
- [32] E Peñas Domingo, MG Sierra, MM Valero, and M Pérez-Olivares Castiñeira. El libro blanco del parkinson en españa. *Aproximación, análisis y propuesta de futuro. Editor. Patronato sobre Discapacidad (Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad*, 2015.
- [33] Andrew Peterson and R Li Chiang-shan. Noradrenergic dysfunction in alzheimer’s and parkinson’s diseases—an overview of imaging studies. *Frontiers in aging neuroscience*, 10, 2018.
- [34] S Pita and S Pértegas. Pruebas diagnósticas: Sensibilidad y especificidad. *Cad Aten Primaria*, 10(1), 2003.
- [35] Marios Politis. Neuroimaging in parkinson disease: from research setting to clinical practice. *Nature Reviews Neurology*, 10(12):708, 2014.
- [36] Susan J Sara. The locus coeruleus and noradrenergic modulation of cognition. *Nature reviews neuroscience*, 10(3):211, 2009.

- [37] Stefan T Schwarz, Timothy Rittman, Vamsi Gontu, Paul S Morgan, Nin Bajaj, and Dorothee P Auer. T1-weighted mri shows stage-dependent substantia nigra signal loss in parkinson's disease. *Movement Disorders*, 26(9):1633–1638, 2011.
- [38] Stefan T Schwarz, Yue Xing, Pragya Tomar, Nin Bajaj, and Dorothee P Auer. In vivo assessment of brainstem depigmentation in parkinson disease: potential as a severity marker for multicenter studies. *Radiology*, 283(3):789–798, 2016.
- [39] Oraporn Sitburana and William G Ondo. Brain magnetic resonance imaging (mri) in parkinsonian disorders. *Parkinsonism & related disorders*, 15(3):165–174, 2009.
- [40] S.J.Potashner. Gross anatomy of the cns. [urlhttps://slideplayer.com/slide/4225544/](https://slideplayer.com/slide/4225544/). Accedido 22-3-2019.
- [41] Panos Theofilas, Alexander J Ehrenberg, Sara Dunlop, Ana T Di Lorenzo Alho, Austin Nguy, Renata Elaine Paraizo Leite, Roberta Diehl Rodriguez, Maria B Mejia, Claudia K Suemoto, Renata Eloah De Lucena Ferretti-Rebustini, et al. Locus coeruleus volume and cell population changes during alzheimer's disease progression: a stereological study in human postmortem brains with potential implication for early-stage biomarker discovery. *Alzheimer's & Dementia*, 13(3):236–246, 2017.
- [42] Klodiana-Daphne Tona, Max C Keuken, Mischa de Rover, Egbert Lakke, Birte U Forstmann, Sander Nieuwenhuis, and Matthias JP van Osch. In vivo visualization of the locus coeruleus in humans: quantifying the test–retest reliability. *Brain Structure and Function*, 222(9):4203–4217, 2017.
- [43] Gabriela Briceño V. Mesencéfalo. [urlhttps://www.euston96.com/mesencefalo/#Funcion](https://www.euston96.com/mesencefalo/#Funcion). Accedido 6-5-2019.
- [44] Grupo Scanner Vizcaya. ¿qué es el pet? [urlhttps://www.gruposcaner.biz/ques-el-pet/](https://www.gruposcaner.biz/ques-el-pet/). Accedido 16-4-2019.
- [45] J Wang, Y Li, Z Huang, W Wan, Y Zhang, C Wang, X Cheng, F Ye, K Liu, G Fei, et al. Neuromelanin-sensitive magnetic resonance imaging features of the substantia nigra and locus coeruleus in de novo parkinson's disease and its phenotypes. *European journal of neurology*, 25(7):949–e73, 2018.
- [46] Conducción de dopamina. [urlhttp://biomed-atual.blogspot.com/2011/05/circuito-cerebral-do-parkinson.html](http://biomed-atual.blogspot.com/2011/05/circuito-cerebral-do-parkinson.html). Accedido 20-4-2019.
- [47] Corte parte media del cerebro. [urlhttps://www.dreamstime.com/illustration/cerebro.html](https://www.dreamstime.com/illustration/cerebro.html). Accedido 15-4-2019.
- [48] Diagrama de cajas y bigotes. [urlhttps://datavizcatalogue.com/ES/metodos/diagrama_cajas_y_bigotes.html](https://datavizcatalogue.com/ES/metodos/diagrama_cajas_y_bigotes.html). Accedido 29-5-2019.
- [49] Encefalo. [urlhttps://studylibit.com/doc/4426694/talamo—unife](https://studylibit.com/doc/4426694/talamo-unife). Accedido 2-4-2019.
- [50] Encefalo. [urlhttp://agrega.educacion.es/repositorio/14062013/46/es.2013061412_9103939/SistemaNervioso/encfalo.html](http://agrega.educacion.es/repositorio/14062013/46/es.2013061412_9103939/SistemaNervioso/encfalo.html). Accedido 2-4-2019.

- [51] Mesencefalo. [urlhttps://cursa.ihmc.us/rid=1236890110156_608759335_10759/encefalo.gif](https://cursa.ihmc.us/rid=1236890110156_608759335_10759/encefalo.gif). Accedido 2-4-2019.
- [52] Relajación de los tejidos. [urlhttps://es.slideshare.net/Facu885/relajacion-y-potenciacion-885](https://es.slideshare.net/Facu885/relajacion-y-potenciacion-885). Accedido 21-4-2019.
- [53] Validación cruzada. [urlhttp://www.oldemarrodriguez.com/yahoo_site_admin/assets/docs/Presentaci%C3%B3n_-_CV.293124233.pdf](http://www.oldemarrodriguez.com/yahoo_site_admin/assets/docs/Presentaci%C3%B3n_-_CV.293124233.pdf). Accedido 3-5-2019.
- [54] Chapter 3 : The forebrain and somatosensory system. [urlhttp://humanphysiology.academy/Neurosciences%202015/Chapter%203/A.3.1%20Brainstem.html](http://humanphysiology.academy/Neurosciences%202015/Chapter%203/A.3.1%20Brainstem.html), 2015. Accedido 22-3-2019.
- [55] itk-snap. [urlhttp://www.itksnap.org/pmwiki/pmwiki.php?n=Main.HomePage](http://www.itksnap.org/pmwiki/pmwiki.php?n=Main.HomePage), 2018. Accedido 5-4-2019.
- [56] Mohamed Allam. Metaanálisis de los factores de riesgo en la enfermedad de parkinson. 2003.
- [57] Sandra S Arango. Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 30(1):75–82, 2012.
- [58] Mikel Ariz, Ricardo C Abad, Gabriel Castellanos, Martín Martínez, Arrate Muñoz-Barrutia, María A Fernández-Seara, Pau Pastor, María A Pastor, and Carlos Ortiz-de Solórzano. Dynamic atlas-based segmentation and quantification of neuromelanin-rich brainstem structures in parkinson disease. *IEEE transactions on medical imaging*, 38(3):813–823, 2019.
- [59] Varios Autores. ¿qué es el parkinson? [urlhttp://www.esparkinson.es/espacio-parkinson/conocer-la-enfermedad/](http://www.esparkinson.es/espacio-parkinson/conocer-la-enfermedad/). Accedido 13-4-2019.
- [60] Andrea Munive Azcárate. Unidad 7. tronco encefálico. [urlhttps://sites.google.com/site/anatomiadestesistema/nervioso/home/unidad-7-tractos](https://sites.google.com/site/anatomiadestesistema/nervioso/home/unidad-7-tractos). Accedido 29-4-2019.
- [61] Minami Baba, Shigeo Nakajo, Pang-Hsien Tu, Taisuke Tomita, Kazuyasu Nakaya, VM Lee, John Q Trojanowski, and Takeshi Iwatsubo. Aggregation of alpha-synuclein in lewy bodies of sporadic parkinson’s disease and dementia with lewy bodies. *The American journal of pathology*, 152(4):879, 1998.
- [62] Daniela Berg, Ronald B Postuma, Charles H Adler, Bastiaan R Bloem, Piu Chan, Bruno Dubois, Thomas Gasser, Christopher G Goetz, Glenda Halliday, Lawrence Joseph, et al. Mds research criteria for prodromal parkinson’s disease. *Movement Disorders*, 30(12):1600–1611, 2015.
- [63] Heiko Braak, Kelly Del Tredici, Udo Rüb, Rob AI De Vos, Ernst NH Jansen Steur, and Eva Braak. Staging of brain pathology related to sporadic parkinson’s disease. *Neurobiology of aging*, 24(2):197–211, 2003.
- [64] Universidad de Granada. Contrastes de hipótesis paramétricos y no-paramétricos. [urlhttps://www.ugr.es/~bioestad/_private/cpfund1.pdf](https://www.ugr.es/~bioestad/_private/cpfund1.pdf). Accedido 20-4-2019.

- [65] Sociedad de Medicina Nuclear e Imagen Molecular. La imagen molecular y la enfermedad de parkinson. [urlhttp://www.snmmi.org/AboutSNMMI/Content.aspx?ItemNumber=15650](http://www.snmmi.org/AboutSNMMI/Content.aspx?ItemNumber=15650), 2016. Accedido 16-4-2019.