



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA Y  
DISEÑO INDUSTRIAL

Grado en Ingeniería Electrónica y Automática Industrial

## TRABAJO FIN DE GRADO

**Segmentación multi-atlas de la Sustancia Nigra  
desde imágenes de resonancia magnética (MRI)  
para la obtención de biomarcadores utilizados en  
la detección temprana del Parkinson**

José David Ferrero Ferrero

*Cotutor:* Jose Angel Pineda  
Pardo  
Departamento: Investigador  
Postdoctoral

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

Madrid, Septiembre, 2018





UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA Y  
DISEÑO INDUSTRIAL

Grado en Ingeniería Electrónica y Automática Industrial

## TRABAJO FIN DE GRADO

**Segmentación multi-atlas de la Sustancia Nigra  
desde imágenes de resonancia magnética (MRI)  
para la obtención de biomarcadores utilizados en  
la detección temprana del Parkinson**

Firma Autor

*Firma Cotutor*

*Firma Tutor*



**Título:** Segmentación multi-atlas de la SN desde imágenes MRI para la obtención de biomarcadores utilizados en la detección temprana del Parkinson

**Autor:** José David Ferrero Ferrero

**Tutor:** Carlos Platero Dueñas

**Cotutor:** Jose Angel Pineda Pardo

## 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

Quería aprovechar esta sección del trabajo para darle las gracias a mi tutor por abrirme las puertas de un mundo desconocido para mí, como es el de la neuroimagen, y mostrarme que todo se puede lograr con esfuerzo y dedicación.

Cada letra de este trabajo va dedicada para mi madre y mi hermano, y aprovecharé también para pedirles perdón, ya que nunca podré agradecerles del todo lo que me han apoyado para lograr mi objetivo.



# Resumen

Este proyecto se resume en la búsqueda de marcadores diferenciales de la enfermedad del Parkinson desde imágenes de resonancia magnética ponderadas en T2 e imágenes ponderadas en T1 sensibles a la neuromelanina. En ambas modalidades, los marcadores serán extraídos a partir de la sustancia nigra. La calidad de cada uno de los marcadores como variable de diagnóstico será evaluada mediante los análisis ROC y ANOVA. Aquellos marcadores que presenten buenos resultados de clasificación y discriminación entre pacientes con la enfermedad del Parkinson y sujetos control sanos serán extraídos de manera automática por medio de métodos de segmentación basados en multi-atlas

**Palabras clave:** Parkinson, imágenes de resonancia magnética, T2, T1 sensible a la neuromelanina, sustancia nigra, ROC, ANOVA, atlas, segmentación multi-atlas.



# Abstract

This project is summarized in the search for differential markers of Parkinson's disease from T2-weighted and T1 NM-weighted magnetic resonance imaging. In both modalities, the markers were extracted from the substantia nigra. The quality of each marker as a diagnostic variable will be evaluated through ROC and ANOVA analysis. Those markers that present good classification and discrimination results between patients with Parkinson's disease and healthy control subjects will be extracted automatically with multi-atlas segmentation

**Keywords:** Parkinson, magnetic resonance imaging, T2-weighted, T1 NM-weighted, substantia nigra, ROC, ANOVA, atlas, multi-atlas segmentation .



# Índice general

<b>Agradecimientos</b>	<b>VII</b>
<b>Resumen</b>	<b>IX</b>
<b>Abstract</b>	<b>XI</b>
<b>Índice</b>	<b>XV</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS</b>	<b>1</b>
1.1. Introducción . . . . .	1
1.1.1. Enfermedad del Parkinson . . . . .	1
1.1.2. Papel de la neuroimagen en la enfermedad del Parkinson . . . . .	3
1.2. Objetivos . . . . .	9
1.3. Estructura del documento . . . . .	10
<b>2. ESTADO DEL ARTE</b>	<b>11</b>
2.1. Magnetic resonance imaging markers for early diagnosis of Parkinson's disease [17] . . . . .	11
2.2. The subthalamic nucleus in the pathophysiology of Parkinson's disease and its role as a surgical target [18] . . . . .	12
2.3. Quantifying inter-individual anatomical variability in the subcortex using 7 T structural MRI [10] . . . . .	13
2.4. Segmentación multi-Atlas . . . . .	15
2.5. Neuromelanin Imaging and Dopaminergic Loss in Parkinson' disease [8] . . . . .	17
2.6. Automated Neuromelanin Imaging as a Diagnostic Biomarker for Parkinson's Disease [2] . . . . .	20
2.7. In Vivo Assessment of Brainstem Depigmentation in Parkinson Disease. Potential as a Severity Marker for Multicenter Studies [27] . . . . .	22
<b>3. MATERIALES</b>	<b>25</b>
3.1. Herramientas Software . . . . .	25
3.1.1. ANTs . . . . .	25
3.1.2. FSL . . . . .	26
3.1.3. FREESURFER . . . . .	27
3.1.4. ITK SNAP . . . . .	27
3.2. Datos Empleados . . . . .	28

<b>4. MÉTODOS EMPLEADOS</b>	<b>31</b>
4.1. Pre-Procesamiento de imágenes MRI . . . . .	32
4.1.1. Imágenes T1 WHOLE BRAIN . . . . .	32
4.1.2. Imágenes T2 SLAB . . . . .	38
4.1.3. Imágenes T1 SLAB NMEL . . . . .	41
4.2. Obtención de Marcadores desde imágenes ponderadas en T2 . . . . .	42
4.2.1. Volumetría de la Sustancia Nigra (SN) y del Subtálamo (STh)	42
4.2.2. Intensidad de señal en la Sustancia Nigra (SN) . . . . .	55
4.3. Obtención de Marcadores desde imágenes ponderadas en T1 sensibles a la Neuromelanina . . . . .	57
4.3.1. Volumetría de la Sustancia Nigra (SN) . . . . .	57
4.3.2. Intensidad de señal en la Sustancia Nigra (SN) . . . . .	72
4.4. Segmentación Automática basada en métodos Multi-Atlas . . . . .	73
4.4.1. Construcción de Atlas . . . . .	74
4.4.2. Selección de los N mejores Atlas y Registro no-rígido . . . . .	89
4.5. Fusión de Etiquetas . . . . .	90
4.5.1. Votación por mayoría . . . . .	90
4.5.2. Votación ponderada . . . . .	91
4.5.3. Patch labeling . . . . .	91
4.5.4. Segmentación discriminativa . . . . .	92
4.5.5. Patch Match . . . . .	96
4.6. Obtención de Marcadores desde imágenes ponderadas en T2 de ma- nera Automática . . . . .	97
4.7. Obtención de Marcadores desde imágenes ponderadas en T1 sensibles a la Neuromelanina de manera Automática . . . . .	98
4.7.1. Volumetría de la Sustancia Nigra (SN) . . . . .	98
<b>5. RESULTADOS</b>	<b>101</b>
5.1. Evaluación de los biomarcadores obtenidos desde imágenes pondera- das en T2 . . . . .	101
5.1.1. Volumetría de la Sustancia Nigra (SN) y del Subtálamo (STh)	102
5.1.2. Intensidad de señal en la Sustancia Nigra (SN) . . . . .	106
5.2. Evaluación de los biomarcadores obtenidos desde imágenes pondera- das en T1 sensibles a la neuromelanina . . . . .	107
5.2.1. Volumetría de la Sustancia Nigra (SN) . . . . .	107
5.2.2. Intensidad de señal en la Sustancia Nigra (SN) . . . . .	110
5.3. Evaluación de la segmentación automática de las ROIs obtenidas me- diante métodos basados en multi-atlas . . . . .	111
5.3.1. Experimento de registro a un espacio común de las segmenta- ciones manuales obtenidas desde imágenes T1 NM. . . . .	112
5.3.2. Evaluación de los parámetros del registro no-rígido con Elastix	112
5.3.3. Evaluación de las segmentaciones automáticas obtenidas desde imágenes T2 . . . . .	114
5.3.4. Evaluación de las segmentaciones automáticas obtenidas desde imágenes T1 sensibles a la Neuromelanina . . . . .	115
5.4. Evaluación de los biomarcadores obtenidos desde imágenes pondera- das en T1 sensibles a la neuromelanina de manera automática . . . . .	116

5.5. Evaluación conjunta de los biomarcadores obtenidos mediante imágenes ponderadas en T2 e imágenes ponderadas en T1 sensibles a la neuromelanina . . . . .	117
<b>6. CONCLUSIONES</b>	<b>121</b>
6.1. Conclusión: Imágenes T2 . . . . .	121
6.2. Conclusión: Imágenes T1 NM . . . . .	122
6.3. Desarrollos Futuros . . . . .	123
<b>A. Anexo A: Imágenes de Resonancia Magnética (MRI)</b>	<b>125</b>
<b>B. Anexo B: Registro de Imágenes</b>	<b>131</b>
<b>C. Anexo C: Análisis de la Varianza con un Factor. ANOVA</b>	<b>141</b>
<b>D. Anexo D: Análisis ROC</b>	<b>145</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>147</b>



# Índice de figuras

2.1. a)Atlas de Talarich-Tornoux b)Atlas de Schaltenbrand-Wahren . . . . .	16
4.1. Pre-procesamiento de las imágenes T1 WHOLE BRAIN. . . . .	33
4.2. Imagen T1 WHOLE BRAIN en formato nii. . . . .	35
4.3. Imagen T1 WHOLE BRAIN tras la aplicación de la función <i>robustfov</i>	36
4.4. Imagen T1 WHOLE BRAIN tras aplicar el algoritmo de corrección de sesgos . . . . .	36
4.5. Imagen T1 WHOLE BRAIN pre-procesada. . . . .	38
4.6. Pre-procesamiento de las imágenes T2 SLAB. . . . .	39
4.7. Imagen T2 SLAB en formato NifTI. . . . .	40
4.8. Imagen T2 SLAB resultante del pre-procesamiento. . . . .	40
4.9. Imagen T1 NMEL SLAB resultante del pre-procesamiento. . . . .	41
4.10. Esquema del registro T2 SLAB al espacio MNI-152. . . . .	44
4.11. Imagen T1 WHOLE BRAIN sin cráneo. . . . .	46
4.12. Máscara cerebral T2 SLAB. . . . .	47
4.13. Imagen T2 SLAB sin cráneo. . . . .	47
4.14. Imagen cerebral T2 SLAB registrada afínmente al espacio MNI-152 .	49
4.15. Proyección del estriado sobre la nigra y el subtalamo. . . . .	50
4.16. Diferencia subtalamo y SN en atlas [16]. . . . .	50
4.17. Azul y amarillo subtalamo. Rojo y verde SN. . . . .	51
4.18. Separación tronco encefálico y parte superior de la nigra. . . . .	51
4.19. Segmentación manual de SN y subtalamo en todas la vistas. . . . .	51
4.20. Delineación de la ROI de referencia en el espacio MNI-152. . . . .	56
4.21. Segmentación de la SN tras el proceso de umbralización. . . . .	62
4.22. Segmentación de la SN tras la aplicación de los operadores morfológicos.	63
4.23. Segmentación de la SN en imágenes T1 sensibles a la neuromelanina.	67
4.24. Esquema de segmentación. El etiquetado en tonos grises se corres- ponde con las ROIs utilizadas en el proceso de segmentación. . . . .	69
4.25. Segmentación obtenida tras la umbralización de las imágenes T1 sen- sibles a la neuromelanina. . . . .	71
4.26. Segmentación de los voxels más hiperintensos dentro de la SN. . . . .	72
4.27. Esquema del registro T1 NM SLAB al espacio MNI152. . . . .	76
4.28. Imagen T1 NM SLAB reconstruido según los parámetros del encabe- zado de la imagen T1 en el espacio nativo. . . . .	78
4.29. Máscara del T1 NM SLAB reconstruido. . . . .	79
4.30. T1 SLAB creado . . . . .	80
4.31. Imagen T1 NM SLAB en el espacio estándar MNI152. . . . .	81

4.32. Resultado de la aplicación de la caja delimitadora izquierda sobre la imagen. . . . .	87
4.33. Resultado de la aplicación de la caja delimitadora derecha sobre la imagen. . . . .	87
4.34. Resultado de la aplicación de la caja delimitadora izquierda sobre la segmentación manual. . . . .	88
4.35. Resultado de la aplicación de la caja delimitadora derecha sobre la segmentación manual. . . . .	89
5.1. Experimento de registro. . . . .	103
5.2. Experimento de registro. La segmentación en tonos rojos será la obtenida tras la secuencia de registro, mientras que la representada en tonos grises será la original. . . . .	104
5.3. Diagrama caja-bigote de los valores normalizados respecto al volumen intracraneal de SN_CONTRA. HC=0 EP=1 . . . . .	109
5.4. Diagrama caja-bigote de los valores normalizados respecto al volumen intracraneal de SN_UH.LH (izquierda) y de SN_UH_CONTRA (derecha). HC=0 EP=1 . . . . .	110
5.5. Experimento de registro <i>soma 25</i> (izquierda) y experimento de registro MNI-152 (derecha). La segmentación en tonos rojos será la obtenida tras la secuencia de registro, mientras que la representada en tonos grises será la original. . . . .	112
5.6. Registro de la segmentación del n-th atlas sobre la imagen objetivo correspondiente (T2). . . . .	113
5.7. Registro de la segmentación del n-th atlas sobre la imagen objetivo correspondiente (T1 NM). . . . .	114
A.1. Pulsos de radiofrecuencia SPIN-ECO . . . . .	126
A.2. Pulsos de radiofrecuencia TURBO SPÍN ECO . . . . .	126
A.3. Imágenes de RM captadas mediante la secuencia Spin-Eco . . . . .	129
A.4. Pulsos de radiofrecuencia secuencia Inversión-Recuperación . . . . .	129
B.1. Proceso de registro de imágenes. . . . .	132
B.2. Traslación de un objeto. . . . .	134
B.3. Escalado de un objeto. . . . .	136
C.1. Representación gráfica de VE. . . . .	142
C.2. Representación gráfica de VNE. . . . .	142
C.3. a)Aceptación b)Rechazo. . . . .	144
D.1. Categorías de índice de área bajo la curva ROC. . . . .	146

# Índice de tablas

3.1.	Datos demográficos de los pacientes involucrados en el estudio . . . . .	29
5.1.	Coefficiente DICE promedio entre las segmentaciones manuales y la plantilla de Keuken . . . . .	102
5.2.	Coefficiente DICE promedio entre las segmentaciones manuales realizadas en este trabajo y las del estudio previo. . . . .	103
5.3.	Tabla con los valores promedio del coeficiente DICE entre la segmentación original en el espacio nativo y la obtenida tras la secuencia de registro con los distintos métodos de interpolación. . . . .	104
5.4.	Tabla resumen de los valores volumétricos de la SN y STh vistos desde imágenes T2 en $mm^3$ . . . . .	105
5.5.	Tabla resumen de la calidad de los marcadores de volumetría obtenidos desde imágenes T2. . . . .	106
5.6.	Tabla resumen de la calidad de los marcadores de intensidad obtenidos desde imágenes T2. . . . .	106
5.7.	Tabla resumen de los valores volumétricos de la SN vista desde imágenes T1 NM en $mm^3$ . En la parte superior se mostrarán los resultados de la SN completa y en la inferior los resultados de los voxels más hiperintensos. . . . .	108
5.8.	Tabla resumen de la calidad de los marcadores obtenidos a partir del volumen de la SN completa en imágenes T1 NM como biomarcadores de la enfermedad. . . . .	108
5.9.	Tabla resumen de la calidad del volumen de voxels más hiperintensos dentro de la SN obtenido desde imágenes T1 NM como biomarcadores de la enfermedad. . . . .	109
5.10.	Tabla resumen de la calidad de los marcadores de intensidad obtenidos desde imágenes T1 NM. . . . .	110
5.11.	Tabla con los valores promedio del coeficiente DICE entre la segmentación original en el espacio nativo y la obtenida tras la secuencia de registro. . . . .	112
5.12.	Tabla resumen del valor medio del coeficiente DICE entre las segmentaciones automáticas y las manuales (T2, 16 atlas). . . . .	115
5.13.	Tabla resumen del valor medio del coeficiente DICE entre las segmentaciones automáticas y las manuales (T2,30 atlas). . . . .	115
5.14.	Tabla resumen del valor medio del coeficiente DICE entre la segmentación automática y las manuales (T1 NM, 24) . . . . .	116
5.15.	Tabla resumen de los valores volumétricos obtenidos mediante segmentación automática desde imágenes T1 NM en $mm^3$ . . . . .	116

5.16. Tabla resumen de la calidad de los marcadores obtenidos de manera automática desde imágenes T1 NM. . . . .	117
5.17. Tabla resumen de la calidad de clasificación obtenida con los grupos de marcadores T2 y NM seleccionados mediante el algoritmo mRMR. . . . .	119
5.18. Tabla resumen de la calidad de clasificación obtenida combinando los marcadores extraídos desde imágenes T1 NM y T2. . . . .	119
A.1. Tabla de intensidades de tejidos en secuencias potenciadas en T1 y T2	128
C.1. TABLA ADEVA . . . . .	144

# Capítulo 1

## INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

### 1.1. Introducción

#### 1.1.1. Enfermedad del Parkinson

La enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad neuro-degenerativa que afecta a las células cerebrales nerviosas que controlan el movimiento. Se trata de una enfermedad cuyos síntomas aparecen gradualmente y empeoran lentamente.

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la enfermedad afecta a 1 de cada 100 personas mayores de 60 años. También se ha reportado una probabilidad del 3% de aparición en mayores de 80 años. Actualmente, hay unas 6.3 millones de personas con esta enfermedad en el mundo y se prevé que para el año 2030 llegarán a ser más de 12 millones. Estos datos se han podido obtener gracias al incremento en el número de diagnósticos acerca de enfermedades neurológicas realizados en las últimas décadas. Este aumento es debido principalmente a dos motivos: el aumento de la esperanza de vida y los avances en técnicas de diagnóstico.

Según lo reportado en [19], los síntomas motores de la enfermedad del Parkinson se manifiestan tiempo después del inicio de la enfermedad, cuando ha desaparecido el 60% de las neuronas dopaminérgicas contenidas en la sustancia nigra pars compacta (SNc). Por el contrario, los llamados síntomas no motores se manifiestan en una fase más temprana de la enfermedad. Pero éstos, a diferencia de los síntomas motores, no son utilizados como elementos de diagnóstico clínico. Los síntomas motores y no motores más frecuentes en la enfermedad del Parkinson son los siguientes:

- Motores: Engloba los síntomas relacionados con el movimiento. Los más comunes son los temblores, la rigidez muscular y la lentitud de movimientos (bradicinesia).
- No motores: Dentro de este grupo destacan el dolor, la ansiedad y la depresión.

Los síntomas motores son los más característicos de la enfermedad del Parkinson. El tratamiento más utilizado para mejorar estos síntomas es el uso del fármaco conocido comúnmente como levodopa<sup>1</sup>. El tratamiento con este medicamento mejora

---

<sup>1</sup>Precursor metabólico de la dopamina

los problemas motóricos, pero no implica una evolución favorable de la enfermedad. Clínicamente, los pacientes continúan empeorando debido al proceso neurodegenerativo y al envejecimiento fisiológico.

Según datos de la asociación Parkinson Madrid, el tratamiento con levodopa aporta beneficios durante los primeros 5 años. Pasado este tiempo, aparecerán problemas motóricos debidos al tratamiento, como discinesias (movimientos involuntarios anormales) y distonias (contracciones involuntarias de grupos musculares). Debido a estos efectos secundarios, para el tratamiento de pacientes en los que la enfermedad se encuentra en una etapa inicial se utilizan frecuentemente un grupo de fármacos conocidos como agonistas dopaminérgicos. Sin embargo, a medida que evoluciona la enfermedad, estos fármacos no son suficientes para controlar los síntomas motores y se hace necesario recurrir al tratamiento con levodopa. Aún así, el uso de agonistas dopaminérgicos retrasa el inicio del tratamiento con levodopa y por tanto de las complicaciones que éste origina a largo plazo.

Debido a los efectos secundarios de algunos fármacos como la levodopa, y a casos en los que los pacientes no responden favorablemente ante el tratamiento con ellos, se hace necesario recurrir a técnicas más avanzadas para tratar de paliar los síntomas de la enfermedad del Parkinson. Una de las técnicas más recientemente desarrolladas es el Ultrasonido Focal de Alta Intensidad o HIFU. Este procedimiento permite erradicar la actividad cerebral anormal que origina los síntomas, sin necesidad de cirugía. Consiste en aplicar en una diana de pocos milímetros un tratamiento de ultrasonidos que genera hipertemia localizada y finalmente la ablación de dicha zona. En España se puede realizar este tratamiento en el Centro Integral de Neurociencias del Hospital Puerta del Sur.

Además de paliar los síntomas motores, también es necesario tratar los síntomas no motores debido a la disminución en la calidad de vida que suponen, a largo plazo, para el paciente. Entre los fármacos más frecuentemente utilizados para paliar estos síntomas destacan las benzodiacepinas para tratar trastornos del sueño y los antidepresivos.

Aunque los factores que originan la enfermedad del Parkinson no están totalmente claros, existen ciertos artículos como [15], donde se enumeran factores que podrían incrementar el riesgo de padecer la enfermedad. En [15] se hace una clasificación atendiendo a factores no modificables por el ser humano y a otros que sí lo son.

### **Factores no modificables que podrían incrementar el riesgo de EP**

- **Envejecimiento**

Se trata del factor no modificable más determinante ya que el propio envejecimiento genera la pérdida de células dopaminérgicas en la sustancia nigra (SN).

- **Sexo**

En cuestión de sexo, los hombres se ven más afectados por la enfermedad que las mujeres. La mayor parte de estudios de prevalencia e incidencia muestran

niveles más altos en hombres que en mujeres. Además, también se ha observado que la EP aparece a una edad más temprana en los hombres y que las mujeres presentan un empeoramiento motórico más lento.

- **Genética**

Se han encontrado varios genes y locis<sup>2</sup> asociados a la herencia genética de la EP. Se ha reportado que en el 5% de casos tempranos de EP la probabilidad de aparición debido a factores genéticos es mayor que en los de inicio tardío.

- **Temblor esencial**

El temblor esencial es un trastorno del movimiento que se manifiesta por medio del temblor involuntario de manos y cabeza, principalmente. Existen reportes de que el riesgo de padecer la EP es cuatro veces mayor en los pacientes con temblor esencial que en aquellos que no lo tienen.

### **Factores no modificables que podrían incrementar el riesgo de EP**

- **Tóxicos**

Varios pesticidas y herbicidas han sido implicados en la aparición de la EP aunque se desconoce el por qué incrementan el riesgo de padecer la enfermedad.

- **Traumatismo craneoencefálico (TCE)**

Los TCE podrían aumentar la predisposición a padecer una amplia cantidad de enfermedades neurodegenerativas, entre ellas la EP. En análisis recientes se ha reportado que los sujetos que han sufrido un TCE tienen 1.5 veces más riesgo de padecer la enfermedad del Parkinson que los que no lo han sufrido.

Como se ha mencionado anteriormente, un marcador de la enfermedad del Parkinson es la progresiva degeneración de las neuronas dopaminérgicas en la sustancia nigra pars compacta. Estas neuronas son unas células cerebrales nerviosas que producen dopamina, la cual es un neurotransmisor del sistema nervioso central involucrado en importantes procesos biológicos como el movimiento, la motivación y la cognición. Mediante sus receptores D1, D2, D3, D4 y D5, la dopamina disminuye la influencia de la vía indirecta y aumenta las acciones de la vía directa involucrando a los ganglios basales del cerebro. La vía directa tiende a transformar la idea abstracta de un movimiento en la realización del mismo. Mientras que por su parte la vía indirecta tiende a inhibir la aparición de componentes involuntarios en el movimiento.

Por último, cabe destacar que la enfermedad del Parkinson altera la vida, pero no la amenaza. Algunos de los síntomas más avanzados pueden hacer al paciente más vulnerable a las infecciones, pero para en la mayoría de casos, la enfermedad del Parkinson no reducirá significativamente la esperanza de vida.

#### **1.1.2. Papel de la neuroimagen en la enfermedad del Parkinson**

Previamente a dar inicio a esta sección del trabajo cabe destacar que la información descrita a continuación ha sido recopilada de los artículos [5], [14], [23], [26] y [9]

---

<sup>2</sup>Posición fija en un cromosoma. Se usa para referirse a la posición de un gen o de un marcador genético.

con el objetivo de ofrecer una visión sobre el potencial de las imágenes de resonancia magnética en la enfermedad del Parkinson.

La principal característica neuropatológica de la enfermedad del Parkinson es la progresiva pérdida de neuronas dopaminérgicas (en el estriado y especialmente en la sustancia nigra pars compacta). Sin embargo, el proceso patogénico de la EP no está limitado al sistema dopaminérgico. La patología afecta a otros sistemas lo que explica el amplio rango de síntomas motores y no-motores que pueden presentar los pacientes con la EP.

Históricamente, la neuroimagen ha contribuido poco al estudio de la EP. Pero, actualmente se encuentran disponibles un conjunto de técnicas capaces de medir biomarcadores de la enfermedad de manera robusta. Dentro de este grupo destacan:

- Imágenes de resonancia magnética (Magnetic Resonance Imaging, MRI)
- Imágenes moleculares
  - Tomografía por emisión de positrones (Positron Emission Tomography, PET)
  - Tomografía por emisión de fotón único (Single Photon Emission Computed Tomography, SPECT)

Estas técnicas, se han empleado, entre otros casos, para mejorar el diagnóstico diferencial entre EP y otros parkinsonismos, monitorizar la progresión de la enfermedad, y por ende, demostrar la utilidad de tratamientos propuestos para retardar el avance de la misma, y para predecir la aparición de complicaciones motoras y no motoras.

Mención especial requiere su utilización en el diagnóstico temprano de la EP. Por lo general, el diagnóstico de la EP se basa en criterios clínicos (historia, y examen físico y neurológico), y requiere, en ocasiones, de varios años de evolución de los síntomas motores para poder establecer con certeza el diagnóstico. De modo que, para el momento en el que se diagnostique la enfermedad, el 30-50 % de las neuronas nigroestriatales podrían haberse perdido, representando una pérdida cercana al 80 % de la dopamina estriatal y encontrándose la enfermedad en un estado bastante avanzado. Por estos motivos, es crucial disponer de medidas extraídas de imágenes que sean capaces de detectar sujetos con riesgo de padecer la enfermedad,

A pesar de las posibilidades que ofrecen, las pautas actuales no aceptan el uso clínico de todos los biomarcadores de la EP extraídos por medio de neuroimagen. Según [14], únicamente dos biomarcadores extraídos de la sustancia nigra (cambios en la señal de hiperintensidad nigral dorsolateral (Dorsolateral Nigral Hiperintensity, DNH) y cambios en la señal de neuromelanina) parecen estar suficientemente bien establecidos para ser utilizados en la práctica clínica. Otros marcadores cuantitativos son prometedores, pero varios factores están impidiendo la transferencia de las técnicas de neuroimagen desde el área de investigación a la clínica. Uno de estos impedimentos es la necesidad de software especializado y técnicos habilidosos para tratar con las técnicas de MRI de las que se extraen los marcadores.

Además de centrarse en la búsqueda de biomarcadores de la EP, también se deben realizar esfuerzos para estandarizar la recopilación y el procesamiento de datos, allanando el camino para estudios multicéntricos que usen criterios de inclusión y análisis de datos similares. Las secuencias de pulso estandarizadas para la obtención marcadores basados en MRI deberían arrojar resultados más uniformes en todos los centros, aumentando las posibilidades de ser aceptados en la práctica clínica.

### **Enfermedad del Parkinson e imágenes de resonancia magnética (MRI)**

Debido a que la MRI es una técnica no invasiva y más ampliamente disponible que la neuroimagen nuclear, numerosos estudios MRI han sido usados para investigar *in vivo* modificaciones cerebrales en la enfermedad de Parkinson. El enfoque MRI más común es la morfometría basada en voxel, que puede ser usada para evaluar la atrofia tanto en estructuras corticales como subcorticales.

Las técnicas convencionales de MRI tienen un rol marginal en el diagnóstico y el seguimiento de la enfermedad del Parkinson, debido a la imposibilidad de identificar las estructuras afectadas por la EP. En el caso de las secuencias ponderadas en T1 y T2, no permiten visualizar la diferenciación entre la sustancia nigra pars compacta y la sustancia nigra pars reticulata, y no son lo suficientemente sensibles al daño causado por la degeneración nigral. Por lo tanto, al no reflejar adecuadamente la severidad de la enfermedad, su empleo tiene beneficios marginales en la práctica clínica.

Existen técnicas complementarias que pueden detectar cambios en muchas regiones cerebrales afectadas por trastornos parkinsonianos. A continuación se describirán un conjunto de técnicas que se pueden obtener mediante máquinas de resonancia magnética de 3T y los biomarcadores de la EP que se pueden captar con cada uno de ellas.

- **Imágenes ponderadas en ratio de relajación  $R2^*$  y mapas de ponderación de la susceptibilidad (Quantitative Susceptibility Mapping, QSM)**

Estas imágenes permiten cuantificar el contenido de hierro de las distintas estructuras cerebrales. En algunos artículos como [13], se ha reportado un incremento de la cantidad de hierro en la SN en sujetos con la EP. Utilizando imágenes ponderadas en  $R2^*$ , se han obtenido resultados ambiguos en lo que se refiere a la diferenciación entre sujetos control sanos (Healthy Control, HC) y pacientes con la EP, lo que limita su uso clínico como marcador de la enfermedad.

Las imágenes QSM pueden tener mayor sensibilidad que las  $R2^*$  para delinear los cambios relativos a la EP en la SNc. Enfermos de Parkinson y sujetos control fueron comparados por medio de un análisis basado en voxels de la sustancia nigra en imágenes QSM. Los datos obtenidos fueron consistentes con un incremento de la acumulación de hierro en la sustancia nigra de los pacientes con la EP.

En las imágenes sensible al hierro, los sujetos control mostraban un área hiperintensa y ovoide dentro del borde dorsolateral de la SNc hipointensa. La correlación histopatológica sugirió que este área correspondía al nigrosoma-1, una subregión de la SNc. En todos los estudios, la pérdida de señal DNH ha mostrado una alta sensibilidad y especificidad para separar los pacientes con EP de los controles sanos.

- **Imágenes de alta resolución T1 sensibles a la neuromelanina (T1 NM)**

La neuromelanina es un pigmento que está contenido en la SNc. En este tipo de imágenes, la SNc aparece reflejada como un área de alta intensidad de señal. Se informó de una reducción en el tamaño y la intensidad de señal en la SN de pacientes con EP en imágenes sensibles a la neuromelanina con una alta precisión diagnóstica. Además, esta técnica también puede ayudar a distinguir la EP del temblor esencial.

- **Imágenes con tensor de difusión (Difusion Tensor Imagin, DTI)**

Estas imágenes son sensibles a los cambios en el tejido microestructural que alteran la difusión regional de las moléculas de agua. Con el uso de imágenes DTI, se observa una reducción de la anisotropía fraccional (AF) en la SN con una cierta variabilidad en los resultados de todos los estudios. Los enfoques basados en modelos de difusión más avanzados, incluyendo las mediciones de agua libre o de la dispersión en la orientación de neuritas, pueden proporcionar resultados más fiables para distinguir a los pacientes con EP de los HC. El agua libre (es decir, el volumen fraccional de difusión no restringida) y el AF corregido en agua libre (es decir, una medida del tejido compartimentado en cada vóxel) se pueden extraer de los datos de difusión usando un modelo bitensor. El agua libre en la SN se eleva en pacientes con la EP cuando se compara con los HC, lo que sugiere que esta medida es robusta. La medición de los cambios de difusión en la SN ventrolateral también es importante para encontrar efectos consistentes ya que esta región se encuentra relacionada con la patología en la EP.

Por último, la conectividad estructural de la SN con los ganglios basales y el tálamo se reduce en los pacientes con EP, como se muestra utilizando el seguimiento de fibra basado en difusión.

- **fMRI en estado de reposo (Resting-state fMRI, rs-fMRI)**

Esta técnica, por medio del el contraste sanguíneo dependiente del nivel de oxígeno (Blood Oxygen Level-Dependent contrast, BOLD) ha permitido la exploración de la conectividad cerebral entre las regiones corticales funcionalmente vinculadas que constituyen las redes en estado de reposo (Resting-State Networks, RSNs). La rs-fMRI en pacientes con la EP mostró que la disminución de dopamina conduce a una reasignación de la conectividad cerebral caracterizada por una disminución del acoplamiento en la red sensoriomotora cortico-estriatal, y entre el cuerpo estriado y el tronco encefálico. También se observó en estos sujetos un aumento del acoplamiento, interpretado como

compensatorio, en los sujetos en las redes asociativas, e intrarregionalmente, dentro de la corteza motora primaria (M1) y el cerebelo. Por último, el mapeo de conectividad funcional (Functional Connectivity, FC) dentro de las redes de los ganglios basales permite distinguir a los pacientes con EP, tanto de sujetos control sanos como de sujetos con otras enfermedades neurodegenerativas, con alta precisión

- **Espectroscopía de resonancia magnética de protones (Proton Magnetic Resonance Spectroscopy, H-MRS)**

Esta técnica permite la cuantificación de los cambios en los metabolitos cerebrales que informan de una serie de cambios metabólicos en diversos niveles del sistema nervioso central en derivados de la EP. En la SN, los resultados a menudo fueron contradictorios, probablemente debido al pequeño tamaño de la estructura. Un estudio reciente ha demostrado que la MRS detectó cambios metabólicos en el putamen en pacientes con la EP, que se revertieron con el tratamiento con levodopa. Estos resultados sugirieron un posible papel de las imágenes MRS para controlar los efectos del tratamiento.

Las imágenes obtenidas con máquinas de resonancia magnética de 3T ofrecen la posibilidad de fusionar información de diferentes modalidades. La combinación de marcadores tanto monomodales como multimodales podría lograr una mejor discriminación en comparación con los resultados aportados por los marcadores individuales por sí mismos. Debido a que la importancia de combinar biomarcadores en la enfermedad de Parkinson se está reconociendo cada vez más, se espera que los enfoques de fusión de datos por imágenes se generalicen en el futuro.

### **Síntomas de la Enfermedad del Parkinson e imágenes de resonancia magnética (MRI)**

Como se ha comentado anteriormente, varias técnicas de MRI han mostrado resultados prometedores en el diagnóstico diferencial entre pacientes con EP y otros parkinsonismos o sujetos control sanos. Además de esto, la neuroimagen ha revelado los substratos patológicos de muchos de los síntomas motóricos y no-motóricos de la EP. Sin embargo, ninguna modalidad de imagen por si sola puede explicarlos colectivamente.

A continuación, se expondrán las anomalías observadas en pacientes que presentan síntomas motores y no motores de la EP, captadas mediante imágenes de resonancia magnética de 3T.

### **SÍNTOMAS MOTORES**

- **Rigidez**

Estudios de fMRI han reportado una reducción en la actividad cerebral en el cortex prefrontal y en el pálido en pacientes con la EP que presentan acinesia o rigidez

- **Congelación en la marcha**

La MRI morfométrica ha mostrado que el congelamiento en la marcha está asociado a la pérdida de materia gris cortical y con la disminución en las imágenes fMRI de la señal BOLD en el estriado y en regiones extraestriatales.

- **Discinesia inducida por levodopa (DIL)**

Utilizando fMRI durante la realización de tareas visomotoras<sup>3</sup>, los pacientes enfermos de Parkinson con DIL sin medicar mostraron una activación más fuerte del área motora suplementaria (AMS) y una activación reducida del giro frontal inferior derecho que los pacientes sin DIL.

## SÍNTOMAS NO MOTORES

- **Hiposmia**

La hiposmia es un síntoma temprano no motor de la EP con un posible papel como biomarcador potencial en la progresión de la EP y el deterioro cognitivo. Pacientes con EP con hiposmia, mostraron un valor de FC reducido en áreas corticales olfativas y no relacionadas con el olfatorio y FC aumentada en la corteza cingulada anterior / posterior izquierda, en comparación con aquellos sin hiposmia. También se informó de atrofia en regiones olfativas asociadas con déficit olfatorio.

- **Trastorno conductual del sueño MOR (Movimientos Oculares Rápidos)**

Este trastorno ha demostrado un potencial incomparable como marcador prodrómico de la EP, con un período estimado de 10 a 15 años de pérdida neuronal progresiva antes del inicio de los síntomas motores centrales. El trastorno conductual del sueño MOR se ha relacionado con el daño en el locus coeruleus (LC). Se observó una señal de neuromelanina reducida en el LC en pacientes con la EP y que presentan este trastorno.

- **Depresión**

Usando diferentes enfoques de rs-fMRI, se ha observado una disfunción intrínseca dentro de la corteza prefrontal dorsolateral en pacientes deprimidos con EP. Además, la presencia de apatía en estos sujetos se asoció con un valor de FC alterado en las vías frontoestriatales.

- **Fatiga**

La fatiga es un síntoma común e incapacitante en pacientes con EP. Un estudio reciente de rs-fMRI ha revelado que la fatiga se asoció con un patrón de FC divergente dentro de la red sensoriomotora y la red neuronal por defecto en pacientes con EP sin tratamiento previo. La gravedad de la fatiga se correlaciona con los cambios de conectividad, lo que sugiere que es necesaria una interacción funcional eficiente entre estas áreas corticales para mantener el rendimiento motor sin el desarrollo de la fatiga.

- **Disfunción autonómica y dolor**

Los síntomas disautonómicos y especialmente los cardiovasculares son frecuentes y se presentan temprano en la EP. La variabilidad anormal de la frecuencia

---

<sup>3</sup>Tareas que requieren alta precisión donde se utilizan de manera simultánea ojos, manos y dedos

cardíaca evaluada durante el trastorno conductual del sueño MOR se correlacionó con cambios en las medidas de difusión en el bulbo raquídeo, lo que sugiere que el daño en esta región subyace a la disfunción autonómica cardíaca

### **Imágenes de resonancia magnética de 7T**

La disponibilidad de máquinas de resonancia magnética de campo ultra alto (7T) ha proporcionado nuevas perspectivas en el campo de los desórdenes relacionados con el movimiento y particularmente en la enfermedad del Parkinson. Las imágenes de 7T tienen dos principales ventajas sobre las de 1.5T y 3T debido al aumento del campo magnético estático. En primer lugar, proporciona una mayor relación señal / ruido, reduciendo el tiempo de medición y aumentando la resolución espacial. En segundo lugar, las máquinas de 7T proporcionan un aumento del contraste de los tejidos debido al incremento de la sensibilidad a los efectos de la susceptibilidad.

Las ventajas descritas anteriormente propician la mejor visualización de la sustancia nigra. Con estas imágenes, se puede apreciar claramente la separación entre el núcleo subtalámico (STh) y la SN. Además, los límites laterales del SN muestran una forma anormal en pacientes con EP. Por tanto, la utilización de la sustancia nigra vista en imágenes de 7T es atractiva para detectar individuos con alto riesgo de conversión a EP debido al bajo coste y a la seguridad. Para lograr este objetivo será necesario recurrir a estudios longitudinales de MRI para obtener valores predictivos deseables.

Una de las técnicas más reforzadas por las máquinas de resonancia magnética de 7T es la fMRI, ya que la mayor fuerza de campo proporciona un mayor contraste, resolución y especificidad. Las imágenes fMRI en 7T fueron capaces de distinguir la activación que se origina en el STh y la SN. Se espera que la fMRI de 7T proporcione una mejor sensibilidad y resolución espacial para imágenes de los ganglios basales y las estructuras del tronco encefálico en la EP.

Sin embargo, los sistemas 7T son extremadamente caros y no están certificados como dispositivos clínicos debido a su escasa existencia.

## **1.2. Objetivos**

En este Trabajo Fin de Grado se pueden distinguir cuatro objetivos principales:

- El primer objetivo es la búsqueda de posibles biomarcadores de la enfermedad del Parkinson en imágenes de resonancia magnética ponderadas T2 y en imágenes ponderadas en T1 sensible a los niveles de neuromelanina por medio de segmentación manual de estructuras y otras técnicas de segmentación convencionales.
- El segundo objetivo será evaluar el poder discriminativo entre sujetos control sanos y pacientes con EP que ofrecen los biomarcadores potenciales.
- El tercer objetivo será automatizar la obtención de aquellos biomarcadores anteriormente calculados que presenten poder discriminatorio entre las dos poblaciones mediante técnicas de segmentación automáticas basadas en multi-atlas.

- El cuarto objetivo será evaluar las características de clasificación de cada uno de los biomarcadores por separado así como combinaciones de éstos.

### 1.3. Estructura del documento

- En el capítulo 1 se realiza una breve introducción de la enfermedad del Parkinson. Esta sección se centrará principalmente en presentar los diferentes tipos de imágenes de resonancia magnética utilizados en la investigación de la enfermedad del Parkinson así como biomarcadores que se han extraído de ellas en diferentes estudios y su utilidad para reflejar los distintos síntomas de la enfermedad.
- En el capítulo 2 se hará una descripción teórica de conceptos con los que se emplearán a lo largo del trabajo, y se llevará a cabo el resumen de artículos que se han seguido para extraer los diferentes marcadores de la enfermedad.
- En el capítulo 3 se describirán las herramientas software que se emplearán en el trabajo con las imágenes, así como los pasos necesarios para su instalación y descarga. En este capítulo también se recogerán diferentes datos sobre las sujetos que formarán parte del proyecto.
- En el capítulo 4 se incluirá la documentación de todos aquellos métodos y experimentos que se han realizado para la obtención, tanto manual como automática, de posibles marcadores de la enfermedad.
- En el capítulo 5 se realizará un análisis de la calidad de los marcadores obtenidos por medio del análisis de la varianza con un factor (ANOVA) y el análisis de las características operativas del receptor (ROC).
- En el capítulo 6 se incluirán las conclusiones observadas a partir de los resultados obtenidos del capítulo anterior, así como futuros trabajos a realizar.

## Capítulo 2

# ESTADO DEL ARTE

En este capítulo se explicarán de manera teórica los conceptos que, más adelante, serán utilizados en las aplicaciones desarrolladas. También se resumirán los distintos artículos científicos que se han tomado como guía en las distintas fases del proyecto.

### 2.1. Magnetic resonance imaging markers for early diagnosis of Parkinson's disease [17]

Uno de los principales problemas en el tratamiento de la enfermedad del Parkinson es la falta de fármacos con efectos neuroprotectores para paliar la enfermedad en humanos. Diversos agentes que han mostrado resultados efectivos en experimentos con animales no se han comportado de manera similar en humanos. Ésto se debe a que el proceso neurodegenerativo se encuentra muy avanzado en el momento del diagnóstico clínico<sup>1</sup>.

Durante fase preclínica (prodrómica) de la enfermedad, puede dar la impresión de que los pacientes no muestran síntomas de la enfermedad. En realidad, no se presentan síntomas motores, pero sí otros como trastornos del humor, olfativos o neuropsicológicos que reflejan la disfunción de las neuronas dopaminérgicas. Estos síntomas demuestran que la alteración neuronal, con respecto a la formación de cuerpos Lewy, se produce primero en el núcleo vagal dorsal, el bulbo olfatorio, los núcleos del rafe y el locus coeruleus antes de iniciarse en la sustancia nigra.

Se sugiere que aproximadamente el 10% de los sujetos mayores de 60 años se encuentran en la fase prodrómica de la enfermedad del Parkinson. Estos sujetos presentan características patológicas de la enfermedad del Parkinson como los cuerpos de Lewy y la pérdida neuronal en la sustancia nigra, pero no muestran los signos motores utilizados para el diagnóstico de la enfermedad del Parkinson. Únicamente el 10% de este grupo, con la llamada “enfermedad incidental del cuerpo de Lewy”, alcanzarán el grado en el que los síntomas motores permitan diagnosticar la enfermedad del Parkinson, momento en el que ya puede ser tarde para tratarla.

---

<sup>1</sup>El 60-70% de las neuronas de la sustancia nigra se degeneran y el contenido de dopamina estriatal se reduce en un 80%

Por esta razón, la detección de la enfermedad en la fase prodrómica se está convirtiendo en un objetivo importante para establecer un pronóstico y elegir una estrategia de tratamiento adecuada. En [17] se recogen algunos enfoques para identificar marcadores en la fase prodrómica o en una fase clínica temprana, cuando los primeros síntomas motores comienzan a aparecer. Estos enfoques tienen como objetivo facilitar el diagnóstico precoz de la enfermedad del Parkinson.

Una técnica muy utilizada en el diagnóstico de la enfermedad del Parkinson es el uso de imágenes de resonancia magnética. Ésto se debe a que las primeras etapas con síntomas motores pueden confundirse fácilmente con otros trastornos parkinsonianos atípicos y dar lugar a un diagnóstico erróneo debido a la similitud en los signos clínicos.

Para imágenes de resonancia magnética convencionales, tomadas con máquinas de 1.5 T, los pacientes con enfermedad de Parkinson avanzada y los pacientes con parkinsonismos atípicos pueden presentar anomalías en la sustancia nigra en las imágenes ponderadas en T2. Algunas de las anomalías mencionadas son el aumento de la señal en las imágenes y el aumento de la mancha de hipointensidad hacia el núcleo rojo. Estas características, permitirán diferenciar los pacientes en fase prodrómica con los que presenten algún trastorno parkinsoniano atípico o un nivel avanzado de la enfermedad del Parkinson.

## **2.2. The subthalamic nucleus in the pathophysiology of Parkinson's disease and its role as a surgical target [18]**

El Parkinson es la segunda enfermedad neurodegenerativa más frecuente por detrás del Alzheimer. Tiene como causa principal la pérdida selectiva de neuronas dopaminérgicas en la sustancia nigra pars compacta. Ésto se debe a que las neuronas de la nigra desarrollan una vulnerabilidad selectiva y en consecuencia mueren de forma progresiva y masiva. La pérdida de neuronas dopaminérgicas ocasiona un desbalance en otras estructuras de los ganglios basales como la sustancia nigra pars reticulata (SNr) y el subtálamo.

Se ha demostrado que la enfermedad del Parkinson esta relacionada con la hiper-sincronización de las oscilaciones de baja frecuencia entre el subtálamo y el Globo Pálido (GP), lo que interfiere con la capacidad de iniciar o detener acciones motóricas en la corteza.

A principios del siglo XX, las lesiones en el subtálamo se asociaban con la aparición de movimientos involuntarios súbitos. En esta época se exponía que si al menos un 20 % del núcleo subtalámico estaba destruido, aparecerían espasmos involuntarios que afectarían a la mitad del cuerpo (hemibalismos). Posteriormente se ha demostrado que bastaría con un 4 % de daño para producir movimientos involuntarios.

El STh es una estructura pequeña formada por neuronas de proyección con grandes axones que realiza sinapsis con estructuras como la SNr, la SNC o la corteza

cerebral. Se ha demostrado que las neuronas del circuito motor<sup>2</sup> se encuentran localizadas en su mayoría en la región dorso-lateral del núcleo subtalámico. La zona más lateral de la estructura recibe influencia de la corteza motora primaria y la zona más medial la recibe del área motora suplementaria .

### 2.3. Quantifying inter-individual anatomical variability in the subcortex using 7 T structural MRI [10]

Todos los seres humanos presentan diferencias morfológicas en sus estructuras cerebrales. Estas discrepancias, se tienen en cuenta en el estudio de las imágenes de resonancia magnética a la hora de determinar la ubicación exacta de las estructuras a estudiar. La localización de una estructura es captada mediante su segmentación en exploraciones individuales o mediante el registro de datos individuales sobre atlas cerebrales para así obtener información probabilística acerca de la localización exacta de las regiones de interés (Regions Of Interest, ROIs).

Desarrollando ambos procedimientos se pueden delinear la totalidad de las estructuras corticales y subcorticales, a excepción de las que poseen un tamaño reducido. Ésto se debe a que dichas estructuras no se incluyen como ROIs en la mayoría de atlas debido a la dificultad de adquirir una imagen nítida de ellas.

Una solución a este problema es emplear imágenes de resonancia magnética de alta resolución captadas con secuencias que ayuden a la visualización de las distintas estructuras subcorticales. La necesidad de una alta resolución incrementa la relación señal-ruido, por lo que será necesario emplear un escáner de alta precisión para tomar las imágenes. El inconveniente de esta tecnología se encuentra en la limitada disponibilidad de este tipo de máquinas en todo el mundo, lo que conduce a que no se dispongan de atlas fiables de la mayoría de las estructuras del subcortex.

En este estudio, se llevó a cabo la segmentación individual de seis estructuras subcorticales de pequeño tamaño desde imágenes tomadas con una máquina de resonancia magnética de 7T. Este estudio tiene como objetivo elaborar atlas fiables de las siguientes estructuras:

- Cuerpo estriado (STR)
- Globo pálido externo (GPe)
- Globo pálido interno (GPi)
- Núcleo subtalámico (STh)
- Sustancia nigra (SN)
- Núcleo rojo (RN)

Se emplean tres secuencias de resonancia magnética distintas para optimizar la visualización de las estructuras, debido a las diferentes propiedades de los tejidos:

- MP2RAGE (Ponderación en T1)

---

<sup>2</sup>Neuronas que al ser estimuladas evocan una respuesta motora

- FLASH (Ponderación en T2\*)
- QSM

Se obtienen las siguientes imágenes:

- Cerebro completo MP2RAGE (240 slices sagitales)
- MP2RAGE slab (128 slices axiales)
- FLASH slab (128 slices axiales)
- QSM

La visibilidad de cada región de interés varía entre las diferentes secuencias. Se procederá a la segmentación de las estructuras subcorticales en las imágenes que ofrecen mejor visibilidad.

El proceso de segmentación se lleva a cabo de manera manual y es realizado de forma independiente por dos investigadores. El resultado final se basa en la similitud existente entre la segmentación realizada por cada uno de ellos (únicamente los voxels calificados como "pertenecientes a la estructura" por ambos investigadores serán considerados en análisis posteriores).

El proceso de segmentación manual se resume en los siguientes pasos:

- El volumen de cada paciente se carga por separado en el viewer.
- Se establecen los valores de contraste del viewer para maximizar la visibilidad de las estructuras (cada estructura tendrá unos valores adecuados).
- Se selecciona un slice y un hemisferio de manera aleatoria para comenzar a delinear la estructura.
- Finalmente se obtiene (para cada estructura) una medida que permita comparar la segmentación realizada por ambos investigadores (Cohen's Kappa, DICE e ICC).

Para las imágenes captadas por medio de MP2RAGE se lleva a cabo la eliminación de todas las estructuras óseas presentes en las imágenes de resonancia magnética ("skull-stripped"). Las imágenes MP2RAGE del cerebro completo se registran al espacio normalizado MNI04 por medio de un algoritmo automatizado basado en un registro lineal con radio de correlación y 12 grados de libertad. Las imágenes MP2RAGE slab se registran sobre las imágenes MP2RAGE de cerebro completo (ya en espacio normalizado) por medio del algoritmo anterior.

Por su parte, las imágenes FLASH slab se registran en varios pasos:

- Se registra sobre el MP2RAGE slab original mediante un algoritmo de registro lineal con 7 grados de libertad.
- Se registra al espacio MNI04 usando la matriz de transformación generada al registrar el MP2RAGE slab sobre el cerebro completo MP2RAGE ya en espacio normalizado.

Una vez segmentadas, las imágenes son no-linealmente optimizadas usando ANTS. La ventaja de los atlas optimizados linealmente está en que captura más variaciones en la localización, tamaño y forma de las estructuras. Por otro lado el registro optimizado no linealmente tiene la ventaja de que ofrece una representación más precisa de la localización tamaño y forma actual de la estructura. Sin embargo tiene la desventaja de que la mayoría de las variaciones anatómicas son capturadas en el campo de deformación y no en el atlas probabilístico. La elección de emplear un tipo de optimización u otro dependerá del protocolo de registro al espacio estándar utilizado.

Todas las imágenes individuales registradas en el espacio normalizado MNI04 se juntan para crear un atlas probabilístico de cada estructura. Este estudio suministra seis atlas probabilísticos de estructuras subcorticales basadas en imágenes de resonancia magnéticas obtenidas con máquinas de 7T. La limitación en el uso de estos atlas reside en el rango de edad de los pacientes en que se pueden usar. Estos atlas han sido elaborados a partir de jóvenes sanos de 30 años. Por tanto, solo se pueden emplear en pacientes de edades similares puesto que con el envejecimiento aparecen cambios sustanciales en la morfología cerebral.

## 2.4. Segmentación multi-Atlas

La segmentación de estructuras cerebrales en imágenes de resonancia magnética constituye un medio no invasivo y de gran efectividad para delinear las distintas estructuras anatómicas de un sujeto.

La aparición de esta tecnología ha influido de manera positiva en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades genéticas que afectan al cerebro ya que permiten observar la evolución de una enfermedad mediante la evaluación de bio-marcadores extraídos de las diferentes imágenes de resonancia magnética. Un ejemplo de estos bio-marcadores son las variaciones en la forma y volumen de estructuras subcorticales como el caso del hipocampo en enfermedades como el Alzheimer, la epilepsia o la esquizofrenia [24].

La segmentación de las imágenes de resonancia magnética en las diferentes estructuras anatómicas se puede hacer de dos maneras:

- Semi-automática: El usuario debe identificar una serie de puntos en el cerebro del paciente (puntos marca) para que sea posible la localización de las estructuras deseadas.
- Automático: El atlas localiza las estructuras en el cerebro del paciente sin intervención del usuario.

La segmentación de imágenes médicas resulta difícil de automatizar debido a que estructuras anatómicamente distintas no pueden distinguirse teniendo en cuenta únicamente los valores de intensidad de la imagen, por lo que es necesario conocer su localización y su relación espacial con otras estructuras, es decir, se requiere información previa y por tanto el uso de un atlas cerebral [21].

Los atlas están constituidos por imágenes cerebrales en las que un experto ha identificado estructuras anatómicas o funcionales de manera manual. El objetivo principal de este tipo de imágenes es poder localizar determinadas estructuras en otro cerebro distinto, ya sea de manera aproximada o exacta.

Los cortes utilizados para crear los atlas pueden ser de dos tipos. Ver figura 2.1:

- Macroscópicos: Muestra el tamaño real del cerebro, ya sea escalado o no. Un ejemplo de este tipo de corte se puede observar en el atlas de Talarich-Tornoux.
- Microscópicos: Las imágenes se muestran ampliadas. Un ejemplo de este tipo de corte se puede observar en el atlas Schaltenbrand-Wahren.

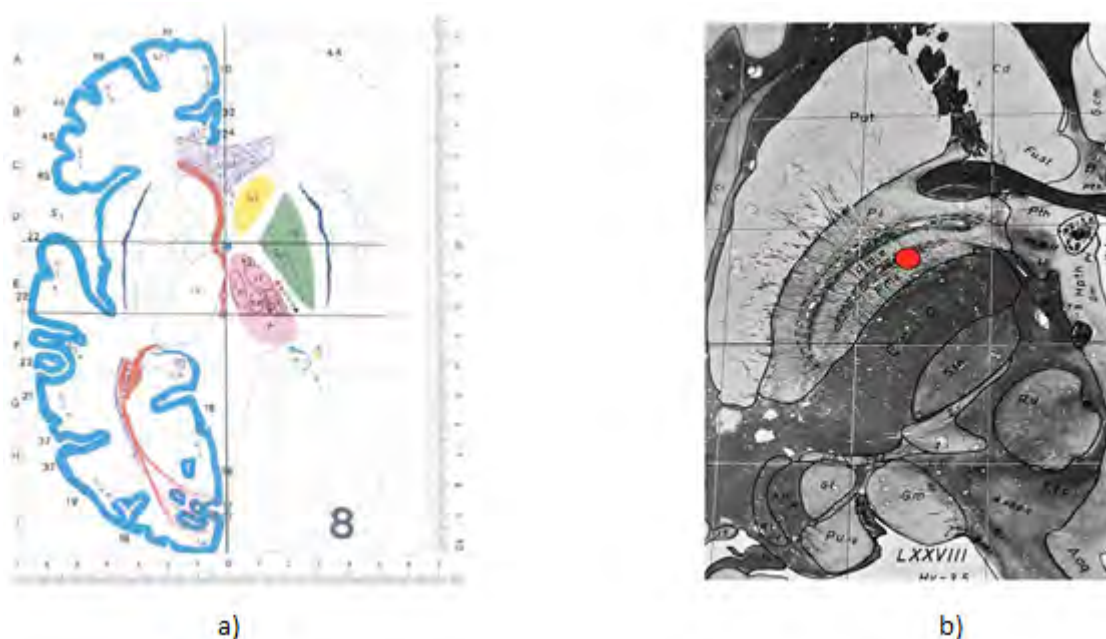


Figura 2.1: a)Atlas de Talarich-Tornoux b)Atlas de Schaltenbrand-Wahren

Debido a la información previa proporcionada por los atlas, la técnica más utilizada para identificar estructuras en imágenes cerebrales de resonancia magnética es la segmentación mediante atlas (normalmente basado en un registro no rígido) [28].

Los métodos de segmentación mediante atlas son técnicas que buscan particionar una región específica de la imagen objetivo usando un mapa con etiquetas conocidas (atlas), como marco de referencia para realizar la segmentación. Este tipo de segmentación requiere previamente registrar los atlas sobre la imagen objetivo.

En éste proceso de segmentación pueden aparecer errores de dos tipos:

- Errores debidos al proceso de registro.
- Errores debidos a la utilización de un único atlas para el proceso de segmentación.

Este último puede verse reducido utilizando más de un atlas en el proceso de segmentación. El principal beneficio de utilizar segmentación multi-atlas es la reducción de los errores producidos por la propagación de un único atlas.

Primero se registra el conjunto de atlas de manera independiente y luego se combinan las distintas segmentaciones obtenidas, al proceso de combinación se le conoce como *fusión de etiquetas*.

Al igual que pasaba anteriormente, la segmentación multi-atlas no esta exenta de problemas:

- El coste computacional crece linealmente con el número de atlas.
- El uso de una gran variedad de atlas implica que algunos puedan no ser apropiados para registrarse a la imagen objetivo.

Diversos estudios han demostrado que la precisión en la segmentación aumenta con el número de atlas inicialmente de manera muy rápida pero después pasa a crecer de una forma más lenta por lo que no es conveniente utilizar un exceso de atlas ya que aumentaría el coste computacional sin que aumente notablemente la precisión en la segmentación. El número de atlas a partir del cual se produce el cambio en el crecimiento definirá el número máximo de atlas a combinar.

Por lo general se suelen utilizar atlas que presenten similitud de intensidad con la imagen objetivo o atlas de pacientes que compartan edad, enfermedad o antecedente clínicos con el sujeto de estudio. Estas medidas permitirán eliminar en cierto modos los problemas anteriormente planteados.

## 2.5. Neuromelanin Imaging and Dopaminergic Loss in Parkinson' disease [8]

La enfermedad del Parkinson está caracterizada por la pérdida de neuromelanina (NM) contenida en las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra, con la consiguiente reducción de la concentración de dopamina en el putamen y el núcleo caudado, así como la deposición de hierro en toda la SN. Las neuronas que contienen NM del locus coeruleus también degeneran de manera temprana en el transcurso de la enfermedad.

El diagnóstico clínico de la enfermedad tiene lugar cuando el paciente presenta signos motores. Para este momento se puede haber producido la destrucción del 60 % de las neuronas en la sustancia nigra. Por tanto, identificar individuos en la fase preclínica de la enfermedad es un paso fundamental para detectar los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad y consecutivamente desarrollar estrategias para retrasar el inicio de la enfermedad.

Las técnicas MRI sensibles a la neuromelanina y hierro suministran información sobre la degeneración que se produce en la SN, lo que las convierte en marcadores potenciales de la enfermedad. Las estructuras que contienen NM pueden ser identificadas a través de scans obtenidos mediante una secuencia ponderada en T1 con

pulsos de preparación de transferencia de magnetización (Magnetization Transfer, MT) para mejorar la observación del contraste de la NM. En estas imágenes, las estructuras que contienen NM pueden ser identificadas como áreas hiperintensas. Por otro lado, el incremento en la concentración de hierro en la SN se puede observar mediante las imágenes basadas en la tasa de relajación transversal aparente  $R2^*$  y aprovechando la influencia en la susceptibilidad magnética de los tejidos que tienen las propiedades magnéticas del hierro. Esta última característica es reflejada mediante las imágenes QSM.

El objetivo de este estudio es investigar la correlación entre marcadores de MRI (T1 NM,  $R2^*$ , QSM) de la SN y el LC en pacientes con EP, y la correspondiente pérdida de innervación dopaminérgica medida mediante imágenes SPECT.

### Análisis de imágenes T1 NM

Como medida de la presencia de NM, se estimó el volumen de la SN y del LC medido a partir de imágenes T1-NM.

#### ■ Sustancia Nigra (SN)

El método para segmentar la SN es similar al seguido en estudios previos y será llevado a cabo por un segmentador desconocedor del estado clínico de los sujetos. Se resume en los siguientes pasos:

1. Definir regiones circulares de 4mm de diámetro en los pedúnculos cerebrales izquierdo y derecho para 4 slices consecutivos, en los que la SN sea visible. Estas regiones recibirán el nombre de ROIs de background o ROIs de referencia.
2. Definición para cada slice de un mapa binario formado por los voxels de la región mesoencefálica con intensidad de señal superior a  $MN_{CC} + 3 * SD_{CC}$  donde  $MN_{CC}$  y  $SD_{CC}$  son la media y la desviación estándar de la intensidad de señal de la denominada ROI de background.
3. Definir las ROIs de la SN dentro del mapa binario.

El volumen de la SN fue calculado como el número total de voxels en la SN segmentada, multiplicado por la dimensión de voxel.

La relación contraste-ruido (CNR) entre la SN y el pedúnculo cerebral fue calculada para cada slice y lado de la SN de la siguiente manera:

$$CNR_{SN} = \frac{(MN_{SN} - MN_{CC})}{SD_{CC}} \quad (2.1)$$

donde  $MN_{SN}$  y  $MN_{CC}$  corresponden al valor medio de señal de la SN y de la ROI de background, respectivamente, y  $SD_{CC}$  corresponde con la desviación estándar de la ROI de background. Posteriormente se calculó el CNR promedio de la SN de los cuatro slices.

Debido a que los resultados del procedimiento anterior pueden depender de la posición de las ROIs de background, el proceso de delineación de la ROI y, cálculo de volúmenes y valores de CNR fue repetido cuatro veces, para finalmente calcular la media y la desviación estándar entre las cuatro medidas.

### ■ Locus Coeruleus (LC)

Como el área de sección transversal del LC está cerca, o posiblemente por debajo del límite de resolución que pueden alcanzar los escáners utilizados por los autores, no se considera la volumetría del LC como fiable. Por este motivo la evaluación del LC se limita a su contraste con respecto al tejido de alrededor. A continuación se describirá el método seguido para definir la intensidad de señal en el LC:

1. Para cada lado, la localización del LC fue tomada como la intensidad más alta adyacente al cuarto ventrículo en dicho lado ( $LC_{MAX}$ ).
2. La intensidad de señal en el LC fue tomada como la intensidad del  $LC_{MAX}$  y sus cuatro voxels colindantes en el plano imagen. Esto fue repetido para cada uno de los tres slices consecutivos.

Las ROIs de background se definieron como círculos de 6mm de diámetro posicionados en el pontine tegmentum a lo largo de los slices en los que el LC fue identificado.

La CNR entre el LC y la ROI de background fue calculada de una forma análoga a la del cálculo para la SN.

Finalmente, para permitir comparaciones directas entre el  $CNR_{SN}$  y  $CNR_{LC}$ , las medidas fueron normalizadas con el correspondiente valor medio del grupo HC para representar un porcentaje de diferencia respecto al valor normal ( $\%CNR_{SN}$  y  $\%CNR_{LC}$ , respectivamente).

### Imágenes sensibles al hierro

Las ROIs de la SN bilateral fueron delineadas manualmente por un segmentador desconocedor de la situación clínica de cada paciente. La delineación se llevo a cabo en las imágenes T2\*, y luego se aplico a las R2\* y a las QSM. La SN izquierda y derecha fue definida como la región hipointensa entre el núcleo rojo y el pedúnculo cerebral en 6 slices. En casos en los que la SN fuera visible en más de 6 slices, se seleccionaron los 6 slices centrales en los que la SN presentaba el área más grande, comenzando ya sea en el slice en el que se observó el radio más grande en el núcleo rojo, o un slice por debajo para así minimizar la probabilidad de incluir el núcleo subtalámico. Las ROIs fueron utilizadas para muestrear los valores R2\* y QSM de la SN. El procedimiento fue repetido dos veces, y se calculo el promedio de las dos medidas.

### Discusión

Las imágenes T1 NM ha proporcionado un contraste notable entre las estructuras que contienen NM y el tejido cerebral de los alrededores, convirtiéndolo en un candidato potencial a biomarcador de la enfermedad. Varios estudios con imágenes T1 NM han mostrado una reducción significativa en medidas de contraste de NM y en el volumen de la SN y el LC en pacientes con PD en comparación con controles sanos. Esto sugiere que el contraste relacionado con la NM en las imágenes T1 NM refleja una pérdida de neuronas que contienen NM.

En este estudio se investigó la correlación entre los marcadores de MRI de la SN y del LC, y la correspondiente pérdida de inervación dopaminérgica nigro-striatal reflejada mediante SPECT en pacientes con la EP. Se observó que el volumen de la SN estaba altamente correlado con los valores de recaptura de dopamina estriatal del transportador de dopamina. También de relevancia, se observó, tanto en las medidas de T1 NM, como en los hallazgos SPECT, una correlación con la severidad de los distintos signos motores de la EP.

Los resultados observados en este artículo, apoyan la capacidad de las imágenes T1 NM para diferenciar pacientes con EP de sujetos control sanos. De acuerdo con estudios previos con imágenes T1 NM, los pacientes con la EP muestran una reducción significativa en el contraste y volumen (especialmente el contralateral al lado clínicamente más afectado) de la SN. El análisis de la curva ROC con este marcador proporciona una precisión de diagnóstico del 86 % con una buena sensibilidad (89 %) y especificidad (83 %).

En cuanto al LC, debido a la dificultad de distinguir esta estructura de la región sub-coeruleus por su posición y tamaño, y a las limitaciones técnicas del escáner utilizado para adquirir las imágenes, el autor considera que los métodos de adquisición de imagen y análisis para esta estructura son insatisfactorios.

El proceso de acumulación de hierro en la SN de pacientes con la EP tampoco está totalmente entendido. La concentración de hierro en la SNr y la SNc medida con métodos de precisión espectroscópica han mostrado que la concentración en estas regiones aumenta con la severidad de la enfermedad. Este alto contenido en hierro en la SN la convierte en una región susceptible a la neurodegeneración. Sin embargo, al igual que varios reportes han descrito un incremento de la concentración de hierro en la SN en pacientes con la EP, en este estudio y al igual que en otros, no se han encontrado diferencias en la concentración de hierro entre enfermos y controles. A través de los estudios de MRI disponibles se ha informado de un intervalo bastante grande de concentración de hierro. Estas observaciones conducen a sospechar que las diferencias en las características del paciente y la técnica de medición pueden ser responsables de la inconsistencia de los resultados obtenidos con imágenes MRI susceptibles a los niveles de hierro. Ésto hace necesario una mejor estandarización de la técnica para superar las limitaciones de la MRI con el objetivo de tener un papel como biomarcador de la EP.

## 2.6. Automated Neuromelanin Imaging as a Diagnostic Biomarker for Parkinson's Disease [2]

La enfermedad del Parkinson es un desorden neurodegenerativo caracterizado por la bradicinesia asimétrica, temblor en reposo y rigidez. La pérdida de las neuronas que contienen neuromelanina en la SNc y LC es característica en fases de Parkinson temprano. Por lo tanto, la identificación *in vivo* de la degeneración de la SNc y el LC observada mediante imágenes T1 NM puede ayudar en el diagnóstico de la EP.

La segmentación manual precisa de los núcleos del tronco encefálico es realmen-

te difícil debido a sus características morfológicas irregulares. La segmentación de imágenes basada en atlas es un enfoque prometedor dado que da cuenta de la variabilidad intersujeto para obtener segmentaciones fiables. En este trabajo las regiones pigmentadas con NM fueron automáticamente delineadas utilizando un conjunto de atlas de referencia compuesto por 13 imágenes T1 NM segmentadas manualmente.

Reportes neuropatológicos de pacientes con mutaciones LRRK2 y PARKIN (parkinsonismos monogénicos, EP<sub>m</sub>) muestran una marcada pérdida neuronal en la SNc y el LC al igual que se observa en el parkinsonismo idiopático (EP<sub>i</sub>). La precisión de diagnóstico de la EP es muy variable, por lo que el examen post-mortem continua siendo el estándar de oro para confirmar el diagnóstico de la EP.

El objetivo de este trabajo es analizar la precisión de diagnóstico al diferenciar entre sujetos sanos de pacientes con la EP portadores de los genes más comunes en la población (LRRK2 y PARKIN) de un método automático para la segmentación y cuantificación del volumen de la SNc y el LC.

Los resultados del estudio mostraron que el grado de atrofia en la SNc, medido utilizando una técnica de cuantificación totalmente automática basada en las imágenes T1 NM, y especialmente el volumen de SNc contralateral al lado más afectado clínicamente, tenía un alto poder discriminativo para diferenciar sujetos sanos de pacientes con EP. Esto sugiere que esta medida tiene potencial utilidad para el diagnóstico en la configuración clínica, así como para estudios futuros que incluyen tanto formas idiopáticas como monogénicas de la EP.

Un estudio previo concluyó que la cuantificación de voxels hiperintensos reflejaba mejor el contenido pigmentado y que se trataba de un método más sensible. Además, debido a la naturaleza asimétrica de la EP y las características morfológicas irregulares *in vivo* de estas regiones, se modificaron los métodos propuestos previamente mejorando la cuantificación de voxels hiperintensos mediante el cálculo de un umbral óptimo y el uso de un método automático.

La precisión de diagnóstico del lado ipsilateral de la SNc fue similar a la de estudios previos utilizando métodos de segmentación manuales o semiautomáticos, pero el volumen contralateral mostró un mayor poder para discriminar pacientes con EP y sujetos control. Sin embargo, diferencias en los parámetros de adquisición de las imágenes, procesamiento de imágenes, métodos de selección de ROIs y las características clínicas de los pacientes dificultan la comparación cuantitativa de los estudios basadas en imágenes T1 NM. También se encontró que la cuantificación del volumen del LC podría tener un pequeño valor agregado en la capacidad discriminativa de las medidas, lo que agrega nueva información a los hallazgos establecidos en trabajos previos.

## 2.7. In Vivo Assessment of Brainstem Depigmentation in Parkinson Disease. Potential as a Severity Marker for Multicenter Studies [27]

La enfermedad del Parkinson se caracteriza por un agotamiento de las neuronas catecolaminérgicas en los núcleos de materia gris del tronco encefálico, como la sustancia nigra pars compacta, el área tegmental ventral (VTA) y el locus coeruleus. Anatómicamente, estos núcleos se pueden apreciar fácilmente desde un punto de vista macroscópico debido a un pigmento acumulado dentro de sus células llamado neuromelanina. Esta sustancia se deposita en las células de una manera progresiva con la edad y en gran parte de ocasiones está ausente en el momento del nacimiento. Existe una disminución patológica, inducida por la EP, de las neuronas del SNc, VTA y LC que contienen neuromelanina, lo que produce una pronunciada depigmentación. Aunque la totalidad de la SNc está involucrada en la neurodegeneración inducida por la EP, la pérdida de células dopaminérgicas no es uniforme en todas las subregiones. Un área previamente descrita como sustancia nigra ventrolateral se ve afectada de forma preferencial y más extensa. El grado de pérdida neuronal en la SNc se correlaciona con la gravedad de la EP, lo que confirma el potencial de las imágenes de SNc como marcadores de la progresión de la enfermedad.

Debido a las posibilidades mencionadas anteriormente, se han desarrollado secuencias de resonancia magnética ponderadas en T1 sensibles a la neuromelanina para identificar y caracterizar la SN y LC *in vivo* y demostrar la pérdida de intensidad de señal inducida por la EP. Además, estudios previos indican que la pérdida de intensidad de señal en la SNc relacionada con la neuromelanina es un marcador potencial de la progresión de la enfermedad. Sin embargo, hasta que punto las imágenes T1 NM son capaces de reflejar la progresión de la enfermedad y que subregiones son las más adecuadas para indicar la gravedad de la enfermedad es aún desconocido.

Si las imágenes T1 NM se van a utilizar clínicamente o en ensayo multicéntricos es imperativo poder comparar resultados independientemente de las diferentes plataformas y secuencias utilizadas en la adquisición de las imágenes. Es por ello, que además de estudiar la depigmentación regional de los núcleos del tronco encefálico mediante imágenes T1 NM, el principal objetivo de este estudio es investigar si las variaciones de intensidad de señal dependientes de la imagen y la plataforma se pueden normalizar.

### Método de normalización

Las imágenes fueron tomadas con dos máquinas de resonancia magnética de 3T y utilizando tres secuencias diferentes, lo que dio lugar a tres grupos de imágenes distintas.

Para delimitar el volumen hiperintenso de las estructuras en las imágenes T1 NM se recurrirá a la modificación de un método de segmentación basado en umbral previamente propuesto. El valor de barrera se obtendrá por medio de la siguiente expresión:

$$THR = MEAN_{BG} + 3 * SD_{BG} \quad (2.2)$$

donde  $MEAN_{BG}$  es la intensidad de señal de fondo media y  $SD_{BG}$  es el ruido de fondo representado por medio de la desviación estándar de la intensidad de señal de fondo. Las ROIs de background fueron seleccionadas como el tronco encefálico y el pedúnculo cerebral para la SNc y VTA, respectivamente, y el puente troncoencefálico para el LC.

Los volúmenes obtenidos mediante la umbralización se evaluaron en tres secciones adyacentes en toda la SNc, VTA y LC. Además, la SNc fue dividida en mitad posterior y anterior mediante ROIs delineadas manualmente.

La estandarización de los volúmenes se basó en la coincidencia con los valores de volumen de la SNc en sujetos sanos obtenidos en un estudio *post mortem* reciente. El volumen total medio de SN (bilateral) en el estudio *post mortem* se informó como  $187,8mm^3 \pm 34,1$ . La sustancia nigra consiste en aproximadamente un 68% de neuronas pigmentadas, lo que permitió estimar un volumen de sustancia nigra pigmentada “normal” de  $127,7mm^3 \pm 23,1$ .

El grupo cuyo volumen en los sujetos control (obtenido utilizando el método de cálculo de umbral enunciado anteriormente) se ajustó mejor a los resultados mostrados en los estudios *post mortem* presentó unos valores de  $106,9mm^3 \pm 47$ , de modo que se considerará a este como el protocolo de referencia. Los volúmenes de intensidad de señal supra-umbral en las otras dos secuencias se investigaron variando el valor del multiplicador en un rango de uno a cinco veces la SD. El multiplicador elegido para cada secuencia será aquel que mejor ajuste el volumen medio de su respectivo grupo de controles al obtenido con el protocolo de referencia. Esto permitió establecer volúmenes de neuromelanina normalizados. Para examinar la precisión de la T1 NM como prueba diagnóstica para diferenciar entre pacientes con EP y sujetos control, se realizó un análisis de la curva ROC para los volúmenes de neuromelanina subregional antes y después de ser normalizado.

El proceso de normalización mejoró significativamente los resultados obtenidos en el análisis de la curva ROC de los marcadores. El área bajo la curva (AUC) para los volúmenes de la SNc posterior y completa normalizados, demostraron la mejor distinción entre pacientes con EP y sujetos control.

Este estudio confirma que las imágenes T1 NM son sensibles a la despigmentación del tronco encefálico inducida por la EP, siendo preferencial la pérdida en la SNc posterior, seguida de la SNc anterior y el LC. Se observó una correlación significativa del volumen de la SNc anterior y posterior con la gravedad de la enfermedad, pero no ocurrió lo mismo en el caso del LC. La correlación existente convierte a la volumetría de la SNc en un potencial marcador de progresión, pero se necesitarían estudios longitudinales con grandes grupos de pacientes para corroborar su validez. El método de normalización del volumen propuesto en este artículo permite la corrección de las variaciones presentes en las imágenes debidas a sus distintos métodos de adquisición, favoreciendo el desarrollo de estudios multicentro.



## Capítulo 3

# MATERIALES

### 3.1. Herramientas Software

#### 3.1.1. ANTs

Advanced Normalization Tools (ANTs) permite gestionar, interpretar y visualizar datos multidimensionales. Es considerado un kit de herramientas de segmentación y registro de imágenes médicas. Además, permite llevar a cabo el análisis de imágenes multimodales.

ANTs depende del Insight ToolKit (ITK), una biblioteca de procesamiento de imágenes médicas ampliamente utilizada a la que contribuyen los desarrolladores de ANTs.

#### Instalación y configuración

La instalación en Linux de este software se realizará completamente a través del terminal.

Previamente a llevar a cabo la instalación es necesario descargar los programas git, cmake y la descarga de un compilador de C++. Se realizará escribiendo las siguientes líneas en el terminal:

- Para descargar git: *sudo apt-get install git*
- Para descargar cmake: *sudo apt-get install cmake*
- Para descargar cmake: *sudo apt-get install cmake-curses-gui*
- Para descargar el compilador: *sudo apt-get install g++*

Además de estos programas será necesario instalar la librería *zlib* para poder utilizar el programa cmake (*sudo apt-get install zlib1g-dev*).

Una vez realizados los pasos previos se procederá a la descarga del software ANTs. Para ello habrá que dirigirse a la dirección <http://stnava.github.io/ANTs/>. Dentro de esta página habrá que seleccionar la pestaña *View on GitHub* y dentro de ésta

*Clone or Download* para así obtener la dirección del repositorio en la que se encuentran los archivos para realizar la descarga de la última versión disponible de ANTs. Para bajar dichos archivos habrá que hacer *git clone <dirección del repositorio>* dentro de la carpeta en la que se desea que se guarden los archivos para la descarga.

A continuación se debe crear la carpeta en la cual se llevará a cabo la instalación del programa, siendo recomendable crearla dentro de */bin* con el nombre de *ANTs*. El paso siguiente será ejecutar *sudo cmake /<carpeta en la que se guardaron los archivos de descarga>/ANTs*. Se abrirá una ventana para configurar la instalación donde habrá que pulsar la tecla *c* para realizar una configuración inicial y posteriormente *c* de nuevo y *g*.

Por último se tecleará *make* en la línea de comandos para realizar la compilación de los archivos generados en el paso anterior. La instalación se realizará en dos pasos instalándose primero el software ITK y seguidamente ANTs.

Para poder utilizar las funciones de ANTs desde el terminal será necesario modificar la variable de entorno *PATH*, dentro de un fichero de tipo *shell* (i.e *bash.rc*), añadiendo a ésta la ruta en la que se encuentra el archivo *bin* del programa:

```
export PATH=$PATH:/<ruta hasta la carpeta ANTs>/bin
```

### 3.1.2. FSL

FMRIB Software Library (FSL) es una biblioteca de herramientas que permite llevar a cabo el análisis de datos de imágenes cerebrales de resonancia magnética. Este software está disponible tanto para Linux, Mac OS y Windows.

## Instalación y configuración

A continuación se expondrán los pasos necesarios para realizar la instalación y configuración para poder utilizar FSL desde la terminal de Linux.

La descarga se realizará desde la página web *https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsldownloads\_registration*. Previamente será necesario realizar una serie de pasos como mostrar el acuerdo con los términos de la licencia del software y especificar el servidor desde el que se llevará a cabo la descarga.

Una vez finalizados estos pasos se abrirá una nueva pestaña del navegador donde aparecerá la opción de descargar la versión más actual de FSL. Se descarga el script para llevar a cabo la instalación: *fslinstaller.py*. El siguiente paso será abrir un terminal y navegar hasta el directorio donde se encuentre este script. La ejecución del script debe hacerse como usuario root por lo que irá precedido de *sudo*: *sudo python fslinstaller.py*. Será necesario especificar la carpeta en la que se llevará a cabo la instalación de FSL y en la que posteriormente se encontrarán todos los archivos del programa (es recomendable seleccionar la opción por defecto).

Una vez realizada la instalación se procede a configurar el *shell* para poder utilizar las funciones del programa desde la terminal. Para ello bastará con editar el archivo *.bashrc* localizado en */home/<usuario>/bashrc* introduciendo las siguientes líneas al final del archivo:

```
FSLDIR=/usr/local/fsl
. $FSLDIR/etc/fslconf/fsl.sh
PATH=$FSLDIR/bin:$PATH
export FSLDIR PATH
```

Una buena forma de comprobar si este paso se realizado correctamente es escribir en el terminal de Linux una función de FSL. Si la configuración se ha realizado correctamente aparecerá en la terminal la descripción de la función escrita así como información para su utilización.

### 3.1.3. FREESURFER

FreeSurfer es un paquete de software que proporcina una amplia variedad de algoritmos para el análisis y la visualización de datos de neuroimágenes estructurales y funcionales a partir de estudios transversales o longitudinales. Está disponible gratuitamente y es de código abierto. Se ejecuta en una amplia variedad de plataformas hardware y software.

## Instalación y configuración

La descarga e instalación de este paquete es más sencilla que para el caso de los softwares anteriores. La descarga se realizará desde la página <https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/DownloadAndInstall#Download>. Una vez dentro de la página se seleccionará el sistema operativo para el que se quiere realizar la descarga del paquete. Los pasos posteriores describirán la instalación para el caso de que el sistema operativo deseado sea Linux.

Una vez finalizada la descarga, se procederá a descomprimir la carpeta para posteriormente poder utilizar los scripts de matlab y funciones que contiene el paquete. Se trata de un proceso muy sencillo que se puede realizar de forma manual seleccionando la carpeta en la que se quieren extraer los archivos o desde la terminal de Linux mediante el mandato *tar*. Para utilizar esta última opción habrá que moverse hasta la carpeta dónde se quiere extraer los archivos y escribir la siguiente línea: *tar xzvf <ruta en la que se encuentra la carpeta descargada>/<nombre de la carpeta descargada>*.

### 3.1.4. ITK SNAP

ITK-SNAP es una aplicación software utilizada para segmentar estructuras anatómicas en imágenes médicas 3D. Este programa ofrece la posibilidad de delinear estructuras en los tres planos ortogonales al mismo tiempo. La segmentación puede llevarse a cabo de manera manual o recurrir a un método semiautomático basado en con-

tornos activos.

De entre todos los softwares disponibles para la segmentación de imágenes se seleccionó ITK-SNAP debido a los extensos tutoriales existentes para aprender a utilizar la aplicación. Además, este software permite ajustar fácilmente el contraste de la imagen en base al histograma de la misma, lo que facilita el proceso de segmentación manual.

### Instalación y configuración

Los pasos descritos a continuación para la instalación de este programa serán válidos para el sistema operativo Windows 8.1.

La descarga del programa se realizará desde la página <http://www.itksnap.org/pmwiki/pmwiki.php?n=Downloads.SNAP3>. En esta página se seleccionará el sistema operativo en el que se realizará la instalación del programa. Tras rellenar un formulario con el objetivo de mejorar ITK-SNAP, se accederá a un link que dará acceso a una página en la que se iniciará la descarga. El proceso de instalación será guiado por medio del asistente de Windows, por lo que no presentará ninguna dificultad adicional con respecto a otros programas de uso común.

Por último cabe destacar que la versión más actualizada de ITK-SNAP (itksnap 3.6.0, a fecha de realización de este trabajo) no es compatible con versiones de Windows anteriores a la 8.1. En caso de que se trate de instalar en una versión antigua, no presentará ningún problema durante el proceso de instalación pero una vez instalado no se podrán cargar las imágenes en el programa. Por tanto, para estos casos se recomienda instalar una versión más antigua de ITK-SNAP.

## 3.2. Datos Empleados

Las imágenes utilizadas en este trabajo se han obtenido directamente del Centro Integral de Neurociencias HM Cinac. De cada uno de los sujetos se utilizarán tres tipos de imágenes distintas: T1 WHOLE BRAIN, T2 SLAB y T1 SLAB de NEUROMELANINA. Los datos de los pacientes que forman la base de trabajo se encuentran reflejados en la siguiente tabla:

ID	DIAG	EDAD	GÉNERO (0-F,1-V)	ONSET SIDE (0-R,1-L,2-Sym,9-HC)
soma01	EP	66	0	0
soma11	EP	52	0	1
soma13	EP	44	1	0
soma15	EP	51	0	1
soma19	EP	64	0	0
soma20	EP	42	0	0
soma22	EP	38	0	0
soma25	EP	46	1	1
soma26	HC	42	0	9
soma27	EP	45	1	1
soma28	EP	47	1	0
soma29	HC	47	0	9
soma31	HC	48	1	9
soma32	HC	43	0	9
soma33	EP	71	1	0
soma35	HC	49	1	9
soma36	EP	58	0	0
soma38	HC	41	0	9
soma39	EP	60	0	0
soma40	EP	62	1	0
soma43	EP	66	1	1
soma44	EP	69	0	1
soma45	EP	49	1	0
soma46	EP	62	1	0
soma48	EP	59	1	2
soma51	HC	64	1	9
soma52	HC	62	1	9
soma53	EP	66	1	0
soma54	HC	55	1	9
soma63	EP	60	0	1

Tabla 3.1: Datos demográficos de los pacientes involucrados en el estudio

Como se puede observar en la tabla, la base de datos estará formada por 9 sujetos control sanos, de los cuales 4 serán mujeres y 5 hombres, y 21 pacientes con la enfermedad del Parkinson, de los cuales 10 serán mujeres y 11 hombres. La edad de las mujeres que forman el estudio será de  $54.26 \text{ años} \pm 9.69$  en caso de pacientes con la enfermedad y de  $49.1 \text{ años} \pm 9.06$  en el caso de sujetos control. En el caso de los hombres, la edad será de  $53.65 \text{ años} \pm 10.07$  en el caso de pacientes con la enfermedad y  $57.88 \text{ años} \pm 8.98$  en el caso de sujetos control.

Se utilizará este apartado para dejar claro que los estudios realizados a partir de imágenes T1 NM estarán formados por una base de datos de 24 sujetos (8 HC y 16 EP) y los realizados a partir de imágenes T2 por una base de 30 (9 HC y 21 EP).



## Capítulo 4

# MÉTODOS EMPLEADOS

En este capítulo se describirá la metodología seguida para obtener marcadores potenciales de la enfermedad del Parkinson desde imágenes ponderadas en T2 e imágenes ponderadas en T1 sensibles a la neuromelanina. La validez de estos marcadores como biomarcador diferencial entre sujetos control sanos y pacientes con la EP será evaluada en el siguiente capítulo.

El procedimiento a seguir será similar en ambos grupos de imágenes. Primero se buscarán los posibles marcadores siguiendo la bibliografía especializada y utilizando métodos de segmentación manual. Posteriormente, para aquellos marcadores que presenten poder discriminativo entre pacientes con la EP y sujetos control sanos, se tratará de automatizar su obtención.

Como se observará a lo largo del capítulo, la totalidad de los biomarcadores obtenidos están basados en la sustancia nigra. Ésto se debe a que son múltiples los artículos en los que se ha reportado su deterioro en fases tempranas de la enfermedad.

En esta sección se llevará a cabo la explicación de todos y cada uno de los pasos realizados para obtener los marcadores, así como los pasos para llevar a cabo su obtención de manera automática. La escritura de esta sección seguirá, en su mayor parte, la estructura expuesta a continuación:

1. Explicación teórica del método llevado a cabo.
2. Descripción breve del código desarrollado para llevar a cabo el método anteriormente explicado. En esta parte se utilizará pseudocódigo para recoger la funcionalidad de los subprocesos que realizan los scripts elaborados.
3. Descripción detallada del código desarrollado para llevar a cabo el método anteriormente explicado. En esta parte se explicarán detalladamente las líneas de código que componen el script elaborado para implementar el método. En los casos que sea posible, y si se considera que facilita el entendimiento del lector, se incluirá una foto del resultado de la línea explicada.

Esta estructura de documentación se seguirá en todos los métodos realizados a excepción de los procedimientos de segmentación manual, ya que no se ha realizado ningún script para su obtención, y en la descripción de los métodos de fusión de etiquetas. Estos últimos al no ser código propio, no se realizarán los puntos 2 y 3,

pero si el punto 1 para tratar de que el lector comprenda los métodos utilizados (aunque se recomienda, en caso de dudas, acudir a los documentos originales).

## 4.1. Pre-Procesamiento de imágenes MRI

El pre-procesamiento de las imágenes tiene como objetivo mejorar la calidad de las mismas para obtener resultados más fiables y precisos en cualquier tipo de tratamiento posterior que se le aplique. La labor de procesamiento variará en función del tipo de imagen a tratar. Sin embargo, todas ellas requieren ser transformadas del formato de adquisición a otro con el que puedan trabajar las herramientas software. Las imágenes obtenidas desde las máquinas de resonancia magnética se encuentran en formato DICOM. Se realizará su transformación al formato NIfTI ya que éste es aceptado por los programas que serán utilizados en este trabajo. Con dicho formato toda la información de la imagen (origen de coordenadas, tamaño de la imagen, tamaño de voxel...) se guardará en el llamado encabezado de la imagen. Esta información será utilizada para llevar a cabo diferentes operaciones.

En las siguientes páginas se describirán las fases de pre-procesamiento exclusivas para cada uno de los grupos de imágenes utilizados en este trabajo: T1 del cerebro completo, slab de T2 y slab de T1 ponderado en neuromelanina.

### 4.1.1. Imágenes T1 WHOLE BRAIN

Una vez convertida la imagen original al formato NIfTI, se procederá a eliminar la parte inferior del cuello de las imágenes cerebrales para así facilitar el posterior proceso de eliminación del cráneo y tejido no cerebral. El siguiente paso será corregir las diferencias de señal presentes en tejidos que deberían mostrar una intensidad cercana a la uniforme. Para ello se aplicará a las imágenes un algoritmo de corrección de sesgos. Por último, para eliminar por completo el ruido se recurrirá a la utilización de un filtro adaptativo<sup>1</sup> diseñado expresamente para el tratamiento de imágenes de resonancia magnética [3].

El pre-procesamiento de las imágenes T1 WHOLE BRAIN se describe brevemente en el siguiente pseudocódigo:

---

<sup>1</sup>Un filtro adaptativo es aquel cuyas características cambian de forma automatizada para obtener la mejor calidad de señal posible, incluso ante cambios en las condiciones de la señal. También se puede definir como un filtro en el que los parámetros de su función de transferencia son ajustados mediante un algoritmo de optimización.

**Algorithm 1** Procesamiento de imágenes T1 WHOLE BRAIN**Require:** Imágenes T1 WHOLE BRAIN en formato DCM**Ensure:** Imágenes T1 WHOLE BRAIN en formato nii pre-procesadas.

```

1: for  $i = 3$  hasta  $num.Suj$  do
2:   if nombre de la imagen a procesar coincide con uno de los asociados a los T1 WHOLE BRAIN then
3:      $DCM \rightarrow nii$  (dcm2nii) %generará tres archivos nii
4:     for  $j = 3$  hasta  $num.NII$  do
5:       if nombre de la imagen coincide con el de la imagen nii orientada en el espacio estándar then
6:         Eliminacion del craneo y tejido no cerebral (robustfov)
7:         Corrección de sesgos (N4BiasFieldCorrection)
8:         Eliminación del ruido de la imagen (f_denoise_T1)
9:       end if
10:    end for
11:  end if
12: end for

```

Los resultados obtenidos tras la aplicación de cada función se representa en el siguiente flowchart:

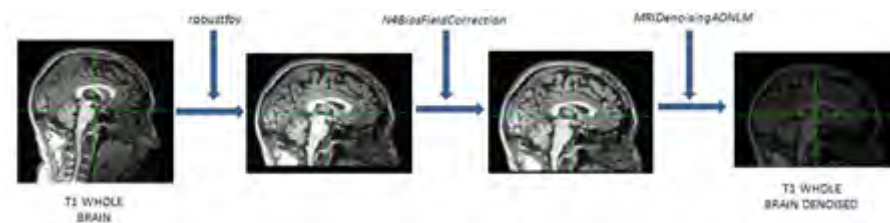


Figura 4.1: Pre-procesamiento de las imágenes T1 WHOLE BRAIN.

La descripción del proceso por medio de líneas de pseudocódigo y diagramas de flujo será útil para aquellos lectores que hayan trabajado anteriormente con las funciones tratadas. Debido a que éste puede no ser el caso general, se llevará a cabo una documentación paso a paso del script de la demo encargado de realizar este proceso: *dcm2nii.m*.

Previamente a describir las funciones utilizadas y los pasos que se realizan en el script, se llevará a cabo una breve explicación de lo que contendrán cada una de las carpetas que actuarán como entradas y salidas del script:

- **DCM:** Este directorio se encontrará dentro de la carpeta *data*. En el interior de esta carpeta habrá que colocar las imágenes en formato dcm que se convertirán al formato nii y se les realizará el pre-procesado.
- **Nii:** Dentro de esta carpeta se encontrarán los directorios de salida en los que se almacenarán las imágenes T1 al ser procesadas:
  - **T1:** Aquí se guardarán la imagen ponderadas en T1 del cerebro completo del paciente en formato nii.
  - **T1\_corrected:** En esta carpeta se guardarán la imágenes anteriores una vez realizado sobre ella todas las funciones de pre-procesamiento correspondientes.

## FUNCIONES

Las funciones que se utilizarán en este script son las siguientes:

1. *dcm2nii*: Función de MRICron que convierte las imágenes obtenidas de las máquinas de resonancia magnética (formato DCM) al formato NIfTI.
2. *robustfov*: Función de FSL que elimina la parte inferior del cuello presente en las imágenes cerebrales.
3. *N4BiasFieldCorrection*: Función de ANTs que aplica el algoritmo de corrección de sesgos. Se utiliza para corregir variaciones de señal en tejidos que deberían presentar una intensidad cercana a la uniforme.
4. *MRIread*: Función de freesurfer definida para Matlab. Convierte una imagen en una estructura tipo MRI.
5. *MRIdenoising*: Script que permite eliminar el ruido de las imágenes de resonancia magnética al mismo tiempo que se mantiene la integridad de la información relevante de la imagen. Llevará a cabo la utilización de [3].
6. *MRIwrite*: Función de freesurfer definida para Matlab. Realiza el paso contrario a la función *MRIread*. Convierte una estructura de tipo MRI en una imagen.

## DESCRIPCIÓN

El primer paso será realizar la conversión al formato .nii de las imágenes obtenidas desde las máquinas de resonancia magnética, para lo que se utilizará la función *dcm2nii*:

```
dcm2nii -o <dirOut> <dirIn>
```

- *dirOut*: Ruta de la carpeta en la que se guardará la imagen ya convertida al formato nii. Seguida de ésta se especificará la ruta en la que se encuentra la imagen en formato dcm (*dirIn*). Ésta se encontrará dentro de la carpeta *DCM* y a su vez dentro del Soma correspondiente.

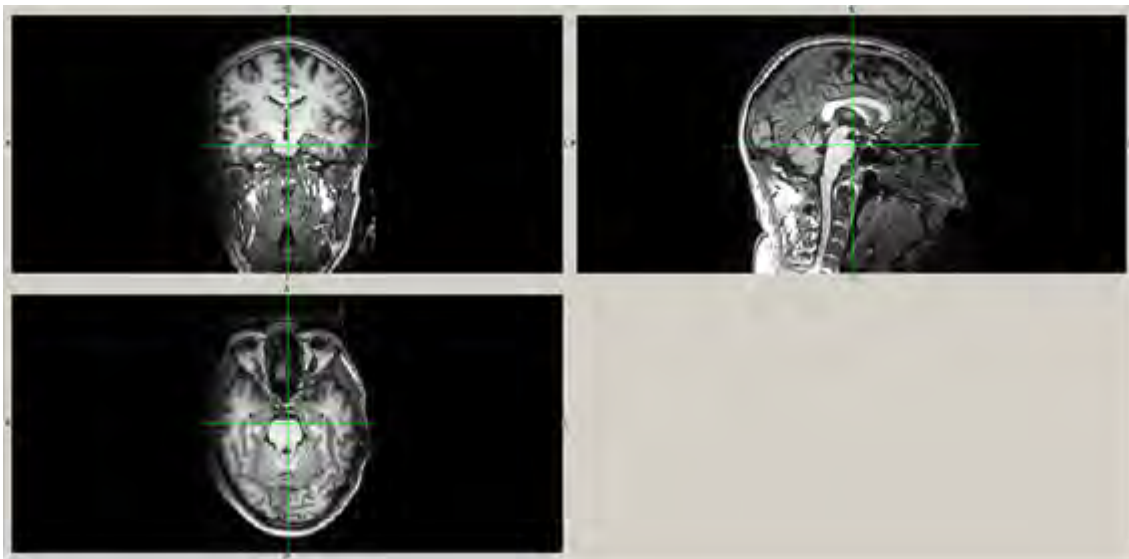


Figura 4.2: Imagen T1 WHOLE BRAIN en formato nii.

La aplicación de esta función genera en la carpeta *dirOut* tres archivos en formato nii. La diferencia entre los tres radica en que su orientación será distinta. De los tres archivos uno de ellos contiene las imágenes del paciente orientadas en el espacio estándar, y será ésta la que reciba el pre-procesamiento.

El primer paso del pre-procesamiento consistirá en aplicar la función *robustfov* para facilitar posibles procesos posteriores de eliminación del cráneo y tejido no cerebral:

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

- *orig*: Ruta en la que se encuentra la imagen de entrada, a la cual se desea aplicar el procesamiento.
- *dest*: Ruta en la que se encontrará el nuevo volumen obtenido tras aplicar la función.

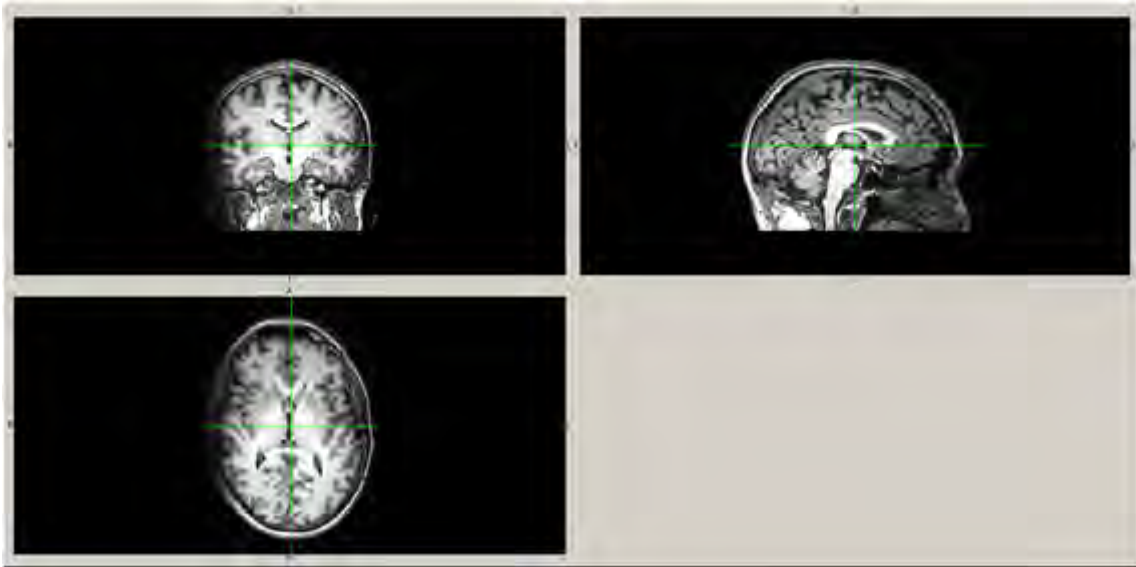


Figura 4.3: Imagen T1 WHOLE BRAIN tras la aplicación de la función *robustfov*

A continuación se procederá a aplicar el algoritmo de corrección de sesgos mediante la función *N4BiasFieldCorrection*:

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

- *n*: Dimensión de la imagen a tratar. Para el caso de las imágenes de resonancia magnética la dimensión es 3.
- *orig*: Ruta en la que se encuentra el archivo de la imagen de entrada.
- *dest*: Ruta en la que se guardará la imagen corregida.



Figura 4.4: Imagen T1 WHOLE BRAIN tras aplicar el algoritmo de corrección de sesgos

Como se puede observar en las imágenes mostradas anteriormente, el ruido no ha podido eliminarse por completo. Por esta razón se recurrirá al uso del paquete

*MRIDenoising* [3], el cual posee una amplia variedad de filtros. Para utilizar las funciones contenidas en este paquete, será necesario leer la imagen para así obtener la matriz tridimensional que contiene la intensidad de cada uno de sus voxels. La lectura de la imagen se realizará por medio de la función *MRIread*:

$$\langle \text{estructura} \rangle = \text{MRIread}(\langle \text{input} \rangle)$$

- *estructura*: Variable en la que se guarda la estructura tipo MRI que contiene la información de la imagen *input*.
- *input*: Ruta de la imagen a leer.

La matriz de intensidades se encontrará recogida en el campo *vol* de la estructura. Una vez obtenida la matriz, el siguiente paso será aplicarle filtro adaptativo para eliminar completamente el ruido. La función contenida en el paquete *MRIDenoising* que permite implementar un filtro adaptativo es la denominada como *MRIDenoisingAONLM*:

$$\langle \text{vol\_filtrado} \rangle = \text{MRIDenoisingAONLM}(\langle \text{vol} \rangle, \text{patchradius}, \text{searchradius}, \text{beta}, \text{rician}, \text{verbose})$$

- *vol\_filtrado*: Matriz 3D de intensidades de la imagen una vez aplicado el filtrado.
- *vol*: Matriz 3D de intensidades de la imagen antes de procesarla.
- Los parámetros escritos seguidos del volumen de entrada se obtienen del script *MainMRIDenoising.m* que viene integrado en el paquete.

Una vez finalizado el proceso de filtrado se sustituirá el campo *vol* de la estructura MRI de la imagen original por el obtenido una vez realizado el filtrado.

Por último se creará una imagen en formato nii con la nueva estructura MRI. Para realizar este paso se utilizará la función *MRIwrite*:

$$\text{MRIwrite}(\langle \text{Estructura\_filtrada} \rangle, \langle \text{out} \rangle)$$

- *Estructura\_filtrada*: Estructura tipo MRI que contiene el volumen filtrado.
- *out*: Ruta en la que se guardará la imagen procesada.

La imagen T1 resultante del pre-procesamiento será de la siguiente forma:

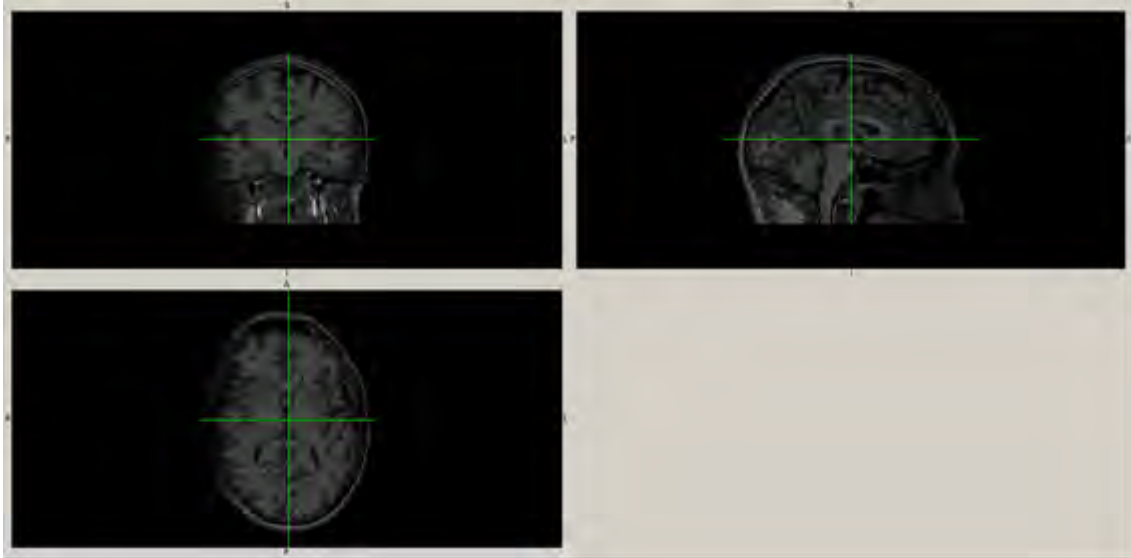


Figura 4.5: Imagen T1 WHOLE BRAIN pre-procesada.

#### 4.1.2. Imágenes T2 SLAB

El pre-procesamiento de estas imágenes consistirá en reorientar la imagen, obtenida tras la conversión al formato NIfTI, al espacio estándar, para facilitar posibles procesos de registro posteriores. Por último, se aplicará el algoritmo de corrección de sesgos y se dará por concluido el pre-procesamiento, ya que al no presentar una gran cantidad de ruido no se realizará ningún tratamiento adicional.

Las funciones que realizarán los pasos citados anteriormente, se describen brevemente en el siguiente pseudocódigo:

---

#### Algorithm 2 Procesamiento de imágenes T2 SLAB

---

**Require:** Imágenes T2 SLAB en formato DCM

**Ensure:** Imágenes T2 SLAB en formato nii pre-procesadas.

```

1: for  $i = 3$  hasta  $numSuj$  do
2:   if nombre de la imagen a procesar coincide con uno de los asociados a los T2 SLAB then
3:      $DCM \rightarrow nii$  (dcm2nii)
4:     Orientación de la imagen nii al espacio estándar (fslreorient2std)
5:     Corrección de sesgos (N4BiasFieldCorrection)
6:   end if
7: end for

```

---

Los resultados obtenidos tras la aplicación de cada función se representa en el siguiente flowchart:

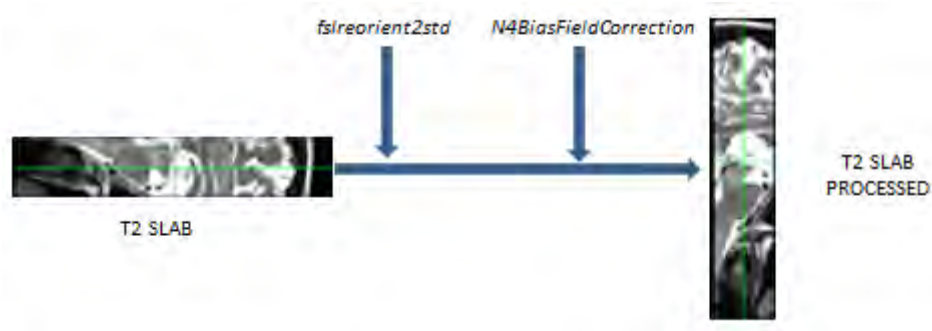


Figura 4.6: Pre-procesamiento de las imágenes T2 SLAB.

Al igual que se hizo en el caso de las imágenes ponderadas en T1, se procederá a describir paso a paso la labor de pre-procesado aplicada sobre las imágenes T2 SLAB. Siguiendo el esquema presentado en la sección anterior, primero se llevará a cabo la presentación de las carpetas que actuarán como entradas y salidas del script (*dcm2nii.m*) desarrollado para el procesamiento de imágenes T2 SLAB. En segundo lugar se describirán las funciones que han sido utilizadas en el código, dejando para el final la descripción paso a paso del script implementado.

Las imágenes T2 en formato dicom se encontrarán dentro de la carpeta DCM, al igual que en el caso anterior. Pero, a diferencia de éste, las imágenes T2 resultantes del pre-procesamiento se guardarán en un subdirectorio de la carpeta Nii distinto, denominado como *T2\_zoomed*.

## FUNCIONES

Algunas de las funciones utilizadas en el pre-procesamiento de las imágenes T2 SLAB ya han sido descritas en la documentación del trabajo sobre las imágenes T1 WHOLE BRAIN. Por esta razón únicamente se describirán aquellas funciones no documentadas anteriormente:

1. *fslreorient2std*: Función de FSL diseñada para reorientar una imagen al espacio estándar. Únicamente lleva a cabo rotaciones por lo que no debe confundirse con el proceso de registro.

## DESCRIPCIÓN

Al igual que para las imágenes anteriores, el primer paso será realizar la conversión de las imágenes T2 SLAB al formato nii por lo que se volverá a utilizar la función *dcm2nii*.

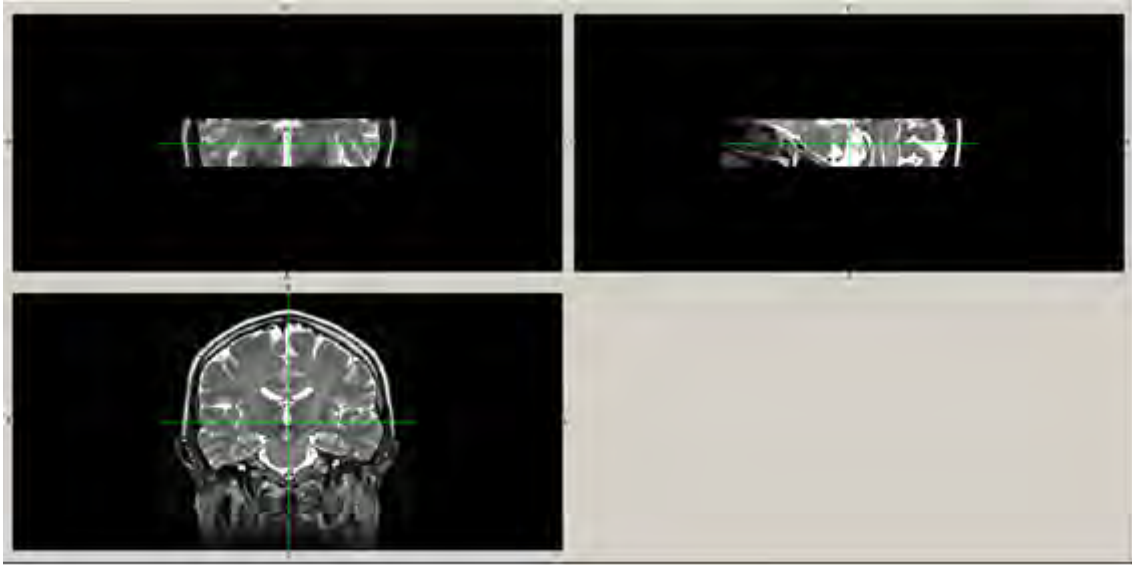


Figura 4.7: Imagen T2 SLAB en formato NIFTI.

En este caso la función únicamente devolverá una imagen, pero ésta no estará orientada en el espacio estándar. Se procederá a reorientarla mediante la función *fslreorient2std* con el objetivo de facilitar posibles procesos de registro que se le puedan aplicar a la imagen posteriormente:

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

- *orig*: Ruta en la que se encuentra la imagen a tratar.
- *out*: Ruta en la que se guardará la imagen reorientada.

Por último se aplicará la función *N4BiasFieldCorrection*, ya que las imágenes T2 SLAB no presentan una cantidad ruido que requiera algún tratamiento adicional.



Figura 4.8: Imagen T2 SLAB resultante del pre-procesamiento.

### 4.1.3. Imágenes T1 SLAB NMEL

Para este tipo de imágenes el tratamiento será similar al realizado sobre las imágenes T2 SLAB. La única diferencia será que en este caso no se aplicará el algoritmo de corrección de sesgos. Ésto se debe a que no se observa una notoria mejoría en la imagen al aplicar dicho algoritmo.

Las funciones que realizarán los pasos citados anteriormente, se describen brevemente en el siguiente pseudocódigo:

---

**Algorithm 3** Procesamiento de imágenes T1 NEUROMELANINA

---

**Require:** Imágenes T1 SLAB NMEL en formato DCM

**Ensure:** Imágenes T2 SLAB NMEL en formato nii pre-procesadas.

```

1: for  $i = 3$  hasta  $numSuj$  do
2:   if nombre de la imagen a procesar coincide con uno de los asociados a los T1 SLAB de
     NEUROMELANINA then
3:      $DCM \rightarrow nii$  (dcm2nii)
4:     Orientación de la imagen nii al espacio estándar (fslreorient2std)
5:   end if
6: end for

```

---

El preprocesamiento de estas imágenes utilizará funciones ya descritas en el trabajo con las imágenes T1 WHOLE BRAIN y T2 SLAB, por lo que no será necesario describirlo en detalle. La única modificación importante será la carpeta en la que se almacenarán las imágenes preprocesadas. Al igual que en los casos anteriores se encontrará dentro de la carpeta Nii, pero en este caso se denominará T1\_FSE\_nmel. A continuación se mostrará la imagen T1 NMEL SLAB resultante del preprocesamiento:

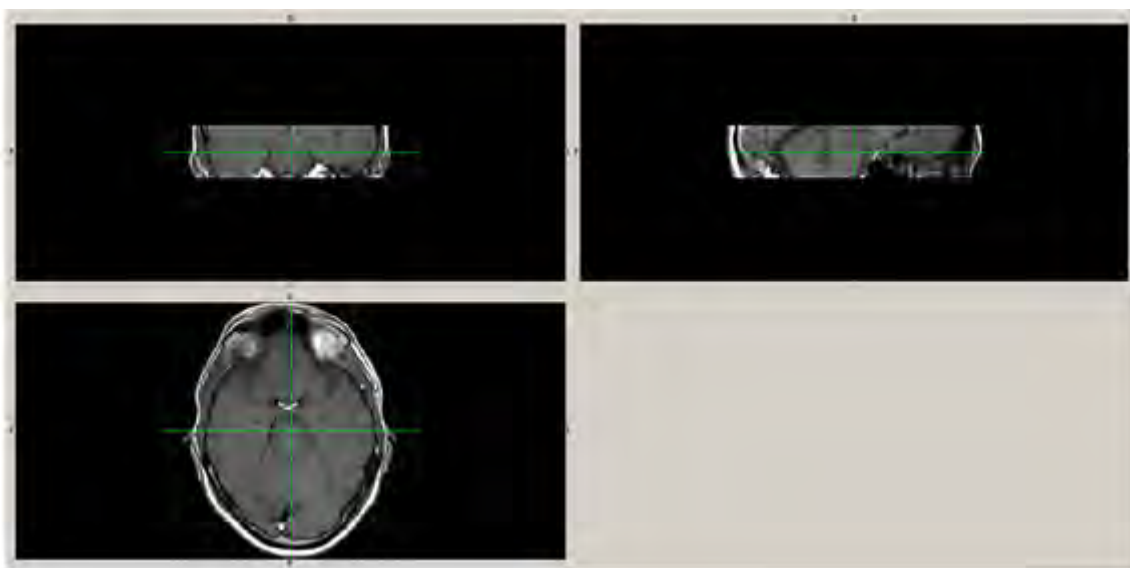


Figura 4.9: Imagen T1 NMEL SLAB resultante del pre-procesamiento.

## 4.2. Obtención de Marcadores desde imágenes ponderadas en T2

Una vez pre-procesadas, y a pesar de los resultados reportados por la bibliografía en lo referente al uso imágenes ponderadas en T2 dentro de trabajos relacionados con el Parkinson [5], se probará la validez del uso de estas imágenes para extraer biomarcadores diferenciales de la enfermedad.

Los marcadores buscados estarán basados en la sustancia nigra por su deterioro temprano en la enfermedad del Parkinson. La búsqueda se centrará en la existencia de posibles diferencias en volumetría e intensidad de señal en la SN entre sujetos control sanos y pacientes con la EP.

### 4.2.1. Volumetría de la Sustancia Nigra (SN) y del Subtálamo (STh)

Para llevar a cabo el cálculo de la volumetría de la sustancia nigra, primero será necesario realizar la delineación de la estructura. Para ello se recurrirá a un proceso de segmentación manual.

Debido a la cercanía entre la SN y el subtálamo en las imágenes T2 y, por tanto la necesidad de distinción de ambas, y a la relación de ésta última con el Parkinson reportada en [18], también se evaluará la volumetría del STh como posible biomarcador de la enfermedad. La segmentación manual de estas dos estructuras se puede realizar directamente en el espacio de obtención, conocido como espacio nativo o en un espacio definido como estándar denominado espacio MNI-152. La elección del espacio de segmentación atenderá a criterios de resolución de la imagen y en especial a la capacidad de diferenciación del segmentador.

Para evaluar la calidad de las segmentaciones manuales se utilizará el coeficiente DICE. Esta medida se empleará para evaluar la similitud morfológica entre las segmentaciones propiamente realizadas con otras obtenidas en un trabajo previo, y para medir el grado de contención de las segmentaciones propias dentro del mapa de la SN dado por [10].

Por tanto, en base a lo expuesto anteriormente, el cálculo de la volumetría de la SN y del STh se divide en cuatro pasos:

1. Registro de las imágenes al espacio estándar (en caso de que sea necesario).
2. Segmentación manual del STh y de la SN.
3. Evaluación de las segmentaciones manuales.
4. Cálculo del volumen del STh y de la SN.

En las siguientes páginas se describirá cada uno de estos pasos.

### Registro de imágenes al espacio estándar MNI-152

En esta sección se describirá el proceso de registro seguido para transformar las imágenes T2 SLAB del espacio nativo al espacio estándar MNI-152. Previamente

a realizar el registro será necesario eliminar el cráneo y tejido no cerebral de las imágenes T1 y T2. Este proceso se denomina skull-stripped, y será obligatorio, ya que la plantilla del espacio MNI-152 disponible está formada únicamente por tejido cerebral. El registro se llevará a cabo en base a la forma descrita en [10], aunque se realizarán algunas modificaciones. A continuación, se describirá la secuencia de registro de las imágenes T2 seguida en este trabajo:

- Transformación afín de imágenes T1 WHOLE BRAIN sobre el espacio MNI152.
  
- Registro, mediante transformación afín, de las imágenes T2 SLAB sobre la imagen ponderada en T1 en el espacio nativo.
  
- Registro de la imagen T2 SLAB en el espacio nativo del T1 sobre el espacio MNI-152.

El proceso de registro se describe brevemente mediante el siguiente pseudocódigo:

---

**Algorithm 4** REGISTRO DE IMÁGENES T2 AL ESPACIO MNI-152

---

**Require:** Imágenes T2 SLAB y T1 WHOLE BRAIN en espacio nativo del mismo sujeto.

**Ensure:** Imágenes T2 SLAB en espacio MNI-152.

```

1: for  $i = 3$  hasta  $numSuj$  do
2:   %ELIMINACIÓN DEL CRÁNEO
3:   Skull-stripped de la imagen T1 y generación de la máscara binaria del ICV (bet)
4:   Generación de la máscara binaria del T2 (WarpImageMultiTransform -reslice-by-header)
5:   Aplicación de la máscara generada a la imagen T2 (fslmaths -mul)
6:
7:   %REGISTRO
8:   Obtención de matriz de transformación afín para registrar del espacio nativo del T1 al MNI-152 (ANTS -rigid-affine)
9:   Obtención de la matriz de transformación afín del espacio nativo del T2 SLAB al del T1 (ANTS -rigid-affine)
10:  Registro de las imágenes T2 SLAB al espacio MNI-152 aplicando, vía concatenación, las matrices. (WarpImageMultiTransform)
11: end for

```

---

El esquema del registro de las imágenes T2 SLAB se puede observar en la siguiente imagen:

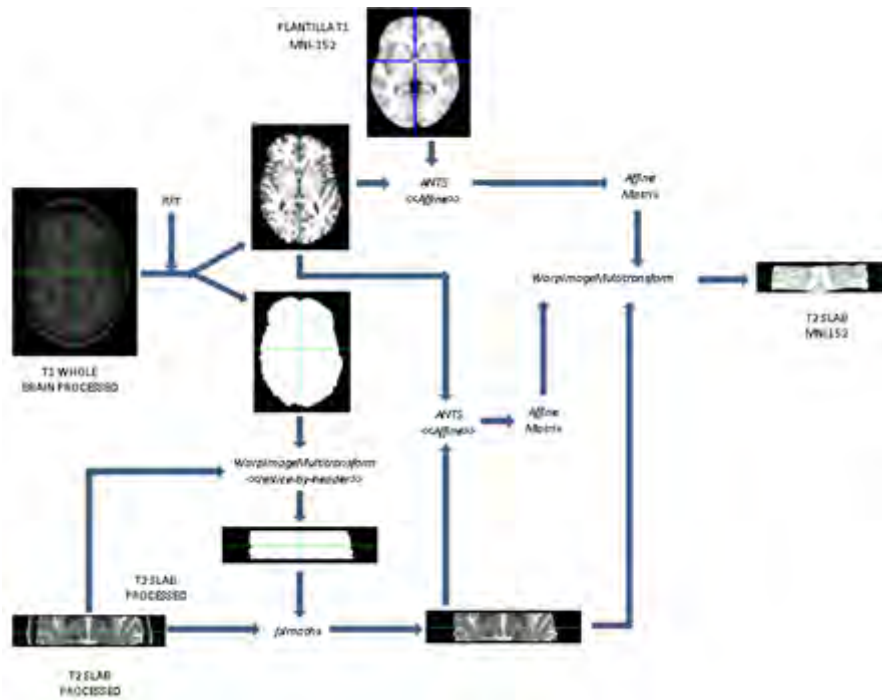


Figura 4.10: Esquema del registro T2 SLAB al espacio MNI-152.

A continuación se llevará a cabo la documentación detallada del script de Matlab desarrollado para implementar el proceso de registro de las imágenes T2 SLAB al espacio MNI-152. Pero, como se hizo en el anterior script (*RegistroMNI.m*), se procederá a detallar cuales son las carpetas que actuarán como entradas y salidas:

- **Nii:** Carpeta que contendrá los subdirectorios en donde se guardaron las imágenes T1 y T2 resultantes del pre-procesamiento :
  - **T1\_corrected:** Dentro de esta carpeta se encontrará la imagen ponderada en T1 del cerebro completo en su espacio nativo. Esta imagen actuará como puente para registrar las imágenes T2 SLAB al espacio MNI152.
  - **T2\_zoomed:** Dentro de esta carpeta se encontrará la imagen T2 SLAB cuyo registro es el objetivo del script.
- **Template:** Carpeta que contendrá la plantilla ponderada en T1 del espacio MNI-152
- **Registro:** Dentro de esta carpeta se guardarán las imágenes ya registradas en el espacio MNI-152 junto con las matrices de transformación afín utilizadas para llevar a cabo el proceso de registro. Estas imágenes, junto con las matrices de transformación, posteriormente serán trasladadas manualmente a la carpeta *data*, ya que pueden ser utilizadas como entradas de otros scripts que se realicen posteriormente.

## FUNCIONES

Las funciones utilizadas en este script son:

1. *bet*: Función de FSL que elimina el cráneo para así disponer únicamente de la estructura cerebral. Este proceso se conoce como "skull striped".
2. *WarpImageMultiTransform*: Función de ANTs que puede ser utilizada con dos finalidades:
  - a) Aplicar, vía concatenación, un número ilimitado de transformaciones a una imagen, ya sean afines o deformaciones (transformaciones no lineales). Se trata de la función que aplicará las transformaciones para registrar la imagen en el espacio deseado.
  - b) Re-construir una imagen existente en base a una referencia. En este caso la función debe tener como parámetro "*-reslice-by header*".
3. *fslmaths*: Función de FSL que permitirá aplicar a una imagen en formato nii una máscara también de dicho formato. Deberá ir acompañada del parámetro "*-mul*".
4. *ANTS*: Función de ANTs que generará las matrices de transformación afín que posteriormente serán aplicadas a la imagen mediante la función *WarpImageMultiTransform*.

## DESCRIPCIÓN

El primer paso será la eliminación del cráneo en la imagen T1 mediante la función *bet*. Este paso será necesario ya que la plantilla T1 del espacio MNI-152 no tiene cráneo, y el registro de una imagen con cráneo sobre una sin cráneo podría dar lugar a errores en el proceso de registro :

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

- *input*: Ruta en la que se encuentra la imagen T1 original.
- *out*: Ruta en la que se guardará la imagen T1 una vez finalizado el proceso de skull-stripped.
- *-B*: Con la elección de esta opción se busca tratar de reducir el sesgo de la imagen y los voxels residuales del cuello.
- *-f*: Umbral de intensidad fraccional. Este valor varía en el intervalo (0,1). Cuanto más bajo sea este valor más gruesos serán los contornos del cerebro.
- *-g*: Umbral del gradiente vertical de intensidad. Este valor varía en el intervalo (-1,1). Los valores positivos dan mayor contorno a la parte superior y los negativos a la parte inferior.
- *-m*: Al introducir esta opción se generará una máscara binaria de la estructura cerebral. Aparecerá en la misma carpeta en la que se guarde la imagen T1 procesada con su mismo nombre seguido de *\_mask*.

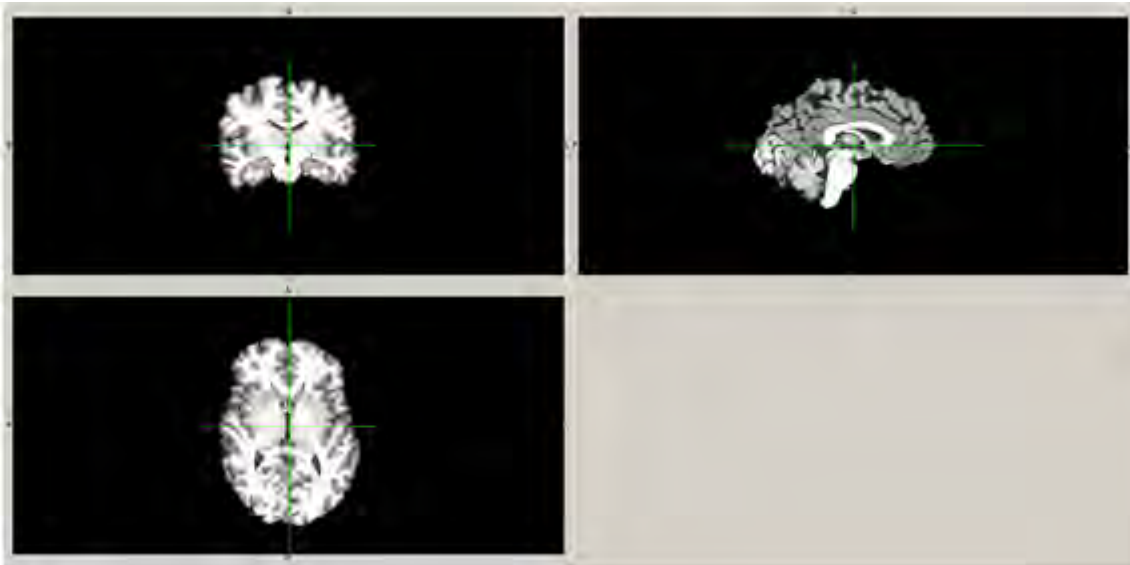


Figura 4.11: Imagen T1 WHOLE BRAIN sin cráneo.

Fácilmente se puede deducir que el siguiente paso será la eliminación del cráneo de las imágenes T2 SLAB. Para la realización de este paso se utilizará la máscara binaria generada en el paso anterior. Se optará por utilizar la máscara y no aplicar la función *bet* debido a que el coste computacional de emplear dicha función es mucho mayor que el de aplicarle una máscara a la imagen.

La máscara no se utilizará directamente sino que se le aplicará un “re-rebanado” en base a los parámetros del encabezado de la imagen T2 SLAB. Para realizar este proceso se empleará la función *WarpImageMultiTransform*:

```
WarpImageMultiTransform 3 <mask_input> <mask_output>
-R<referencia> -reslice-by-header
```

- *mask\_input*: Ruta de la máscara obtenida al realizar el skull-stripped de la imagen ponderada en T1 del cerebro completo.
- *mask\_output*: Ruta en la que se guardará la máscara re-elaborada en base a la referencia.
- *Referencia*: Ruta de la imagen que se toma como referencia para realizar la nueva máscara.
- *-reslice-by header*: Opción que se a de indicar para que se lleve a cabo el “re-rebanado”.



Figura 4.12: Máscara cerebral T2 SLAB.

Una vez obtenida la nueva máscara se aplicará sobre la imagen T2 SLAB mediante la función *fslmaths*:

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

- *input*: Ruta en la que se encuentra la imagen T2 SLAB original.
- *mask*: Ruta en la que se encuentra la máscara re-elaborada en base a la referencia.
- *output*: Ruta en la que se guardará la imagen T2 SLAB una vez aplicada la máscara, o lo que es lo mismo, tras haberse realizado la eliminación del cráneo.



Figura 4.13: Imagen T2 SLAB sin cráneo.

Ya eliminado el cráneo tanto de la imagen T1 como de la imagen T2 SLAB se iniciará el proceso de registro.

El primer paso será registrar la imagen T1 sobre el espacio MNI-152. Con este objetivo se utilizará la función *ANTS*. Únicamente se llevará a cabo una transformación afín, ya que el objetivo de este registro es la segmentación de la sustancia nigra en este espacio y, en caso de que se aplicará un registro no-rígido se perdería la variabilidad de la estructura entre sujetos. Esta función proporcionará una transformación afín que se aplicará para llevar a cabo este registro. Posteriormente, la matrices de transformación afín se usarán para registrar la imagen T2 SLAB al espacio MNI-152. La llamada a la función se expresa de la siguiente forma:

```
ANTS 3 -m CC[<plantilla>, <input>, <weight>, <radius>]
-o<output> -i 0 -rigid-affine
```

- *m*: Medida de consistencia del registro. Para este caso se ha seleccionado la correlación cruzada (CC) al ser la imagen a registrar (*input*) y la imagen sobre la que se realiza el registro (*plantilla*) de la misma modalidad (T1).
- *output*: Ruta en la que se guardará la matriz de transformación afín del espacio nativo del T1 al MNI152.
- *i*: Al tener valor 0 indica que es una transformación afín exclusivamente.

El siguiente paso será obtener la matriz de transformación afín que permitirá registrar la imagen T2 SLAB sobre la imagen T1 sin registrar (en su espacio nativo). En este caso, al ser imágenes del mismo cerebro y tomadas en el mismo instante, bastaría con hacer un registro rígido. Pero debido a posibles movimientos del paciente durante el proceso de adquisición, se llevará a cabo un registro afín para así evitar posibles errores. Al igual que antes se utilizará la función *ANTS*:

```
ANTS 3 -m MI[<plantilla>, <input>, <weight>, <radius>]
-o<output> -i 0 -rigid-affine
```

- *m*: Medida de consistencia del registro. Para este caso se ha seleccionado la información mutua (MI) al estar la imagen a registrar (*input*) ponderada en T2 y la imagen sobre la que se realiza el registro (*plantilla*) ponderada en T1.
- *output*: Ruta en la que se guardará la imagen T2 SLAB ya registrada sobre la imagen T1 en su espacio nativo.
- *i*: Al tener valor 0 indica que es una transformación afín exclusivamente.

Con la matriz de transformación afín obtenida en este último paso ya se dispone de todas las transformaciones necesarias para realizar el registro de la imagen T2 SLAB al espacio MNI152. Estas transformaciones se aplicarán a la imagen T2 mediante la función *WarpImageMultiTransform*:

```
WarpImageMultiTransform 3 <input> <output> -R<referencia>
<transformaciones>
```

- *input*: Ruta en la que se encuentra la imagen T2 a registrar
- *output*: Ruta en la que se guardará la imagen T2 SLAB ya registrada sobre el espacio MNI-152.

- *referencia*: Imagen que se toma como referencia a la hora de hacer el registro. En este caso será la plantilla ponderada en T1 ya que se trata de una imagen que está en el espacio sobre el que se quiere realizar el registro.
- *transformaciones*: Serie de transformaciones concatenadas que se aplicarán a la imagen T2 SLAB original. Primero se aplicará la matriz de transformación afín para realizar el registro de la imagen T2 al espacio del T1 y seguidamente se aplicará la matriz de transformación afín que llevará a la imagen T2 del espacio nativo del T1 al espacio MNI-152.

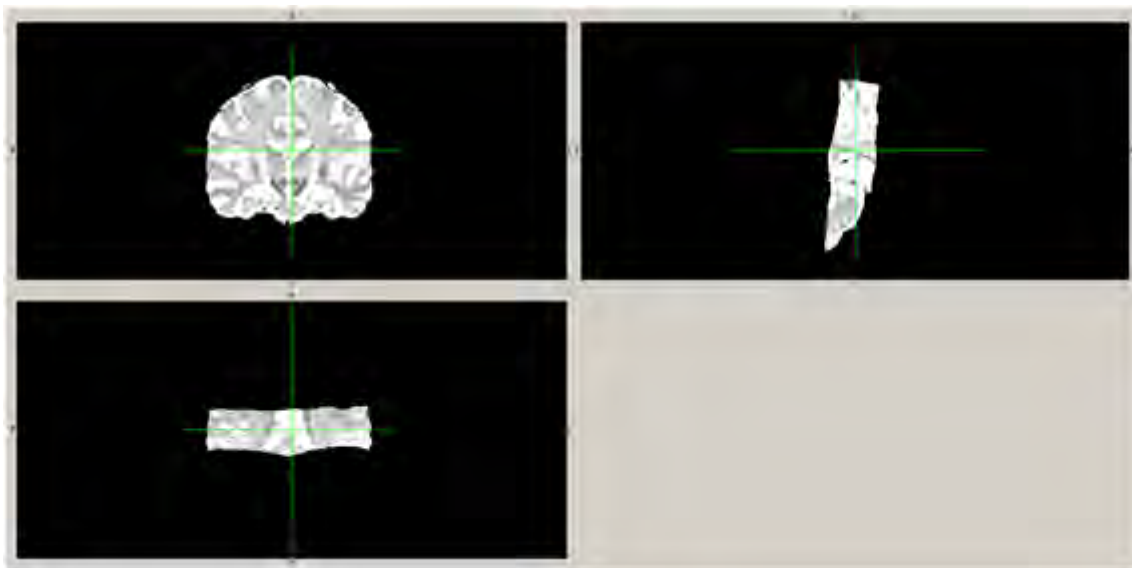


Figura 4.14: Imagen cerebral T2 SLAB registrada afínmente al espacio MNI-152

### Segmentación manual de la Sustancia Nigra (SN) y del Subtálamo (STh)

El proceso de segmentar una estructura anatómica equivale a asignar una misma etiqueta a cada voxel que compone la misma. Cada etiqueta tendrá un valor numérico asociado. Este valor se corresponde con el nivel de intensidad que se asignará a cada voxel de la imagen original en la imagen de etiquetado. Cada etiqueta tiene un nombre asociado, lo que permite relacionarla fácilmente con una estructura.

La segmentación manual se refiere al proceso mediante el cual un experto etiqueta una imagen de resonancia magnética cerebral. Se lleva a cabo a partir conocimientos *a priori* sobre la anatomía y la diferencia de intensidad que presentan las estructuras en las imágenes MRI.

A pesar de que a simple vista parece un método muy sencillo, se trata de un procedimiento crítico y muy laborioso. El etiquetado se realiza voxel a voxel en todos los *slices* que comprenden la estructura. Representa un paso crucial pues constituirá la base para obtener los resultados en volumetría de la SN y el STh. El proceso de segmentación se puede llevar a cabo tanto en el espacio nativo de la imagen, como

en el espacio estándar MNI-152. La elección depende de donde distinga mejor la estructura el segmentador.

A diferencia de otras estructuras cerebrales, no existe un protocolo definido para la segmentación de la sustancia nigra y el subtálamo. Las consideraciones tomadas para realizar las segmentaciones son extraídas del atlas del cerebro humano [16] y son válidas tanto si la segmentación se realiza en el espacio nativo o en el estándar:

- El final de la sustancia nigra vista en el plano axial se encuentra aproximadamente 3 mm hacia arriba desde el slice en el que el núcleo rojo deja de verse.
- En el plano coronal, el etiquetado hacia arriba finaliza cuando el estriado comienza a proyectarse sobre la nigra y el subtalamo. Ver figura 4.15:



Figura 4.15: Proyección del estriado sobre la nigra y el subtalamo.

- En el plano coronal, el subtalamo se encuentra sobre la nigra. A medida que se desciende en la vista coronal, el subtalamo se irá haciendo más pequeño hasta que únicamente será visible la nigra. Ver figura 4.17:

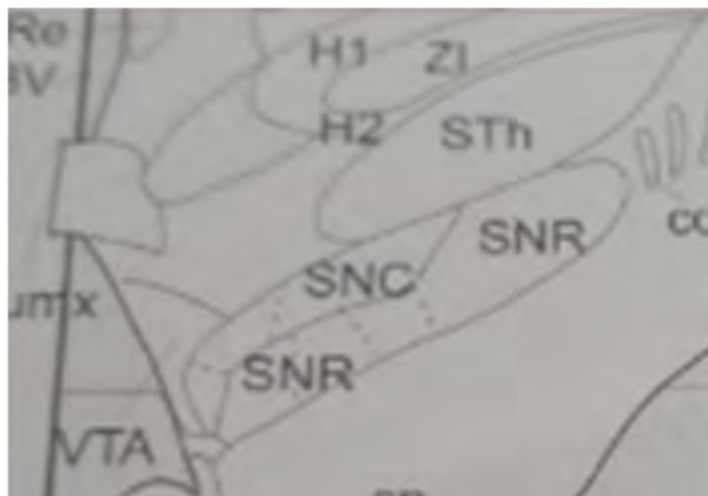


Figura 4.16: Diferencia subtalamo y SN en atlas [16].

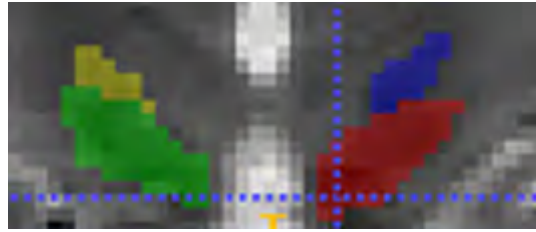


Figura 4.17: Azul y amarillo subtalamo. Rojo y verde SN.

- En el plano axial, la parte superior de la nigra no puede entrar en contacto con el borde del tronco encefálico.



Figura 4.18: Separación tronco encefálico y parte superior de la nigra.

En vista de estas consideraciones, la segmentación se puede realizar directamente sobre la vista coronal o delinear los límites de las estructuras en el plano coronal y llevar a cabo la segmentación en la vista axial. El resultado de la segmentación será similar al mostrado en la figura 4.19:

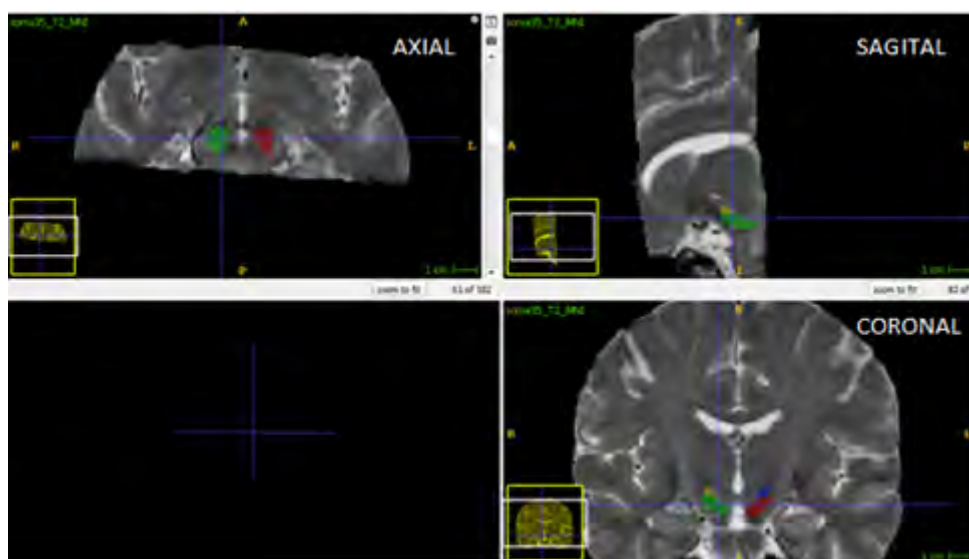


Figura 4.19: Segmentación manual de SN y subtalamo en todas la vistas.

### Evaluación de las segmentaciones manuales. Coeficiente DICE

Por definición, se trata de una medida de similitud que permite comparar el volumen común de dos segmentaciones binarias. Matemáticamente se expresa mediante la siguiente ecuación:

$$Q = \frac{2|A \cap B|}{|A| + |B|} \quad (4.1)$$

donde A se corresponde con el conjunto de voxels segmentados por un segmentador, y B será el conjunto de voxels segmentados por otro segmentador, en el caso de que se evalúe la similitud morfológica. Para medir el grado de contención de las segmentaciones dentro del mapa de la SN dado por [10], el valor A se corresponderá con el conjunto de voxels resultantes de la AND lógica entre la segmentación y el mapa, y el valor B será el conjunto de voxels de la segmentación.

El valor Q varía entre 0 y 1, y tendrá dos interpretaciones distintas según el caso que se este evaluando:

- **Similitud morfológica:** Proporciona una medida de la cantidad de voxels de la segmentación manual que concuerdan entre las dos segmentaciones. Un valor de Q=1 indicará que las segmentaciones son iguales y un valor de Q=0 indicará que son totalmente distintas.
- **Medida de contención:** Proporciona una medida de la cantidad de voxels de la segmentación manual que están localizados dentro del mapa. Un valor de Q=1 indicará que la totalidad de la segmentación manual se encuentra contenida dentro del mapa y un valor de Q=0 indicará que la posición de la segmentación no coincide con la del mapa.

El siguiente pseudocódigo describe brevemente los pasos que se han elaborado en la realización del script (*getDICE\_KEUKEN.m*) para el cálculo del coeficiente:

---

#### Algorithm 5 CÁLCULO DEL COEFICIENTE DICE ENTRE DOS SEGMENTACIONES

---

**Require:** Segmentación manual previa y propia o segmentación propia y mapa.

**Ensure:** Coeficiente Dice entre las dos segmentaciones o segmentación y mapa.

- 1: **for**  $i = 3$  hasta  $num.Suj$  **do**
  - 2: Lectura de los inputs (MedicalVolumeLoaderITKMEX)
  - 3: Obtención de matrices binarias con 1s en los voxels etiquetados como pertenecientes a la estructura evaluada y 0s en el resto (para ambas segmentaciones o para segmentación y mapa)
  - 4: AND lógica entre segmentación y mapa (en caso de medida de contención)
  - 5: Cálculo del coeficiente DICE para la estructura deseada
  - 6: **end for**
- 

A pesar de que parece una funcionalidad muy sencilla, se procederá a la documentación detallada del script en el que se desarrollo el cálculo del DICE de contención. Ésto se debe a que el modo de trabajar con las imágenes y etiquetas en este script será muy utilizado a lo largo del trabajo.

Como se viene haciendo en este tipo de documentación, previamente a describir el funcionamiento, se llevará a cabo la descripción de las carpetas que actuarán como entradas en este script:

- **Atlas\_JD:** Dentro de esta carpeta se encuentra un subdirectorio para cada sujeto. Cada uno de estos directorios contendrá la segmentación manual de la sustancia nigra en el espacio MNI-152 realizada en este trabajo.
- **Template:** Dentro de esta carpeta se encuentra tanto el atlas probabilístico de la sustancia nigra izquierda como de la derecha en el espacio MNI-152 dada por Keuken en [10].

Para este script no se han definido carpetas de salida puesto que los valores de los coeficientes DICE se mostrarán por pantalla al final de la ejecución.

## FUNCIONES

Las funciones utilizadas en este script son:

1. *MRRead*: Función de freesurfer definida para Matlab. Convierte una imagen en una estructura tipo MRI.

## DESCRIPCIÓN

La explicación que se desarrollará a continuación tiene como objetivo documentar el cálculo del coeficiente DICE de contención de todas las segmentaciones manuales de la sustancia nigra en los atlas probabilísticos dados por Keuken.

El primer paso será llevar a cabo la lectura de los atlas probabilísticos de la sustancia nigra mediante la función *MRRead*:

```
pi_nii = MRRead(<path plantilla izquierda>)
pd_nii = MRRead(<path plantilla derecha>)
```

El siguiente paso será realizar la lectura de la segmentación manual a la que se quiere calcular el DICE:

```
labelMNIinii = MRRead(<path segmentación manual>)
```

Una vez obtenida la estructura tipo MRI de las tres imágenes, se procede a extraer la matriz 3D de intensidades por medio del campo *vol* de la estructura:

```
atlas_izd    = pi_nii.vol
atlas_dch    = pd_nii.vol
seg_man      = labelMNIinii.vol
```

La segmentación manual recoge la delineación de la sustancia nigra (izquierda y derecha) y subtalamo (izquierdo y derecho) en la misma imagen. Para llevar a cabo el cálculo del coeficiente DICE habrá que “eliminar” todas las estructuras exceptuando aquella para la que se realiza el cálculo:

- **Sustancia nigra izquierda:**

```
bwSegm_izq = (seg_man == <etiqueta asociada a la
nigra izquierda en la segmentación manual>)
```

*bwSegm\_izq* será una matriz 3D binaria con 1s en las posiciones correspondientes a los voxels de la segmentación manual de la sustancia nigra izquierda y 0s en el resto de posiciones, consiguiéndose así la “eliminación” de las estructuras sobrantes para el cálculo del DICE izquierdo.

- **Sustancia nigra derecha:**

$$\text{bwSegm\_dcha} = (\text{seg\_man} == \langle \text{etiqueta asociada a la nigra derecha en la segmentación manual} \rangle)$$

*bwSegm\_dcha* será una matriz 3D binaria con 1s en las posiciones correspondientes a los voxels de la segmentación manual de la sustancia nigra derecha y 0s en el resto de posiciones.

En el cálculo del DICE de contención, el término B de la ecuación 4.1 hará referencia al número de voxels que aparecen segmentados tanto en la plantilla como en la delineación manual. Este término se calculará como la AND lógica entre la segmentación manual de la estructura y la plantilla:

- **Sustancia nigra izquierda y atlas izquierdo:**

$$\text{bwAtlas\_izq} = (\text{atlas\_izd} > 0 \ \& \ \text{bwSegm\_izq})$$

- **Sustancia nigra derecha y atlas derecho:**

$$\text{bwAtlas\_dcha} = (\text{atlas\_dch} > 0 \ \& \ \text{bwSegm\_dcha})$$

Por último se realizará el cálculo del coeficiente de similitud mediante la siguiente macro:

$$\text{dice} = @(X,Y) (2 * \text{sum}(X(:) \ \& \ Y(:))) / (\text{sum}(X(:) + Y(:)))$$

donde *X* será la matriz lógica que contiene 1s en los voxels de la estructura y 0s en el resto e *Y* será la matriz lógica que contiene 1s en los voxels etiquetados tanto en la plantilla como en la segmentación y 0s en el resto, o viceversa.

Al calcularse el valor del coeficiente en dos regiones distintas, la llamada a la macro se realizará una vez para calcular el DICE de la segmentación derecha y otra para la izquierda:

- **Sustancia nigra izquierda:**

$$\text{dice}(\text{bwSegm\_izq}(:), \text{bwAtlas\_iz}(:))$$

- **Sustancia nigra derecha:**

$$\text{dice}(\text{bwSegm\_dcha}(:), \text{bwAtlas\_dcha}(:))$$

El operador (:) se utiliza con el objetivo de poner los elementos de la matriz que le precede en forma de vector unidimensional.

### Cálculo de la volumetría de la sustancia nigra (SN) y el subtálamo (STh)

La volumetría de la SN y el STh se obtendrá calculando el número de voxels segmentados de cada estructura y multiplicándolo por el tamaño de voxel. En el caso de que las segmentaciones se realicen en el espacio MNI-152, el tamaño de los voxel será  $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$ . Para el caso de que la segmentación se realice en el espacio nativo, cada imagen puede tener un tamaño de voxel distinto. El valor de este parámetro se puede extraer fácilmente del encabezado de las imágenes NIfTI. El pseudocódigo para el cálculo del volumen se muestra a continuación:

---

#### Algorithm 6 CÁLCULO DE LA VOLUMETRÍA DE LAS ESTRUCTURAS

---

**Require:** Segmentación manual previa y propia.

**Ensure:** Volumetría de las estructuras.

- 1: **for**  $i = 3$  hasta  $numSuj$  **do**
  - 2: Lectura de las segmentaciones manuales (MedicalVolumeLoaderITKMEX)
  - 3: Obtención de matrices binarias con 1s en los voxels etiquetados como pertenecientes a la estructura evaluada y 0s en el resto (para ambas segmentaciones)
  - 4: Suma de los términos de las matrices obtenidas anteriormente para calcular el número de voxels de cada estructura (para ambas segmentaciones)
  - 5: Cálculo del volumen estructura deseada multiplicando el número de voxels por el tamaño de voxel.
  - 6: **end for**
- 

#### 4.2.2. Intensidad de señal en la Sustancia Nigra (SN)

Para llevar a cabo el cálculo de la intensidad de señal en la sustancia nigra, primero será necesario realizar la delineación de la estructura. Para ello se utilizará la segmentación manual obtenida como parte del método de cálculo de la volumetría de la SN. A diferencia del proceso anteriormente mencionado, no bastará con delinear únicamente la sustancia nigra. Será necesario definir una estructura con respecto a la cual referenciar la intensidad de la sustancia nigra. La ROI será seleccionada en base a trabajos anteriores relacionados con la SN como [12], buscando región que no se degenera con la enfermedad del Parkinson. Debido al carácter hipointenso mostrado por la sustancia nigra en las imágenes T2 y a que el cálculo de este marcador es relativo al nivel de intensidad de las ROIs de referencia, de aquí en adelante se referirá a este biomarcador como el *grado de hipointensidad de la sustancia nigra respecto a una región de referencia*.

Por tanto, en base a lo expuesto anteriormente, el cálculo del grado de hipointensidad de la SN respecto al cp se divide en tres pasos:

1. Segmentación manual de las ROIs de referencia y de la SN.
2. Cálculo del valor medio de intensidad de señal en las ROIs y la SN.
3. Cálculo del grado de hipointensidad de la SN respecto a las ROIs de referencia.

En las siguientes páginas se describirá cada uno de estos pasos, a excepción del proceso de segmentación de la SN el cual se reportó en la sección anterior.

#### Segmentación manual de las ROIs de referencia

Previamente a describir este paso, es de gran importancia recalcar que la segmentación manual de las ROIs de referencia debe realizarse en el mismo espacio de coordenadas en el que se realizó la segmentación de las estructuras.

Las ROIs de referencia se definirán en la región situada entre la sustancia nigra y el borde del tronco encefálico comprendida dentro de este último, conocida como pedúnculo cerebral (cp). Para la segmentación manual de las ROIs no será necesario definir un protocolo de segmentación, ya que no se delinearán la totalidad de la estructura. La región estará compuesta por circunferencias de radio 4mm segmentadas en slices consecutivos del plano axial en los que se visualiza la nigra. A continuación se muestra una imagen de la segmentación de las ROIs en un slice para mostrar la posición aproximada en la que se delinearán las circunferencias:

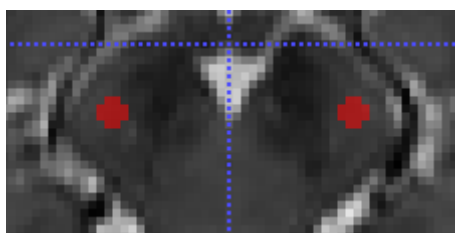


Figura 4.20: Delineación de la ROI de referencia en el espacio MNI-152.

### Cálculo del grado de hipointensidad de la SN respecto a las ROIs de referencia

La descripción del cálculo de las intensidades medias se omitirá, ya que se trata de un promedio convencional.

El cálculo de valor de la intensidad relativa se realizará por medio de la siguiente expresión:

$$g = \frac{SN_{mean} - ROI_{mean}}{ROI_{mean}} \quad (4.2)$$

donde  $SN_{mean}$  será el valor medio de la intensidad de señal en la SN y  $ROI_{mean}$  será el valor medio de la intensidad de señal en la ROI de referencia.

El grado de hipointensidad de la SN respecto a las ROIs de referencia se expresará como el valor absoluto de  $g$ . De esta manera se eliminará el signo negativo que aparecerá debido a que la SN es más hipointensa que la ROI, ya que no aporta información adicional al aparecer tanto en sujetos control como en pacientes con la EP.

El siguiente pseudocódigo describe, brevemente, la funcionalidad de las líneas implementadas para la obtención de este biomarcador:

---

**Algorithm 7** CÁLCULO DEL GRADO DE HIPOINTENSIDAD DE LA SN RESPECTO A UNA ROI DE REFERENCIA

---

**Require:** Imagen T2, segmentación manual del SN y cp (todas localizadas en el mismo espacio).

**Ensure:** Grado de hipointensidad de la SN respecto al cp.

- 1: **for**  $i = 3$  hasta  $numSuj$  **do**
  - 2:   Lectura de imagen T2 y segmentaciones manuales (MedicalVolumeLoaderITKMEX)
  - 3:   Obtención de las intensidades medias de la SN y cp en la imagen T2
  - 4:   Cálculo del grado de hipointensidad de la nigra
  - 5: **end for**
- 

### 4.3. Obtención de Marcadores desde imágenes ponderadas en T1 sensibles a la Neuromelanina

Las imágenes T1 sensibles a la neuromelanina, a diferencia de las imágenes T2, poseen una buena reputación en lo referente a la posibilidad de visualizar cambios en estructuras debido al deterioro progresivo originado por la enfermedad del Parkinson, lo cual se puede observar en [2], [8] y [27]. En este caso, y al igual que para el grupo de imágenes anterior, la estructura estudiada será la sustancia nigra. Pero, como se puede observar en [8], el locus coeruleus también es sensible al deterioro provocado por la enfermedad del Parkinson, y por tanto un posible objeto de estudio.

Siguiendo la línea trazada en el estudio de las imágenes T2, la búsqueda de marcadores se centrará en la existencia de posibles diferencias en volumetría e intensidad de señal entre sujetos control sanos y pacientes con la EP en la sustancia nigra.

#### 4.3.1. Volumetría de la Sustancia Nigra (SN)

Al igual que en el caso de la imágenes T2, para llevar a cabo el cálculo del volumen de la sustancia nigra, primero será necesario realizar la delineación de la estructura. En este caso no se recurrirá a la segmentación manual de la estructura, sino que se optará por utilizar una variación del método propuesto en [8]. Además, se ha reportado en [2] que el volumen de los voxels más hiperintensos dentro de la sustancia nigra sería más discriminativo que la totalidad de la estructura.

En base a lo expuesto en el párrafo anterior, se evaluarán dos posibles marcadores de la enfermedad del Parkinson basados en volumetría. Los pasos seguidos para la obtención de estas medidas son los siguientes:

1. Segmentación de la SN.
2. Obtención de los voxels más hiperintensos dentro de la segmentación obtenida en el paso anterior.
3. Cálculo del volumen de la SN y de sus voxels más hiperintensos.

#### Segmentación de la Sustancia Nigra (SN)

Como se ha mencionado anteriormente, el método para llevar a cabo la delineación de la SN vista en imágenes de T1 sensibles a la neuromelanina no será un trabajo exclusivamente manual, sino que estará basado en el método propuesto en

[8] y recogido en el estado del arte de este trabajo. Aunque ya ha sido descrito anteriormente, para facilitar la explicación de las modificaciones aplicadas se procederá a enumerar nuevamente los pasos que componen dicho proceso:

1. Definir regiones circulares de 4mm de diámetro en la región situada entre la SN y el borde del tronco encefálico izquierda y derecha para 4 slices consecutivos, en los que la SN sea visible. Estas regiones recibirán el nombre de ROIs de background.
2. Definición de un mapa binario formado por los voxels con intensidad de señal mayor que  $MN_{CC} + 3 * SD_{CC}$  donde  $MN_{CC}$  y  $SD_{CC}$  son la media y la desviación estándar de la intensidad de señal de la denominada ROI de background.
3. Definir las ROIs de la SN dentro del mapa binario.

En el método utilizado en este trabajo, el primer paso se realizará conforme a lo establecido en la bibliografía original, difiriendo únicamente en el número de slices en los que se realizará la segmentación manual. El número de slices a segmentar no será un valor fijo, sino que se adaptará en función del número de rebanadas en las que la SN sea visible. Dentro del grupo de trabajo este valor variará entre 3 y 4.

El segundo paso representará el cambio más importante respecto a lo enunciado en [8]. En este trabajo, no se tomará el multiplicador de la desviación estándar con valor fijo de 3 para el cálculo del umbral en todo el grupo de imágenes, sino que se considerará un valor variable  $\alpha$ . Por tanto, el valor del umbral atenderá a la siguiente expresión:

$$THR = MN_{CC} + \alpha * SD_{CC} \quad (4.3)$$

La umbralización no se llevará a cabo en la totalidad de la imagen, sino que únicamente se realizará en los slices que contienen la SN y de un modo independiente. Se calculará un valor de  $THR$  para cada uno de estos slices (utilizando el mismo valor de  $\alpha$  en todos ellos), y cada valor de  $THR$  se aplicará exclusivamente al slice en el que ha sido calculado. Para aquellos slices en los que no se identifiqué la SN, se les asignará directamente el valor de 0 lógico.

El valor de  $\alpha$  variará entre 1 y 2.5 con un paso de 0.1 obteniéndose 15 segmentaciones de la SN distintas para cada sujeto. De las 15 delineaciones obtenidas, se seleccionará como “la mejor” aquella, que visualmente, se ajuste con mayor precisión a los voxels hiperintensos correspondientes a la SN vistos en la imagen. Los valores de  $\alpha$  obtenidos para el grupo de imágenes tratado varían entre 1.2 y 2.2. El valor más repetido es el de 1.4, valido para diez imágenes.

El paso tres consiste en eliminar todos aquellos voxels de la segmentación resultante que no corresponden a la SN. En el método descrito en [8], no se especifica como se llevo a cabo dicha limpieza. Por tanto, a continuación, únicamente se describirá el método empleado en este trabajo sin saber si coincide o no con el realizado en la bibliografía:

1. Aplicación del operador morfológico de apertura con el objetivo de eliminar los voxels sueltos situados en el entorno cercano de la SN y no pertenecientes a esta. También se aplicará el operador morfológico de clausura, ya que como

#### 4.3. OBTENCIÓN DE MARCADORES DESDE IMÁGENES PONDERADAS EN T1 SENSIBLES A LA NEUROMELANINA

resultado de la umbralización se pueden obtener voxels pertenecientes a la SN separados ligeramente del grupo de voxels que conforman la mayor parte de la segmentación, y el uso del operador unificaría ambos grupos.

2. Definición, manualmente, de ROIs rectangulares que comprendan la totalidad de la SN para emplearlas como máscaras con el objetivo de eliminar los grandes grupos de voxels que no pertenecen a la estructura.
3. Refinamiento manual de la segmentación resultante de los pasos anteriores.

Tras la aplicación de todos los procesos mencionados se obtendrá la ROI de la SN vista en imágenes T1 sensibles a la neuromelanina, cuya volumetría será posteriormente evaluada como posible marcador diferencial entre sujetos control sanos y pacientes con la EP.

A continuación se llevará a cabo la documentación del script utilizado para llevar a cabo la segmentación de la sustancia nigra vista en imágenes T1 sensibles a la neuromelanina. Cabe destacar que este script (*getSEG\_SN.m*) se divide en dos subscrippts que serán los que se comenten a continuación. El primer script (*segPrev.m*) llevará a cabo una segmentación previa, la cual será evaluada de manera visual. Una vez que se haya seleccionado la mejor segmentación previa para cada sujeto se procederá a eliminar los voxels segmentados no pertenecientes a la SN, lo cual se recogerá en el segundo script (*segClear.m*).

##### **segPrev.m**

Al igual que se ha realizado en la documentación del resto de códigos, se realizará una descripción del contenido de las carpetas que actúan como input y output en este script:

- **ATLAS\_NATIVO:** Esta carpeta contendrá las imágenes ponderadas en T1 sensibles a la neuromelanina una vez hayan sido preprocesadas en su espacio nativo.
- **ROIs:** Esta carpeta contendrá las ROIs circulares de la región situada entre la sustancia nigra y el borde del tronco encefálico.
- **SEG\_PREV:** En esta carpeta se guardarán las segmentaciones obtenidas como resultado del proceso que se describirá a continuación.

Las funciones que se utilizarán para llevar a cabo la implementación de este script son las siguientes:

- *MedicalVolumeLoaderITKMEX*: MEX function utilizada para obtener la matriz de intensidad de una imagen en el sistema operativo Windows.
- *zeros*: Función de MATLAB que permitirá obtener una matriz de 0s.
- *mean*: Función de MATLAB para calcular el valor medio de los elementos de un vector.
- *std*: Función de MATLAB para calcular la desviación estándar de los elementos de un vector.

- *imopen*: Función de MATLAB con la que se implementará el operador morfológico de apertura sobre una imagen.
- *imclose*: Función de MATLAB con la que se implementará el operador morfológico de clausura sobre una imagen.
- *saveNifti*: MEX function utilizada para guardar una matriz de intensidad como una imagen en formato NIfTI en el sistema operativo Windows.

Una vez descritas las funciones que se utilizarán para desarrollar el script, y las carpetas que contendrán sus inputs y outputs, se procederá a describir paso a paso el proceso de obtención de la segmentación previa de la sustancia nigra en imágenes ponderadas en T1 sensibles a la neuromelanina.

El primer paso será realizar la lectura de la imagen T1 NM y, de las ROIs de la zona situada entre la sustancia nigra y el borde del tronco encefálico (pedúnculo cerebral) para obtener sus correspondientes matrices tridimensionales de intensidad. Para realizar este paso se utilizará la función *MedicalVolumeLoaderITKMEX*:

```
[IMG,refSp,refOr,refDir,refDim]=MedicalVolumeLoaderITKMEX(pIMG)
[ROI,~,~,~,~]=MedicalVolumeLoaderITKMEX(pROI)
```

donde *pIMG* y *pROI* serán las rutas en las que se encuentre la imagen T1 NM y la ROI respectivamente. *IMG* y *ROI* serán las matrices de intensidad obtenidas tras aplicar la función. *refSp*, *refOr*, *refDir* y *refDim* serán el tamaño de voxel, origen de coordenadas, dirección y dimensiones de la imagen. Estos cuatro últimos parámetros serán obtenidos del encabezado de la imagen y posteriormente serán utilizados para guardar las segmentaciones previa en formato NIfTI.

El siguiente paso será crear una matriz auxiliar de ceros con las mismas dimensiones que la imagen original. Esta matriz será utilizada para almacenar los resultados de la segmentación tras la aplicación del proceso de umbralización.

```
SegP = zeros (refDim(1),refDim(2),refDim(3))
```

donde *refDim(1)*, *refDim(2)* y *refDim(3)* son el número de filas, columnas y páginas de la matriz de 0s creada.

Como se comentó anteriormente, el proceso de umbralización se realizará slice por slice a lo largo de la vista axial. Por esta razón, se implementará un bucle que recorrerá todas las páginas de la matriz de intensidad de la ROI y de la imagen. Ésto se debe a que en las matrices de intensidad dadas por la función *MedicalVolumeLoaderITKMEX* la vista axial se localiza a lo largo de esta dirección.

En cada interacción del bucle se extraerá un slice de la imagen y su equivalente en la ROI:

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

El valor de *j* indicará el número del slice extraído. Se pasará a trabajar con matrices bidimensionales.

#### 4.3. OBTENCIÓN DE MARCADORES DESDE IMÁGENES PONDERADAS EN T1 SENSIBLES A LA NEUROME

El siguiente paso será extraer los valores de intensidad del slice de la imagen en aquella región delimitada por la segmentación en el slice de las ROIs. Para ello, primero será necesario crear una máscara binaria del slice de la ROI:

$$\text{slice\_ROI} = (\text{slice\_ROI} == \text{lab\_left} \parallel \text{slice\_ROI} == \text{lab\_right} )$$

donde *lab\_left* será la etiqueta asociada a región izquierda y *lab\_right* la asociada a la derecha de la ROI. Tras esta operación, *slice\_ROI* será una matriz binaria con 1s en las posiciones de las ROIs y 0s en el resto.

Para la obtención de los valores de la intensidad del slice imagen en la región definida por las ROIs se recurrirá a un concepto conocido como indexación de matrices, utilizando la máscara anteriormente obtenida:

$$\text{I\_slice\_ROI} = \text{double}(\text{slice\_IMG}(\text{slice\_ROI}))$$

*I\_slice\_ROI* será un vector que contendrá los valores de intensidad de *slice\_IMG* en aquellas posiciones en las que *slice\_ROI* tenga valor 1 lógico.

Una vez extraídos los valores de intensidad, se procederá a calcular tanto la media como la desviación estándar para obtener el valor del umbral.

$$\begin{aligned} \text{MEAN} &= \text{mean}(\text{I\_slice\_ROI}) \\ \text{SD} &= \text{std}(\text{I\_slice\_ROI}) \\ \text{T\_slice} &= \text{MEAN} + (\text{POND} * \text{SD}) \end{aligned}$$

donde *POND* será el valor variable que habrá que ajustar, en base a criterios visuales, para obtener la mejor segmentación de la sustancia nigra.

Una vez obtenido el valor del umbral *T\_slice*, se procederá a la segmentación. El resultado de la umbralización en el slice de la imagen evaluado se guardará en el slice equivalente de la matriz auxiliar *SegP*, creada anteriormente:

$$\text{SegP}(:, :, j) = \text{slice\_IMG} > \text{T\_slice}$$

Una vez recorridas todas las páginas, *SegP* contendrá la segmentación resultante de aplicar el proceso de umbralización en todos los slices de la imagen original.

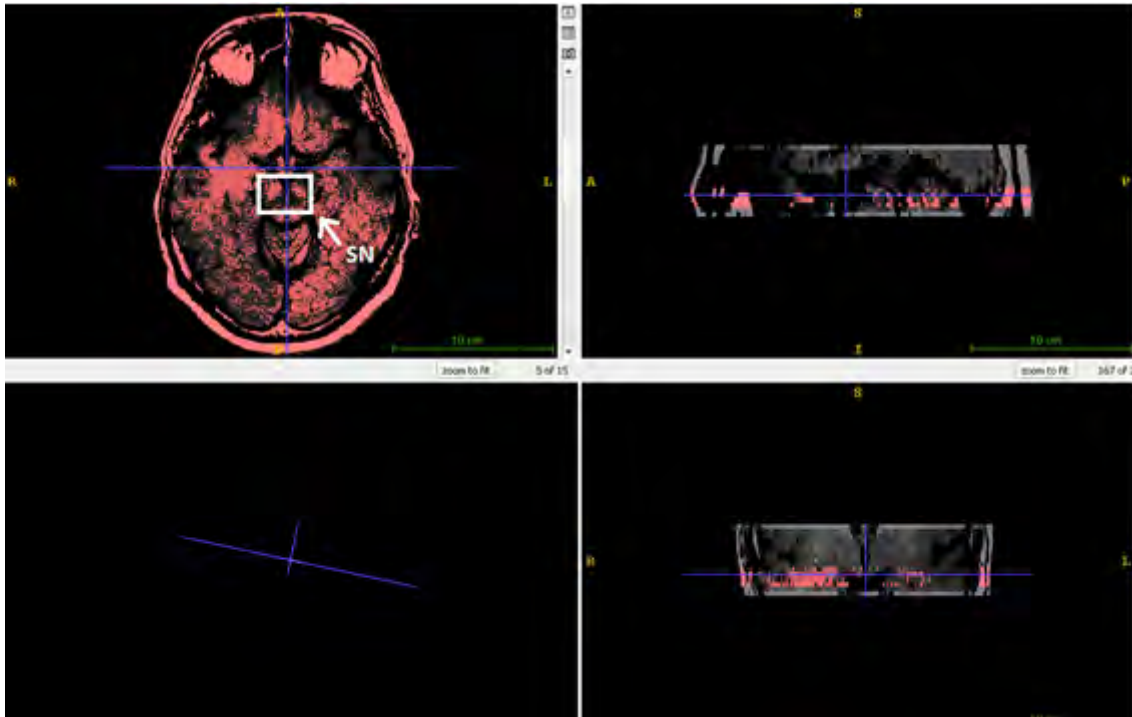


Figura 4.21: Segmentación de la SN tras el proceso de umbralización.

Como se puede observar, además de los voxels de la sustancia nigra, existe una gran cantidad de voxels ajenos a la estructura incluidos en la segmentación. Por esta razón será necesario eliminar todos aquellos voxels de la segmentación que no corresponden a la sustancia nigra. Este proceso se llevará a cabo en el script *segSNc.m*, pero en *segPrev.m* se realizará una limpieza inicial con la aplicación de los operadores morfológicos de apertura y clausura sobre la segmentación obtenida.

Antes de aplicar los operadores, será necesario definir el grupo de vecinos que se evaluarán para cada voxel de la segmentación:

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

Por último se aplicarán de manera directa los operadores mediante las funciones de MATLAB *imopen* e *imclose*:

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

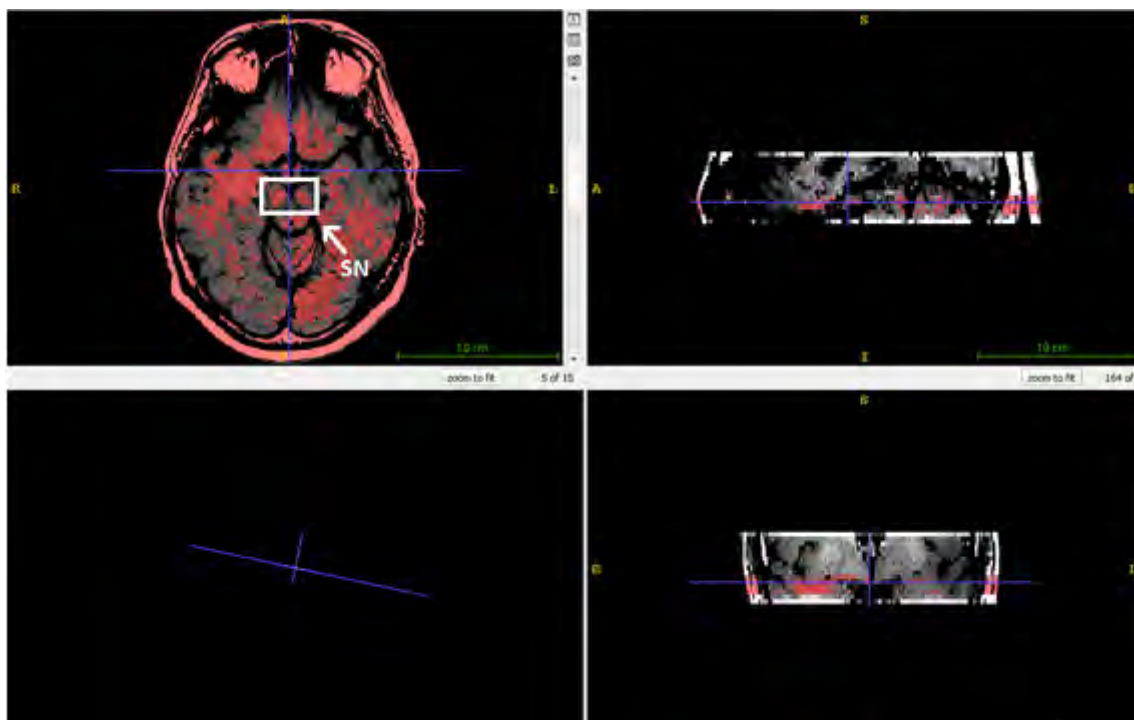


Figura 4.22: Segmentación de la SN tras la aplicación de los operadores morfológicos.

El resultado de estos procesos se guardará en formato NIfTI mediante la función `saveNifti`, para posteriormente evaluarlos visualmente en el programa ITK-SNAP:

```
saveNifti(single(afterClosing),refSp,refOr,refDir,refDim,path,'float32')
```

donde `path` será la ruta en la que se guarde la segmentación en formato NIfTI. La información del encabezado con la que se creará la imagen, será la misma que la de la imagen T1 NM original.

### segClear.m

Las carpetas que se utilizarán como input y output en este script serán las siguientes:

- **ATLAS\_NATIVO:** Esta carpeta contendrá las imágenes ponderadas en T1 sensibles a la neuromelanina una vez hayan sido preprocesadas y convertidas al formato NIfTI.
- **ROIs:** Esta carpeta contendrá las ROIs circulares de la región situada entre la sustancia nigra y el borde del tronco encefálico, y las ROIs rectangulares que delimitarán la región de la sustancia nigra.
- **SEG\_PREV:** Esta carpeta contendrá las segmentaciones obtenidas en el proceso descrito en el script anterior.
- **SEG\_SN:** Esta carpeta contendrá las segmentaciones finales de la sustancia nigra a falta de la limpieza manual de los voxels no pertenecientes a la estructura.

Las funciones utilizadas para implementar este script son las siguientes:

- *MedicalVolumeLoaderITKMEX*: MEX function utilizada para obtener la matriz de intensidad de una imagen en el sistema operativo Windows.
- *regionprops*: Función de MATLAB que permite medir propiedades de una región de la imagen definida por un elemento tipo *bwlabeln*.
- *zeros*: Función de MATLAB que permitirá obtener una matriz de 0s.
- *sort*: Función de MATLAB que se utilizará para ordenar los elementos de un vector.
- *saveNifti*: MEX function utilizada para guardar una matriz de intensidad como una imagen en formato NIFTI en el sistema operativo Windows.

Tras describir las carpetas y funciones que se utilizarán, se procederá a describir paso a paso el proceso de eliminación de aquellos voxels segmentados que no pertenecen a la sustancia nigra.

El paso inicial será la lectura de todas las imágenes en formato NIFTI que estarán involucradas en este proceso. El grupo estará formado por las imágenes T1 NM originales, la segmentación previa obtenida del script anterior, las ROIs circulares de referencia y la región rectangular que define la región de la SN.

```
[IMG,refSp,refOr,refDir,refDim]=MedicalVolumeLoaderITKMEX(pIMG)
[SEG,~,~,~,~]=MedicalVolumeLoaderITKMEX(pSEG)
[ROI,~,~,~,~]=MedicalVolumeLoaderITKMEX(pROI)
[MASK,~,~,~,~]=MedicalVolumeLoaderITKMEX(pMASK)
```

donde *pIMG*, *pSEG*, *pROI* y *pMASK* serán las rutas en las que se encuentren la imagen T1 NM, la segmentación previa, la ROI de referencia y la ROI rectangular que delimita la sustancia nigra respectivamente. *IMG*, *SEG*, *ROI* y *MASK* serán las matrices de intensidad obtenidas tras aplicar la función. *refSp*, *refOr*, *refDir* y *refDim* serán el tamaño de voxel, origen de coordenadas, dirección y dimensiones de la imagen. Estos cuatro últimos parámetros serán obtenidos del encabezado de la imagen y posteriormente serán utilizados para guardar las segmentaciones previa en formato NIFTI.

A diferencia del script anterior, en este proceso no se trabajará con la totalidad de las matrices de intensidad, sino con aquellas páginas (slices) en las que se ha localizado la sustancia nigra. Para obtener estas secciones específicas se implementará un bucle que recorra los slices axiales de todas estas imágenes. Las páginas buscadas se identificarán a partir de la matriz de intensidad de la ROI de referencia. Esta elección se debe a que dichas ROIs fueron delineadas manualmente en los slices en los que se visualiza la sustancia nigra. La condición utilizada para localizar estos slices en el script es la siguiente:

```
slice_ROI = ROI(:, :, j)
if(sum(slice_ROI(:)) > 0)
```

donde  $j$  será la variable utilizada para contabilizar las páginas de la matriz de intensidad de la ROI de referencia.

Esta sentencia evaluará la suma de todos los elementos de cada uno de los slices que componen la matriz de la ROI de referencia. La condición únicamente se vera cumplida en aquellos slices en los que se encuentre la segmentación manual, y que coincidirán con aquellos en los que esta presente la nigra. Por tanto, se guardarán los slices equivalentes de la imagen original, la ROI de referencia, la ROI rectangular que define la SN (izquierda y derecha por separado) y la segmentación previa dentro de una estructura llamada *slices\_SNc*:

```
slices_SNc(i-2).segPrev(:,:,k) = double(SEG(:,:,j))
slices_SNc(i-2).ROI(:,:,k) = ROI(:,:,j)
slices_SNc(i-2).img(:,:,k) = IMG(:,:,j)
slices_SNc(i-2).maskSNc_dcha(:,:,k) = (MASK(:,:,j)==label_right)
slices_SNc(i-2).maskSNc_izda(:,:,k) = (MASK(:,:,j)==label_left)
```

donde  $k$  será una variable que se inicializa con valor 1 al leer el conjunto de matrices de intensidad de cada paciente y se incrementa en una unidad cada vez que se cumple la condición anteriormente mencionada.

Esta estructura también contará con un campo para almacenar el identificador del paciente y los slices de la segmentación resultante del proceso de limpieza.

A continuación se iniciará el proceso de eliminación de voxels. El procedimiento a seguir será igual tanto para la sustancia nigra derecha como izquierda. Por esta razón, el proceso se encontrará dentro de un bucle en cuya primera iteración se tratara la región derecha de la estructura y en la segunda la izquierda, para finalmente combinar ambos resultados.

El primer paso será aplicar las máscaras de la ROI rectangular sobre la segmentación previa por medio del operador AND lógico:

```
Seg = slices_SNc(i-2).segPrev & slices_SNc(i-2).maskSNc_dcha
      ó
Seg = slices_SNc(i-2).segPrev & slices_SNc(i-2).maskSNc_izda
```

En este proceso se habrá eliminado la mayor parte de los voxels etiquetados en la segmentación previa pero que no pertenecen a la estructura. Aun así, quedará por eliminar aquellos voxels no pertenecientes a la SN que se encuentren segmentados dentro de la región rectangular.

Se espera que todos los voxels segmentados que pertenecen a la SN se encuentren separados de los voxels residuales. Por esta razón, se procederá a calcular la caja delimitadora de cada uno de los conjuntos de voxels separados entre sí. La diferenciación entre estos grupos se obtendrá mediante la función *bwlabeln*:

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

*Seg* dejará de ser una matriz formada exclusivamente por 1s y 0s para convertirse en un matriz que presentará un valor de etiquetado diferente para cada grupo de voxels.

El cálculo de la caja delimitadora de cada conjunto, así como su área se realizará por medio de la función *regionprops*:

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

Aquella caja que presente mayor área será la que defina la región en la que se encuentre la segmentación de la sustancia nigra. Para determinar esta caja, se introducirá el área de cada caja dentro de un vector y se realizará su ordenación por medio de la función *sort*:

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

El primer valor del vector *index* indicará el índice de la caja que presenta un mayor área, y que por tanto delimita el etiquetado de la sustancia nigra. Se seleccionarán los parámetros de esta caja y se procederá a su construcción:

```
lim_struct1 = BB_seg(index(1)).BoundingBox
```

```
struct1=[ceil(lim_struct1(2)),ceil(lim_struct1(2))+
lim_struct1(5))-1,ceil(lim_struct1(1)),
ceil(lim_struct1(1)+lim_struct1(4))-1,
ceil(lim_struct1(3)),ceil(lim_struct1(3)+
bound_Region_lh(6))-1]
```

Una vez definida la caja que contiene a la sustancia nigra, se construirá una máscara de dicha región para aplicarla sobre la segmentación resultante de la aplicación de la ROI rectangular. Esta máscara estará formada por 1s en las posiciones delimitadas por la caja y 0s en el resto:

```
mask_struct1 = zeros(refDim(1),refDim(2),numSlices)
```

```
mask_struct1 (struct1(1):struct1(2),struct1(3):struct1(4),struct1(5):struct1(6)) = 1
```

```
mask_struct1 = logical(mask_struct1)
```

donde *numSlices* será el número de páginas en las que se visualiza la sustancia nigra para cada paciente.

Como se mencionó anteriormente, se aplicará la máscara sobre la segmentación resultante de la aplicación de la ROI rectangular por medio del operador lógico AND:

```
segPrev = mask_struct1 & Seg
```

En la primera iteración se guardará el valor de la segmentación derecha, para en la segunda combinarla con la izquierda y obtener así la segmentación final:

Iteración1  $\rightarrow$  segFin = segPrev(región derecha)  
 Iteración2  $\rightarrow$  segFin = segFin<región derecha<> || segPrev<región izquierda>)

El resultado del proceso de segmentación sera el siguiente:

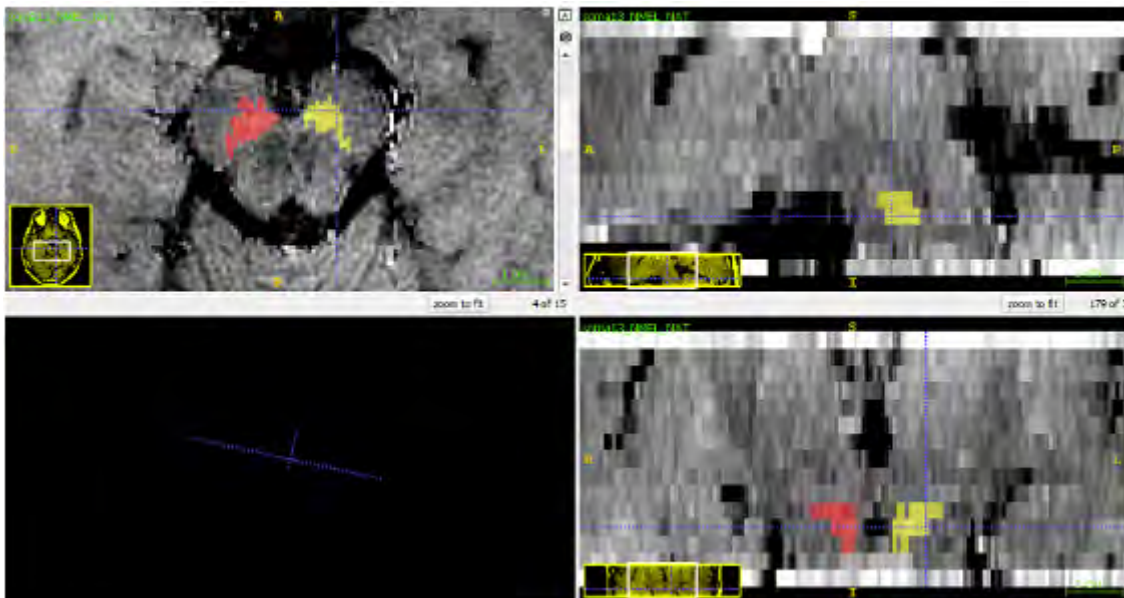


Figura 4.23: Segmentación de la SN en imágenes T1 sensibles a la neuromelanina.

Por último se construirá una matriz, de las mismas dimensiones que la matriz de intensidad de la imagen original, que contenga la segmentación resultante y se guardará el resultado en formato NIfTI mediante la función *saveNifti*:

```
saveNifti(single(slice_segFIN),refSp,refOr,refDir,refDim,path,'float32')
```

donde *path* será la ruta en la que se guarde la segmentación en formato NIfTI y *slice\_segFIN* será la matriz de intensidad de la segmentación final . La información del encabezado con la que se creará la imagen, será la misma que la de la imagen T1 NM original.

La segmentación resultante será posteriormente revisada, y en caso de que queden voxels residuales, se eliminarán manualmente.

### Obtención de los voxels más hiperintensos dentro de la ROI de la sustancia nigra (SN)

La obtención de estos voxels específicos se realizará con motivo de los resultados mostrados en [2], donde se reporta un mayor poder discriminativo de los voxels más hiperintensos localizados dentro de la SN que con la totalidad de la estructura. El método propuesto para obtener estos voxels esta basado en el cálculo de un supra-umbral, pero en el propio artículo no aparece de forma específica como calcularlo.

Por esta razón anteriormente mencionada, se recurrió a una variante del método propuesto en [27] para el cálculo de los voxels más hiperintensos localizados dentro de la SN, que se resume en los siguientes pasos:

1. Segmentación manual del tronco encefálico (MT), que actuará como ROI de background, en aquellos slices en los que se visualice la SN.
2. Cálculo de los valores de barrera para llevar a cabo la umbralización de los slices en los que se visualice la SN (para cada slice se obtendrá un valor umbral distinto). La expresión utilizada para obtener estos valores es:

$$THR = MEAN_{BG} + \beta * SD_{BG} \quad (4.4)$$

donde  $MEAN_{BG}$  y  $SD_{BG}$  son el promedio y la desviación estándar de la intensidad en la región de background del slice correspondiente. Al igual que en métodos realizados anteriormente, el multiplicador de la desviación estándar ( $\beta$ ) será un valor variable entre 1.5 y 3 con paso de 0.01 obteniéndose 150 segmentaciones para cada imagen.

3. Aplicación de las ROIs de la SN obtenidas en la sección anterior para eliminar los voxels no pertenecientes a la sustancia nigra en las segmentaciones obtenidas tras aplicar los umbrales calculados en el paso anterior.
4. Cálculo del volumen de las segmentaciones obtenidas para los sujetos control con cada uno de los valores de  $\beta$ .

De todos los  $\beta$  evaluados, se seleccionará aquel que haga que el volumen de voxels hiperintensos en los sujetos control se encuentre dentro del rango de valores dado en [27],  $112,8mm^3 \pm 46,1$ . Este intervalo fue obtenido como resultado de ajustar los valores de volumetría media de los sujetos control de tres grupos de imágenes distintas al valor medio de la sustancia nigra pars compacta en sujetos control obtenido en un estudio de volumetría post-mortem.

La volumetría asociada a las segmentaciones obtenidas mediante el primer valor de  $\beta$  que cumpla la condición, será evaluada como posible marcador diferencial de la enfermedad del Parkinson.

A continuación se mostrará una imagen donde se reflejan todas las ROIs necesarias para obtener la segmentación de los voxels hiperintensos:

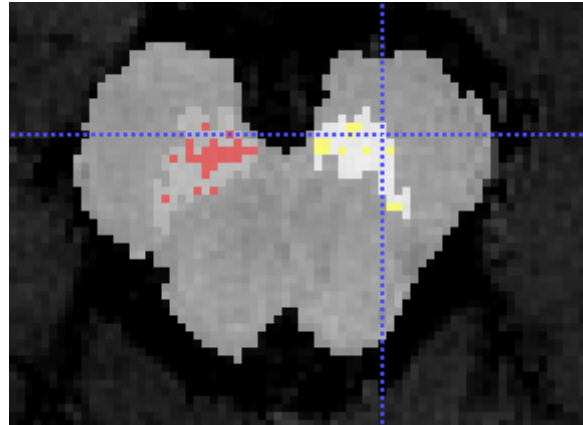


Figura 4.24: Esquema de segmentación. El etiquetado en tonos grises se corresponde con las ROIs utilizadas en el proceso de segmentación.

El código implementado para obtener los voxels más hiperintensos dentro de la nigra se recoge en el script *getVolHU.m* de la demo.

### **getVolHU.m**

Las carpetas utilizadas como input y output en este script son las siguientes:

- **ATLAS\_NATIVO:** Subdirectorio dentro de la carpeta ATLAS que contendrá las imágenes T1 sensibles a la neuromelanina y las segmentaciones de la sustancia nigra en el espacio nativo.
- **ROIs:** Carpeta que contendrá las segmentaciones del tronco encefálico en el espacio nativo.
- **Output:** Carpeta en la que se guardarán los voxels segmentados tras la aplicación del hiperumbral.

Las funciones utilizadas ya han sido descritas en scripts anteriores, pero igualmente serán incluidas en la documentación de éste:

- *MedicalVolumeLoaderITKMEX*: MEX function utilizada para obtener la matriz de intensidad de una imagen en el sistema operativo Windows.
- *zeros*: Función de MATLAB que permitirá obtener una matriz de 0s.
- *saveNifti*: MEX function utilizada para guardar una matriz de intensidad como una imagen en formato NIfTI en el sistema operativo Windows.

A continuación se llevará a cabo la descripción paso por paso del script implementado para obtener los voxels más hiperintensos dentro de la sustancia nigra.

El primer paso será realizar la lectura de todas las imágenes involucradas en el desarrollo de este proceso, al igual que se viene haciendo en scripts anteriores:

```
[IMG,Sp,Or,Dir,Dim]=MedicalVolumeLoaderITKMEX(pIMG)
[ROI_MT,~,~,~,~]=MedicalVolumeLoaderITKMEX(pROI_MT)
[LAB,~,~,~,~]=MedicalVolumeLoaderITKMEX(pLAB)
```

donde  $pIMG$ ,  $pROI\_MT$  y  $pLAB$  son las rutas en las que se encuentra la imagen T1 NM, la segmentación del tronco encefálico que actuará como ROI de referencia y la segmentación de la sustancia nigra.  $IMG$ ,  $ROI\_MT$  y  $LAB$  serán las matrices de intensidad obtenidas tras aplicar la función *MedicalVolumeLoaderITKMEX*.  $Sp$ ,  $Or$ ,  $Dir$  y  $Dim$  serán el tamaño de voxel, origen de coordenadas, dirección y dimensiones de la imagen. Estos cuatro últimos parámetros serán obtenidos del encabezado de la imagen y posteriormente serán utilizados para guardar el resultado final en formato NIFTI.

El siguiente paso será convertir tanto la ROI de la sustancia nigra, como la del tronco encefálico en máscaras binarias:

```
ROI_MT = (ROI_MT == lab_ROI_MT)
LAB_LEFT = (LAB == lab_SN_left)
LAB_RIGHT = (LAB == lab_SN_right)
LAB = (LAB == lab_SN_left || LAB == lab_SN_right)
```

donde  $lab\_ROI\_MT$ ,  $lab\_SN\_left$  y  $lab\_SN\_right$  son los valores de etiquetado asociados al tronco encefálico, sustancia nigra izquierda y sustancia nigra derecha respectivamente.  $ROI\_MT$ ,  $LAB\_LEFT$ ,  $LAB\_RIGHT$  y  $LAB$  pasarán a ser máscaras binarias con 1s en las regiones etiquetadas con el valor al que se igualan las matrices de intensidad y 0s en el resto.

El siguiente paso será crear una matriz de ceros con las mismas dimensiones que la imagen original que se utilizará para almacenar la segmentación obtenida en el proceso de umbralización.

```
SEG = zeros(Dim(1),Dim(2),Dim(3))
```

A continuación, se implementará un bucle que recorrerá la totalidad de las páginas que forman la vista axial de la imagen original, y se irán extrayendo los slices correspondientes de la imagen T1 NM y de la máscara binaria del tronco encefálico:

```
IMG_SLICE = IMG(:, :, j)
ROI_MT_SLICE = ROI_MT(:, :, j)
```

Únicamente se llevará a cabo el proceso de umbralización en aquellos slices en los que se realizó la segmentación del tronco encefálico, ya que serán los slices en los que se visualiza la sustancia nigra. Por esta razón, dentro del bucle habrá una sentencia condicional que comprobará si en el slice evaluado se visualiza la sustancia nigra:

```
if(sum(ROI_MT_SLICE(:))) > 0
```

En aquellos slices que se cumpla la condición, se extraerá el valor de intensidad del tronco encefálico en la imagen original:

```
I_BG = IMG_SLICE(ROI_MT_SLICE)
```

Una vez extraídos los valores de intensidad, se procederá al cálculo de su valor medio y desviación estándar:

#### 4.3. OBTENCIÓN DE MARCADORES DESDE IMÁGENES PONDERADAS EN T1 SENSIBLES A LA NEUROMELANINA

$$\begin{aligned} \text{BG\_mean} &= \text{mean}(\text{I\_BG}(:)) \\ \text{SD\_BG} &= \text{std}(\text{I\_BG}(:)) \end{aligned}$$

Con estos datos disponibles, se podrá llevar a cabo el cálculo del valor de barrera y proceder a umbralizar el slice de la imagen T1 NM correspondiente:

$$\text{THR} = \text{BG\_mean} + z * \text{SD\_BG}$$

$$\text{SEG}(:, :, j) = \text{IMG\_SLICE} > \text{THR}$$

donde  $z$  será el valor que habrá que ajustar para que el volumen de voxels más hiperintensos de todos los sujetos control se encuentre dentro del intervalo dado.

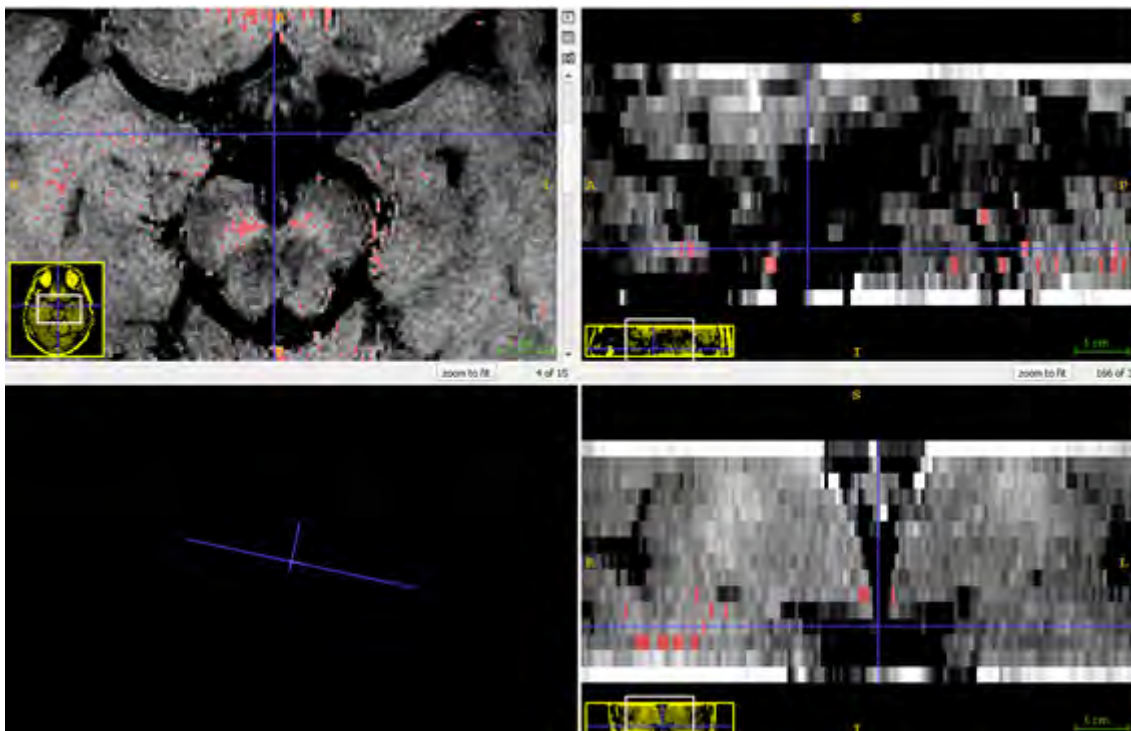


Figura 4.25: Segmentación obtenida tras la umbralización de las imágenes T1 sensibles a la neuromelanina.

Una vez que se haya obtenido, se aplicará a la segmentación resultante la máscara binaria de la sustancia nigra. Esto permitirá eliminar todos los voxels ajenos a la estructura, de manera que únicamente permanecerán etiquetados los que se encuentren dentro de la misma.

$$\text{SEG} = \text{SEG} \& \text{LAB}$$

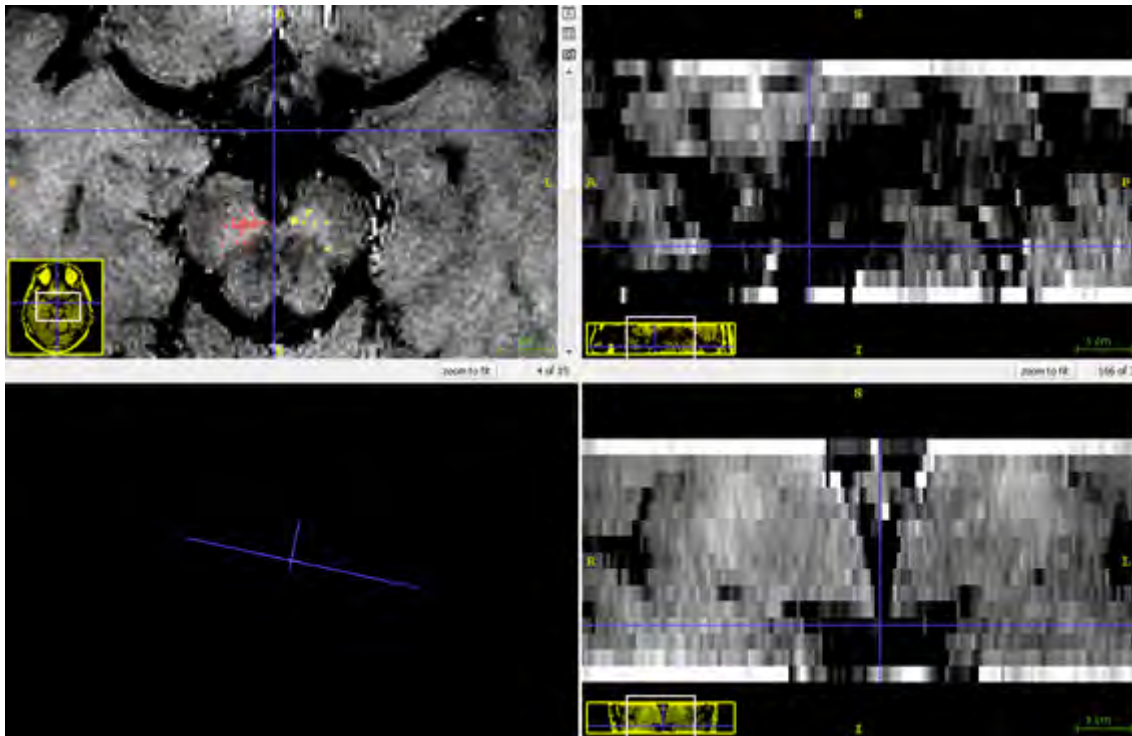


Figura 4.26: Segmentación de los voxels más hiperintensos dentro de la SN.

### Cálculo de la volumetría de la Sustancia Nigra (SN)

Al igual que en el trabajo con las imágenes T2, la volumetría de la SN y de sus voxels más hiperintensos se obtendrá calculando el número de voxels segmentados en cada caso y multiplicándolo por el tamaño de voxel. Los métodos de segmentación empleados se realizan en el espacio nativo, por lo que cada imagen puede tener un tamaño de voxel distinto. El valor de este parámetro se puede extraer fácilmente del encabezado de las imágenes NIfTI. El pseudocódigo para el cálculo del volumen se muestra a continuación:

---

#### Algorithm 8 CÁLCULO DE LA VOLUMETRÍA DE LA SN

---

**Require:** Segmentación SN y voxels más hiperintensos.

**Ensure:** Volumetría de las estructuras.

- 1: **for**  $i = 3$  hasta  $num.Suj$  **do**
  - 2: Lectura de las segmentaciones manuales (MedicalVolumeLoaderITKMEX)
  - 3: Obtención de matrices binarias con 1s en los voxels etiquetados como pertenecientes a la estructura evaluada y 0s en el resto (para ambas segmentaciones)
  - 4: Suma de los términos de las matrices obtenidas anteriormente para calcular el número de voxels de cada estructura (para ambas segmentaciones)
  - 5: Cálculo del volumen estructura deseada multiplicando el número de voxels por el tamaño de voxel.
  - 6: **end for**
- 

#### 4.3.2. Intensidad de señal en la Sustancia Nigra (SN)

El método que se utilizará para llevar a cabo el cálculo de la intensidad de señal en la sustancia nigra será ligeramente distinto al empleado con las imágenes T2. Al

igual que para el procedimiento mencionado, será necesario utilizar la segmentación de la SN y delinear la región con respecto a la cual referenciar la intensidad de la estructura. La segmentación de estas ROIs fue obtenida en el proceso de cálculo de la volumetría de la sustancia nigra desde imágenes T1 sensibles a la neuromelanina. A diferencia del cálculo realizado en las imágenes T2, en las imágenes T1 NM se calculará el contraste de cada uno de los voxels que forman la sustancia nigra con respecto a la ROI de referencia para posteriormente calcular su valor medio, siguiendo el proceso descrito en [12].

Cabe destacar que en contraposición a lo observado en las imágenes T2, en las imágenes T1 sensibles a la neuromelanina, la sustancia nigra presenta un carácter hiperintenso. Por tanto de aquí en adelante se referirá a este biomarcador como el *grado de hiperintensidad de la sustancia nigra respecto a una región de referencia*.

El cálculo de valor de la intensidad relativa se realizará por medio de la siguiente expresión:

$$g(x, y, z) = \frac{SN(x, y, z) - ROI_{mean}}{ROI_{mean}} \quad (4.5)$$

donde  $SN(x, y, z)$  de intensidad de señal en cada uno de los voxels de la SN,  $ROI_{mean}$  será el valor medio de la intensidad de señal en la ROI de referencia y  $g(x, y, z)$  será el grado de hiperintensidad de la sustancia nigra respecto al pedúnculo cerebral para cada voxel. El marcador vendrá dado por el valor medio de los resultados obtenidos en cada uno de los voxels.

A diferencia del grado de hipointensidad de la SN respecto a las ROIs de referencia medido en las imágenes T2, el resultado aquí obtenido no se presentará con el valor absoluto. Esto es debido a que la intensidad media de la SN siempre será mayor que la de las ROIs.

El siguiente pseudocódigo describe, brevemente, la funcionalidad de las líneas implementadas para la obtención de este marcador:

---

**Algorithm 9** CÁLCULO DEL GRADO DE HIPERINTENSIDAD DE LA SN RESPECTO A UNA ROI DE REFERENCIA

---

**Require:** Imagen T1 NM, segmentación manual del SN y ROI de referencia (todas localizadas en el mismo espacio).

**Ensure:** Grado de hiperintensidad de la SN respecto a la ROI de referencia.

- 1: **for**  $i = 3$  hasta  $num.Suj$  **do**
  - 2:   Lectura de imagen T1 NM y segmentaciones manuales (MedicalVolumeLoaderITKMEX)
  - 3:   Obtención de las intensidades en cada voxel de la SN y la intensidad media de la ROI de referencia en la imagen T1 NM
  - 4:   Cálculo del grado de hiperintensidad de la nigra
  - 5: **end for**
- 

## 4.4. Segmentación Automática basada en métodos Multi-Atlas

Como se ha comentado anteriormente en este trabajo, la segmentación automática de imágenes médicas es un proceso difícil de automatizar. Esto se debe a que

los criterios de segmentación no se basan únicamente en los valores de intensidad de las estructuras, sino que adicionalmente es necesario conocer la localización de las mismas. A este problema común para la segmentación de todas las estructuras cerebrales hay que sumarle las características morfológicas irregulares que presentan los núcleos del tronco encefálico [2], como es el caso de la sustancia nigra. Por estos motivos, la segmentación basada en multi-atlas es la mejor opción para automatizar el proceso de delineación ya que tiene en cuenta la variabilidad intersujeto, tanto espacial como morfológica, de las estructuras, lo que permitirá obtener segmentaciones fiables.

Los métodos basados en multi-atlas serán utilizados para llevar a cabo la segmentación automática de las ROIs que han sido delineadas de manera manual en la obtención de los marcadores. El uso de estas técnicas permitirá automatizar por completo la adquisición de los marcadores de la enfermedad propuestos en este trabajo.

El proceso de segmentación multi-atlas se resume en los siguientes pasos:

1. Construcción de los Atlas de la estructura a segmentar en un espacio común para todos los sujetos.
2. Selección de los Atlas contruidos que presentan mayor similitud con la imagen en la que se desea segmentar la estructura y registro no-rígido de éstos sobre la imagen a segmentar.
3. Obtención de la segmentación de la estructura deseada mediante métodos de fusión de etiquetas.

#### 4.4.1. Construcción de Atlas

En este trabajo se construirá una librería de atlas para todas aquellas ROIs que se deseen segmentar de manera automática. Cada atlas estará constituido por la región de la imagen que contiene la totalidad de la estructura de interés y la correspondiente segmentación “manual” de un sujeto. La subimagen antes mencionada proporcionará información sobre la posición de la estructura, mientras que las segmentaciones manuales recogerán las características morfológicas de la estructura en cada sujeto.

Uno de los objetivos de los atlas es proporcionar información acerca de la posición una estructura en un espacio determinado. Por tanto, el primer paso será realizar el registro afín de todas las imágenes cerebrales y segmentaciones manuales a un espacio común. Una vez registradas todas las segmentaciones manuales, la localización espacial de la combinación de todas ellas proporcionará información fiable sobre la posición exacta de la estructura en ese espacio concreto. Esta información se recogerá mediante la “caja delimitadora” más pequeña que contenga la combinación de todas las segmentaciones manuales. Esta “caja” se aplicará a las imágenes cerebrales originales, obteniéndose una subimagen que comprenderá exclusivamente la estructura y alguna zona próxima. El objetivo de crear esta subimagen es eliminar errores en el proceso de segmentación automática.

En base a lo comentado anteriormente se pueden observar dos fases claramente diferenciadas en el proceso de construcción de las librerías de atlas:

1. Registro afín de las imágenes cerebrales y segmentaciones a un espacio común.
2. Obtención y aplicación de la “caja delimitadora” más pequeña que contenga la estructura a segmentar.

A continuación se entrará más en detalle en el desarrollo de las dos etapas mencionadas.

### Registro afín de imágenes y segmentaciones a un espacio común

Los posibles espacios comunes barajados en este trabajo son los siguientes:

- Espacio estándar MNI-152.
- Espacio de uno de los sujetos disponibles.

Las imágenes ponderadas en T2 y las ponderadas en T1 sensibles a la neuromelanina poseen resoluciones totalmente distintas. Por esta razón, la elección del espacio común atenderá a cual de los dos casos es mejor para cada conjunto de imágenes.

#### *Espacio estándar MNI-152*

El caso del registro del espacio nativo de las imágenes T1 sensibles a la neuromelanina al espacio MNI-152 consta de las siguientes tres etapas:

- Transformación afín de imágenes T1 WHOLE BRAIN sobre la plantilla del espacio MNI152.
- Registro rígido de las imágenes T1 sensibles a la neuromelanina al espacio del T1 WHOLE BRAIN.
- Registro rígido de las imágenes T1 sensibles a la neuromelanina en el espacio del T1 estructural al espacio MNI-152.

El proceso de registro se describe brevemente mediante el siguiente pseudocódigo:

---

#### **Algorithm 10** REGISTRO DE IMÁGENES T1 NM AL ESPACIO MNI-152

---

**Require:** Imágenes T1 NM SLAB y T1 WHOLE BRAIN en espacio nativo del mismo sujeto.

**Ensure:** Imágenes T1 NM SLAB en espacio MNI-152.

- 1: **for**  $i = 3$  hasta  $numSuj$  **do**
  - 2:   %REGISTRO
  - 3:   Obtención de matriz de transformación afín para registrar del espacio nativo del T1 estructural al MNI-152 (Calculada en scripts anteriores)
  - 4:   Obtención del slab de T1 sensible a la neuromelanina en el espacio del T1 estructural (WarpImageMultiTransform -tightest-bounding-box -reslice-by-header)
  - 5:   Creación de una máscara binaria del slab anteriormente obtenido (fslmaths -bin)
  - 6:   Aplicación de la máscara al T1 estructural (fslmaths -mul)
  - 7:   Obtención de la matriz para el registro afín del slab de T1 sensible a la NM sobre el slab de T1 estructural obtenido en el paso anterior (ANTS)
  - 8:   Aplicación vía concatenación de las matrices de transformación afín para transformar el slab T1 NM de su espacio nativo al espacio MNI152 (WarpImageMultiTransform)
  - 9: **end for**
-

El esquema de registro de las imágenes T1 NM SLAB se puede observar en la siguiente imagen:

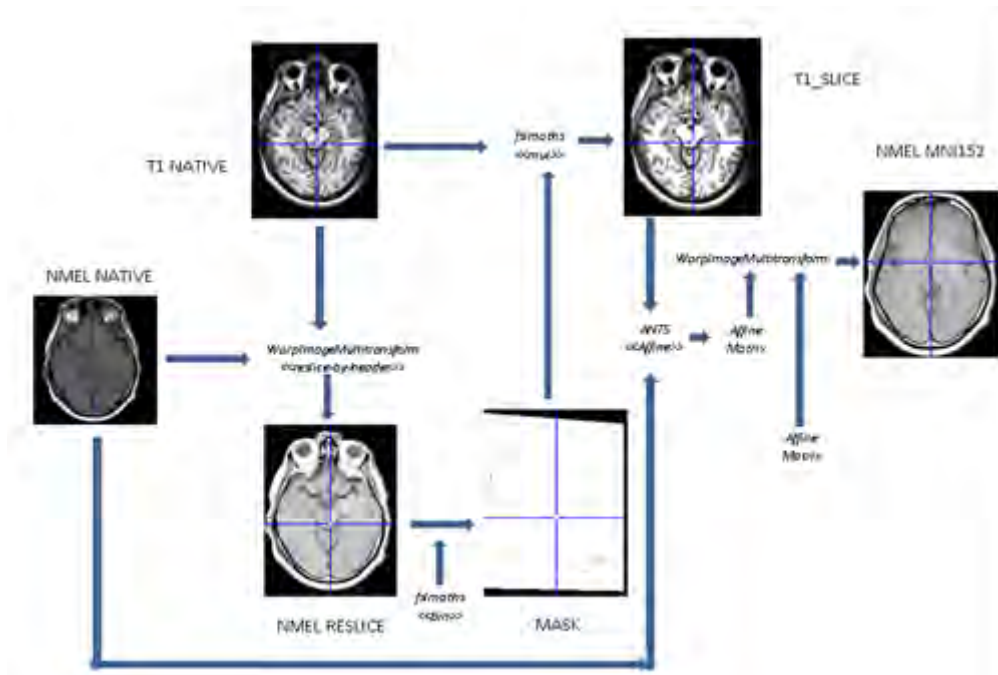


Figura 4.27: Esquema del registro T1 NM SLAB al espacio MNI152.

Al igual que se hizo en el caso de las imágenes T2, se realizará la documentación detallada del script en el que se implementará el registro de las imágenes T1 NM al espacio estándar MNI-152. El script en el que se recoge esta implementación se denomina *MNIreg.m*.

Previamente a describir las funciones utilizadas y los pasos que se realizan, se llevará a cabo una breve explicación de lo que contendrán cada una de las carpetas utilizadas:

- **Template:** Esta carpeta contendrá la plantilla del espacio estándar MNI151 en modalidad T1.
- **ATLAS\_NATIVO:** Esta carpeta contendrá las imágenes ponderadas en T1 sensibles a la neuromelanina de los pacientes una vez pre-procesadas y localizadas en el espacio nativo.
- **T1:** Esta carpeta contendrá las imágenes ponderadas en T1 del cerebro completo pre-procesadas y localizadas en el espacio nativo.
- **Transformaciones:** Esta carpeta contendrá las matrices de transformación afín para realizar el registro desde espacio nativo de las imágenes T1 al espacio estándar MNI152
- **Registro:** En este directorio se guardarán las imágenes resultantes del proceso de registro y aquellos archivos necesarios para llevarlo a cabo.

Las funciones que se utilizarán para llevar a cabo la implementación de este proceso son las siguientes:

- *ANTS*: Función de ANTS que generará las matrices de transformación y campos de deformación necesarios (en función del tipo de registro que se aplique) para realizar el registro sobre un determinado espacio de coordenadas.
- *WarpImageMultiTransform*: Función de ANTS que se aplicará con dos finalidades:
  - Aplicar, vía concatenación, un número ilimitado de transformaciones a una imagen, ya sean afines, rígidas o deformaciones (transformaciones no lineales). Esta función se utilizará para trasladar una imagen de un espacio de coordenadas a otro.
  - Re-construir una imagen existente en base a los datos del encabezado de una referencia. En este caso la función debe tener como parámetro “*-reslice-by-header*”
- *fslmaths*: Función de FSL que se aplicará con dos finalidades:
  - Construir la máscara binaria de una imagen cerebral. Para emplear esta finalidad, la función tiene que tener como parámetro “*-bin*”.
  - Aplicar una máscara binaria a una imagen. Para emplear esta finalidad, la función tiene que tener como parámetro “*-mul*”.

Una vez descritas las funciones que se utilizarán para el desarrollo del script y las carpetas que contendrán los inputs y outputs, se procederá a realizar una descripción detallada del proceso de registro de las imágenes de modalidad T1 sensibles a la neuromelanina al espacio MNI152.

Anteriormente, en este trabajo se describió como obtener la matriz de transformación afín del espacio nativo de las imágenes T1 al espacio MNI-152. Por tanto se utilizará de nuevo estas matrices de transformación afín calculadas anteriormente. De esta manera, únicamente quedará obtener la matriz de transformación que permita llevar las imágenes T1 sensibles a la neuromelanina al espacio nativo de las imágenes T1. Una vez obtenidas estas dos matrices, serán aplicadas sobre las imágenes T1 NM slab originales para llevarlas al espacio MNI152.

El proceso para obtener la matriz de transformación para pasar del espacio nativo del T1 NM SLAB al del T1 de cerebro completo presenta cierta complejidad. Esto se debe a que a pesar de ser dos imágenes ponderadas en T1 las estructuras cerebrales aparecen reflejadas de forma muy distinta en cada una de ellas.

Debido a que no existirá ningún tipo de relación (desde el punto de vista de intensidad) entre las dos imágenes, será imposible registrar el SLAB de T1 sensible a la neuromelanina sobre la imagen T1 del cerebro completo de manera directa. El procedimiento que se llevará a cabo para solucionar este problema será extraer el SLAB de la imagen T1 que se corresponda con la región del SLAB de T1 NM y, posteriormente registrar el SLAB de T1 NM original sobre este nuevo SLAB de T1 adquirido.

El primer paso para obtener el SLAB de T1 será reconstruir el SLAB de T1 NM en base a los parámetros del encabezado de la imagen T1 del cerebro completo del mismo paciente:

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

- *n*: Número de dimensiones de las imágenes con las que se trabaja. Para el caso de imágenes de resonancia magnética este valor será 3.
- *input*: Ruta de la imagen T1 NM SLAB original.
- *output*: Ruta en la que se guardará el T1 NM SLAB reconstruido en base a la referencia.
- *referencia*: Ruta de la imagen T1 del cerebro completo que se toma como referencia para realizar el nuevo T1 NM SLAB.

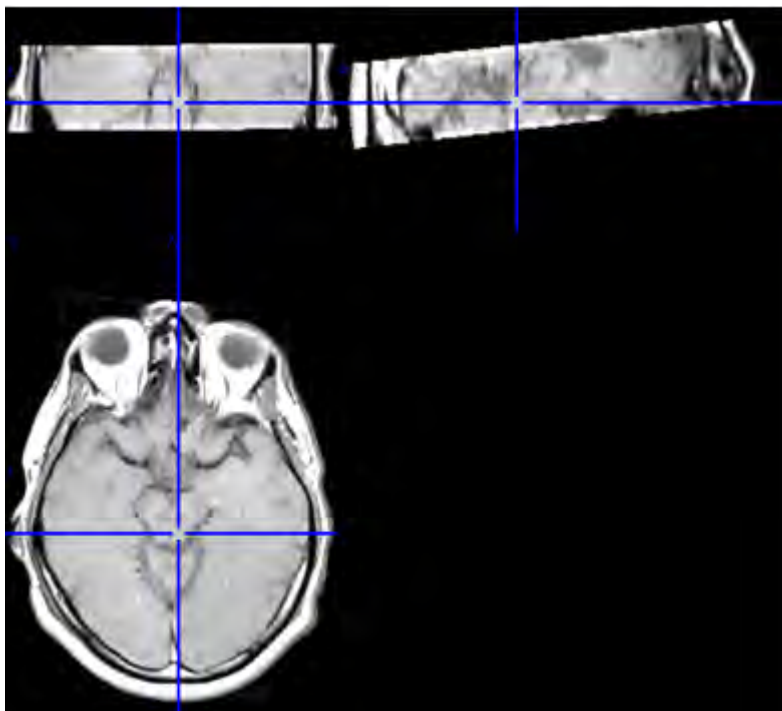


Figura 4.28: Imagen T1 NM SLAB reconstruido según los parámetros del encabezado de la imagen T1 en el espacio nativo.

El siguiente paso será crear una máscara binaria del SLAB obtenido y aplicarla sobre la imagen T1 del cerebro completo con cráneo.

La creación de la máscara se llevará a cabo con la función *fslmaths* de la siguiente manera:

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

- *input*: Ruta en la que se encuentra la imagen que se utilizará para crear la máscara.
- *output*: Ruta en la que se encontrará la máscara creada.

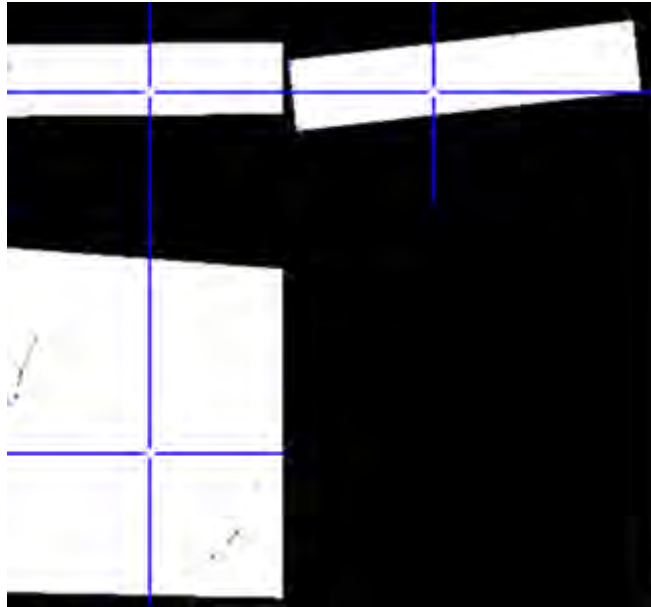


Figura 4.29: Máscara del T1 NM SLAB reconstruido.

La aplicación de la máscara sobre la imagen T1 del cerebro completo también se llevará a cabo mediante la función *fslmaths*:

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

- *input*: Ruta en la que se encuentra la imagen T1 del cerebro completo con cráneo original.
- *mask*: Ruta en la que se encuentra la máscara obtenida en el paso anterior.
- *output*: Ruta en la que se guardará el SLAB de T1 una vez aplicada la máscara.

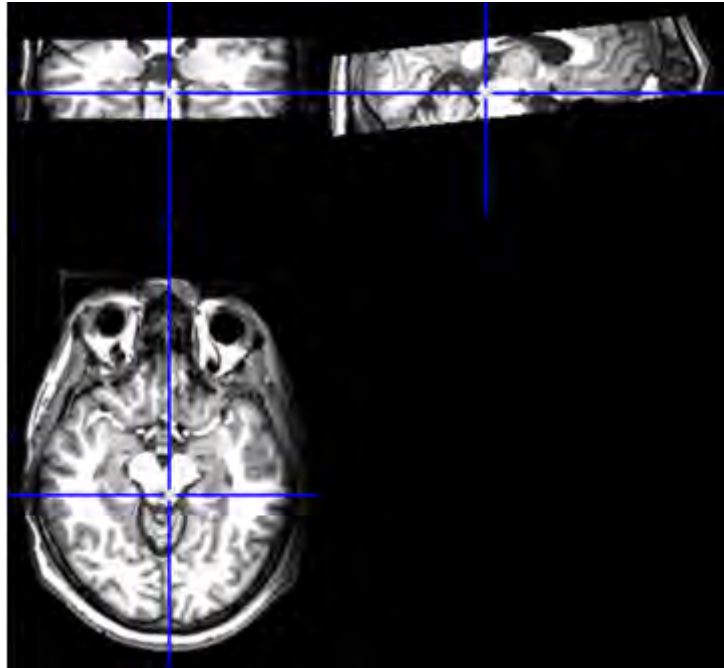


Figura 4.30: T1 SLAB creado

Una vez adquirido el SLAB de T1 ya se dispondrá de todo lo necesario para obtener la matriz de transformación afín para pasar del espacio de coordenadas nativo del SLAB de T1 NM al del T1 estructural:

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

- *m*: Medida de consistencia del registro. Para este caso se ha seleccionado la correlación cruzada (CC) al ser la imagen a registrar (*input*) y la imagen sobre la que se realiza el registro (*referencia*) de la misma modalidad. La imagen *input* será el SLAB de T1 NM en el espacio nativo y la imagen *referencia* será el slab de T1 correspondiente a la misma región. Los valores de los parámetros *weight* y *radius* se mantienen con los valores reflejados en el tutorial de ANTs.
- *i*: Al tener valor 0 indica que es una transformación afín.
- *output*: Ruta en la que se guardará la matriz de transformación afín del espacio nativo de las imágenes T1 NM SLAB al espacio nativo de las T1 del cerebro completo.

Finalmente, tras haber conseguido las matrices de transformación necesarias, se aplicarán ambas sobre los SLAB de T1 NM originales para registrarlos al espacio MNI-152 por medio de la función *WarpImageMultiTransform*:

```
WarpImageMultiTransform 3 <input> <output> -R<referencia>
<transformaciones>
```

- *input*: Ruta en la que se encuentra la imagen T1 NM a registrar
- *output*: Ruta en la que se guardará la imagen T1 NM ya registrada sobre el espacio MNI-152.

- *referencia*: Imagen que se toma como referencia a la hora de hacer el registro. En este caso será la imagen ponderada en T1 del cerebro completo en el espacio MNI-152 obtenida anteriormente.
- *transformaciones*: Serie de transformaciones concatenadas que se aplicarán a la imagen T1 NM SLAB original. Primero se aplicará la matriz de transformación afín para registrarla en el espacio de la imagen T1 original y luego se aplicará la matriz de transformación afín que la registrará en el espacio MNI-152.

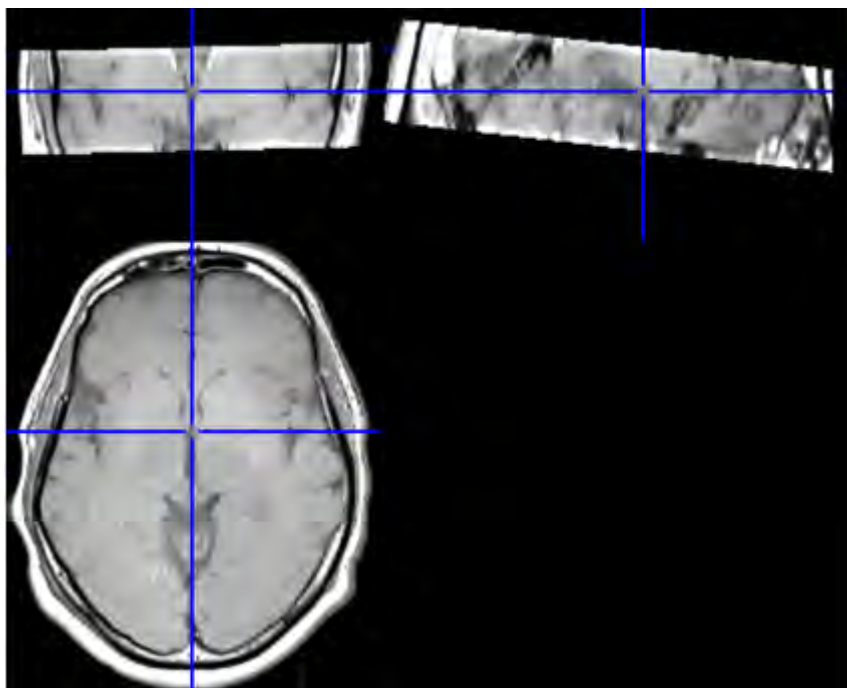


Figura 4.31: Imagen T1 NM SLAB en el espacio estándar MNI152.

#### *Espacio de un sujeto*

El registro de las imágenes al espacio de uno de los sujetos es mucho más sencillo que el proceso de registro al espacio MNI-152. Esto se debe principalmente a que tanto la imagen que se utiliza a modo de plantilla, como la imagen que se registra son de la misma modalidad y recogen la misma región del cerebral.

La complejidad de este proceso consiste en determinar cual de los sujetos actuará como plantilla. El criterio elegido en este trabajo para llevar a cabo la selección será la similitud, que será medida mediante la información mutua (MI). Para evaluar el valor de la MI entre dos imágenes será necesario registrarlas a un espacio común ya que debe coincidir el número de voxels de las imágenes evaluadas. Por esta razón, se registrarán todas al espacio MNI-152.

Una vez registradas, se elegirá cada vez una imagen y se comparará con el resto para medir su similitud. Se calculará el promedio, para cada imagen, de todos los valores de MI obtenidos, y aquella que presente mayor valor medio será seleccionada como plantilla.

Aunque la plantilla se haya obtenido trabajando con imágenes registradas en el espacio MNI-152, el registro de las imágenes cerebrales y segmentaciones para la construcción de los atlas se realizará sobre la plantilla en su espacio nativo.

A continuación se recoge el pseudocódigo utilizado para llevar a cabo el registro sobre la plantilla, que como se observará es mucho más sencillo que el resto de procedimientos de registro empleados:

---

**Algorithm 11** REGISTRO DE IMÁGENES T1 NM AL ESPACIO DE UN SUJETO
 

---

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

**Ensure:** Imágenes T1 NM SLAB en el espacio del sujeto plantilla.

- 1: **for**  $i = 3$  hasta  $numSuj$  **do**
  - 2:   %REGISTRO
  - 3:   Obtención de matriz de transformación afín para registrar del espacio nativo del T1 NM a la imagen T1 NM seleccionada como plantilla (ANTS)
  - 4:   Aplicación vía concatenación de las matrices de transformación rígida para transformar el SLAB T1 NM de su espacio nativo al espacio de la plantilla (WarpImageMultiTransform)
  - 5: **end for**
- 

### Obtención y aplicación de la “caja delimitadora”

Como se comentó anteriormente la llamada caja delimitadora proporcionará información precisa sobre la posición de una estructura en el espacio en que se calcule. La obtención de esta caja es un proceso bastante sencillo de implementar que a grandes rasgos se resume en dos pasos:

1. Combinación de todas las segmentaciones de la estructura de interés por medio de la OR lógica.
2. Cálculo de la caja delimitadora más pequeña que contenga la OR lógica anteriormente calculada.

En el siguiente paso se recogen los pasos seguidos para construir la caja delimitadora de una manera más detallada:

---

**Algorithm 12** CONSTRUCCIÓN DE LOS ATLAS
 

---

**Require:** Imagen T2 SLAB y segmentación de cada sujeto o imagen T1 NM SLAB y segmentación de cada sujeto.

**Ensure:** Caja delimitadora de la estructura de interés.

- 1: % CREACIÓN DE UNA MÁSCARA BINARIA DE LA ESTRUCTURA DE INTERÉS
  - 2: **for**  $i = 3$  hasta  $numSuj$  **do**
  - 3:   Lectura de las segmentaciones manuales (MedicalVolumeLoaderITKMEX)
  - 4:   OR de la región izquierda y derecha de las segmentación del sujeto actual con los evaluados anteriormente.
  - 5: **end for**
  - 6:
  - 7: % CREACIÓN DE LA CAJA DELIMITADORA
  - 8: Dilatación de las máscaras obtenidas (imdilate)
  - 9: Obtención de los parámetros definitorios de las cajas delimitadoras más pequeñas que contengan la estructura izquierda y derecha (regionprops –BoundingBox)
  - 10: Construcción de las ROIs a partir de los parámetros obtenidos.
-

Una vez calculada la caja delimitadora, ésta se aplicará sobre cada imagen original, completándose así el proceso de construcción de los atlas.

Dado que se trata de un subproceso muy importante dentro de la segmentación multi-atlas, se procederá a describir de manera detallada el procedimiento de construcción de los atlas. La explicación se realizará para el caso de imágenes T2, ya que al ser similar al de las imágenes T1 NM, es indiferente cual elegir.

La implementación de este proceso se recogerá en el script de la demo denominado *buildingAtlases.m*. En este script las carpetas utilizadas como entradas serán las siguientes:

- **Atlas\_JD:** Dentro de esta carpeta se encuentra un subdirectorío para cada paciente. Estas subcarpetas contendrán la segmentación manual de las estructuras de interés y la imagen T2 de la que se ha obtenido la segmentación. Ambos archivos se encontrarán registrados afínmente sobre un espacio común a todos los atlas, el espacio estándar MNI-152.

Los parámetros de salida serán las siguientes:

- **listAffineRegion:** Vector de estructuras de tamaño  $1 \times N$ , donde  $N$  es el número de atlas. Cada una de las estructuras contenidas en el vector consta de cuatro campos que constituirán el atlas de cada soma:
  - **label\_lh:** Contendrá la imagen de la segmentación manual delimitada por la región de interés izquierda. Corresponderá a la sustancia nigra y subtálamo izquierdos.
  - **T2\_lh:** Contendrá la imagen T2 slab delimitada por la región de interés izquierda. Corresponderá a la zona de la imagen T2 en la que se encuentran la sustancia nigra y subtálamo izquierdos.
  - **label\_rh:** Contendrá la imagen de la segmentación manual delimitada por la región de interés derecha. Corresponderá a la sustancia nigra y subtálamo derechos.
  - **T2\_rh:** Contendrá la imagen T2 slab delimitada por la región de interés derecha. Corresponderá a la zona del T2 en la que se encuentran la sustancia nigra y subtálamo derechos.
- **ROI\_lh:** Vector que contiene los slices que delimitan la región de interés izquierda.
- **ROI\_rh:** Vector que contiene los slices que delimitan la región de interés derecha.

## FUNCIONES

Las funciones utilizadas en este script son:

1. **MedicalVolumeLoaderITKMEX:** MEX function utilizada para obtener la matriz de intensidad de una imagen en el sistema operativo Windows.

2. `imdilate`: Función de Matlab que se utiliza para dilatar una imagen binaria según un elemento estructurador morfológico plano (definido mediante la función `strel`).
3. `regionprops`: Función de Matlab que permite medir las propiedades de una región de la imagen. Se utilizará para determinar una primera estimación de las ROIs (Regions of Interest).

## DESCRIPCIÓN

El objetivo de este script es construir los atlas que serán utilizados en el proceso de segmentación multiatlas.

El primer paso será delimitar las regiones en las que se encuentran las estructuras que se desean incluir en los atlas. Para conseguir una primera estimación de las ROIs se utilizarán las segmentaciones manuales.

Un primer pensamiento podría ser utilizar una única segmentación para estimar las ROIs. Ésto daría lugar a errores puesto que todos los cerebros presentan diferencias en la localización, forma y tamaño de las estructuras. Se obtendrían unas ROIs que podrían comprender la totalidad de las estructuras de interés para ciertos somas, mientras que para otras serían erróneas. Debido a estas diferencias anatómicas, se utilizará el resultado de la OR lógica de todas las segmentaciones manuales disponibles para estimar las ROIs.

El primer será obtener la matriz de intensidades de la segmentación manual por medio de la función `MedicalVolumeLoaderITKMEX`:

```
[labels,~,~,~,~]=MedicalVolumeLoaderITKMEX(<path manual seg>)
```

Mediante la evaluación de la segmentación manual del primer paciente se crearán los vectores lógicos `spam_lh` y `spam_rh`. Estos arrays contendrán inicialmente la OR lógica de la sustancia nigra y subtalamo izquierdo, y la de la sustancia nigra y subtalamo derecho respectivamente del primer paciente evaluado.

```
spam_lh = labels==<Etiqueta SN_left> | labels==<Etiqueta STh_left>
spam_rh = labels==<Etiqueta SN_right> | labels==<Etiqueta STh_right>
```

donde `labels` corresponde a la matriz de intensidades de la segmentación manual del primer sujeto.

Posteriormente, a medida que se van evaluando las siguientes segmentaciones el valor de los vectores lógicos `spam_lh` y `spam_rh` se irá modificando tomando como valor la OR lógica entre la segmentación correspondiente y el valor guardado en los vectores tras la evaluación del sujeto anterior.

```
spam_lh = spam_lh | labels==<Et SN_left> | labels==<Et STh_left>
spam_rh = spam_rh | labels==<Et SN_right> | labels==<Et STh_right>
```

donde *labels* corresponde a la matriz de intensidades de la segmentación manual del soma que se este evaluando.

Una vez evaluados todos los somas, los vectores *spam\_lh* y *spam\_rh* guardarán la OR lógica de las segmentaciones izquierda y derecha de todos los somas.

Debido al cálculo de la OR y a que las segmentaciones manuales no son perfectas se llevará a cabo una dilatación de las estructuras almacenadas en *spam\_lh* y *spam\_rh* mediante la función *imdilate*. El objetivo de esta operación es conseguir que las estructuras sean totalmente continuas y anular el efecto de posibles segmentaciones manuales en las que no se segmentara la totalidad de los voxels de las estructuras.

```
maskSPAM_lh = imdilate(spam_lh >0,strel('disk',5))
maskSPAM_rh = imdilate(spam_rh >0,strel('disk',5))
```

Como elemento dilatador se ha utilizado un disco de radio 5. Por tanto, todos aquellos voxels que se encuentren dentro del disco trazado desde cualquier voxel perteneciente a la estructura se incluirán en ella. La estructura resultante se almacenará en las variables *maskSPAM*.

Tras estos pasos previos, se iniciará el cálculo de las ROIs izquierda y derecha de las estructuras. Para llevar a cabo esta operación, se utilizará la función *regionprops*. Con ella se calcularán los parámetros de las cajas delimitadoras más pequeñas (*BoundingBox*) que contengan a las estructuras izquierda y derecha.

```
featRegions_lh = regionprops(bwlabeln(maskSPAM_lh),'BoundingBox')
featRegions_rh = regionprops(bwlabeln(maskSPAM_rh),'BoundingBox')
```

*featRegions\_lh* y *featRegion\_rh* serán unas estructuras que poseerán un campo llamado *BoundingBox*. Este campo será un vector de seis elementos (2 x Dimensión de la imagen) con los parámetros definitorios de la caja: [lim\_izquierdo, lim\_inferior, lim\_fondo, ancho, alto, profundidad].

```
bound_Region_lh = featRegions_lh(1).BoundingBox;
bound_Region_rh = featRegions_rh(1).BoundingBox;
```

Las ROIs creadas a partir de estos parámetros deberían comprender la totalidad de la sustancia nigra y subtálamo de cualquier sujeto en el espacio MNI-152. Una forma de comprobar dicha suposición sería aplicar las ROIs sobre las plantillas de Keuken ya que son considerados como la mejor aproximación de la localización de la nigra. Si las ROIs comprenden la totalidad de los atlas de Keuken significará que las ROIs obtenidos son fiables para la sustancia nigra. Si se da el caso contrario habrá que añadir una variable *offset* para corregir las ROIs.

Se ha comprobado que las ROIs creadas mediante los parámetros obtenidos de la función *regionprops* no comprenden la totalidad de la sustancia nigra. Tras varias evaluaciones de prueba y error se ha comprobado que el valor de *offset* necesario será de 5. Una vez obtenido este valor, se procederá a construir las cajas delimitadoras más pequeñas que contendrán las estructuras de interés:

- **ROI izquierda:**

```
ROI_lh=[ceil(bound_Region_lh(2))-offset,ceil(bound_Region_lh(2)+
bound_Region_lh(5))+offset,ceil(bound_Region_lh(1))-offset,
ceil(bound_Region_lh(1)+bound_Region_lh(4))+offset,
ceil(bound_Region_lh(3))-offset,ceil(bound_Region_lh(3)+
bound_Region_lh(6))+offset];
```

- **ROI derecha:**

```
ROI_rh=[ceil(bound_Region_rh(2))-offset,ceil(bound_Region_rh(2)+
bound_Region_rh(5))+offset,ceil(bound_Region_rh(1))-offset,
ceil(bound_Region_rh(1)+bound_Region_rh(4))+offset,
ceil(bound_Region_rh(3))-offset,ceil(bound_Region_rh(3)+
bound_Region_rh(6))+offset];
```

*ROI\_rh* y *ROI\_lh* contendrán las ROIs izquierda y derecha del subtálamo y la sustancia nigra.

El último paso será aplicar las ROIs sobre las imágenes T2 SLAB y segmentaciones de todos los sujetos para obtener los distintos atlas.

- **IMÁGENES T2 SLAB**

La obtención de las matrices de intensidad de las imágenes T2 SLAB se llevará a cabo mediante la función *MedicalVolumeLoaderITKMEX*:

```
[img,~,~,~,~]=MedicalVolumeLoaderITKMEX(<path imagen T2>)
```

El siguiente paso será aplicar las ROIs sobre la matriz de intensidad de la imagen. Al aplicar la ROI derecha se obtendrá una submatriz formada por los valores de intensidad de la imagen original contenidos dentro de la ROI. Será equivalente al aplicar la ROI izquierda.

- **ROI IZQUIERDA**

```
listAffineRegion(i).T2_lh=img(ROI_lh(1):ROI_lh(2),
ROI_lh(3):ROI_lh(4),ROI_lh(5):ROI_lh(6))
```

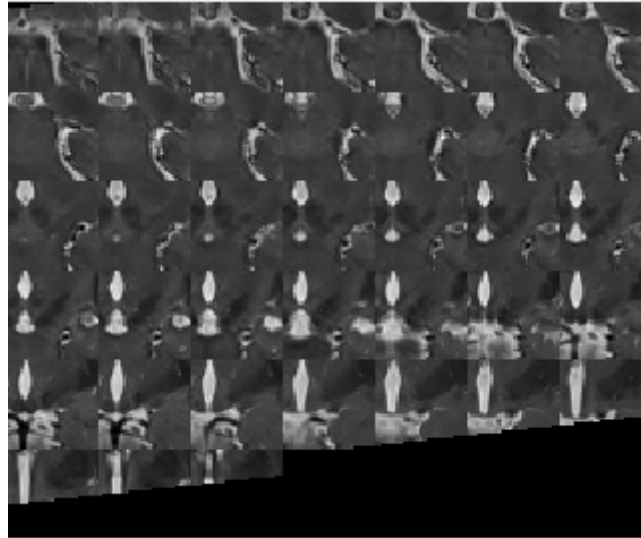


Figura 4.32: Resultado de la aplicación de la caja delimitadora izquierda sobre la imagen.

- ROI DERECHA

```
listAffineRegion(i).T2_rh=img(ROI_rh(1):ROI_rh(2),  
ROI_rh(3):ROI_rh(4),ROI_rh(5):ROI_rh(6))
```

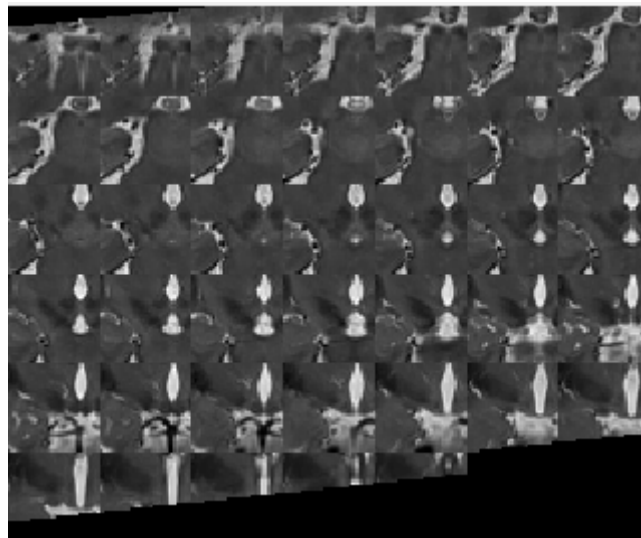


Figura 4.33: Resultado de la aplicación de la caja delimitadora derecha sobre la imagen.

- **SEGMENTACIONES MANUALES**

La lectura de las segmentaciones manuales se llevará a cabo mediante la función *MedicalVolumeLoaderITKMEX*:

```
[img,~,~,~,~]=MedicalVolumeLoaderITKMEX(<path seg man>)
```

El siguiente paso será aplicar las ROIs sobre la matriz de intensidad de la segmentación. Al aplicar la ROI derecha se obtendrá una submatriz formada por los valores de intensidad de la segmentación original contenidos dentro de la ROI. Será equivalente al aplicar la ROI izquierda.

- ROI IZQUIERDA

```
listAffineRegion(i).label_lh=img(ROI_lh(1):ROI_lh(2),  
ROI_lh(3):ROI_lh(4),ROI_lh(5):ROI_lh(6))
```



Figura 4.34: Resultado de la aplicación de la caja delimitadora izquierda sobre la segmentación manual.

- ROI DERECHA

```
listAffineRegion(i).label_rh=img(ROI_rh(1):ROI_rh(2),  
ROI_rh(3):ROI_rh(4),ROI_rh(5):ROI_rh(6))
```



Figura 4.35: Resultado de la aplicación de la caja delimitadora derecha sobre la segmentación manual.

#### 4.4.2. Selección de los N mejores Atlas y Registro no-rígido

Una vez construidos los atlas, se podría pensar que el siguiente paso sería proceder directamente a la segmentación automática de una imagen objetivo mediante los métodos de fusión de etiquetas. Pero, antes de esto, será necesario seleccionar, de entre toda la librería de atlas, únicamente aquellos que aporten más información en el proceso de segmentación del objetivo. Como ya se ha hecho anteriormente en este trabajo, se utilizará como criterio de selección la similitud y por tanto la información mutua.

Se aplicará la caja delimitadora a la imagen objetivo, para así poder realizar el cálculo de la MI de ésta con cada uno de los atlas. De esta manera, se tendrá en cuenta únicamente la similitud en la región que comprende la estructura en el proceso de selección de atlas. La evaluación, únicamente, de esta región, evitará la elección de atlas que pudieran presentar una buena similitud global con la imagen objetivo pero no en la región de interés en particular, lo cual conduciría a que la calidad del resultado de la segmentación automática disminuyera.

Por último, los N mejores atlas seleccionados serán registrados de manera no rígida sobre la imagen objetivo utilizando el paquete Elastix [11]. El registro de las etiquetas se llevará a cabo propagando el archivo de transformación obtenido en el registro de las imágenes, pero previamente se les aplicará una modificación: Las segmentaciones se representarán mediante un modelo basado en el logaritmo de odds (LogOdds). Esta representación reemplaza el etiquetado por las distancias con signo de cada voxel a la estructura de interés, que son asumidas como positivas dentro de la misma.

Otro de los motivos por los que se hace una selección de los mejores atlas es el elevado tiempo computacional que se requiere para el registro no-rígido. Con la pre-selección se evita aumentar la duración del proceso de segmentación debido al

registro no-rígido de aquellos atlas que se prevé que no aportarán información relevante.

Las funciones anteriormente descritas se encontraban ya implementadas dentro de la demo que contiene los métodos de fusión de etiquetas [25], y por tanto, al no ser un trabajo propio y no realizarse ninguna modificación respecto al código original no se llevará a cabo la documentación de estas líneas.

## 4.5. Fusión de Etiquetas

Como ya se comentó anteriormente los distintos métodos de fusión de etiquetas no constituyen un trabajo propio, sino que se implementarán por medio de la demo recogida en [25]. Así, se tratarán de describir los conocimientos básicos necesarios para entender los métodos de fusión de etiquetas utilizados en la demo:

- Votación por mayoría.
- Votación ponderada.
- Etiquetado basado en patches (Patch labeling) [25].
- Segmentación discriminativa [28].
- Patch Match [1] [6]

En caso de dudas con lo descrito en esta sección, se recomienda acudir directamente a la bibliografía original. Aunque en este trabajo únicamente se describirán cinco métodos, la demo [25] estará compuesta por siete ya que también incluye métodos basados en la combinación de los aquí descritos.

Por último, cabe destacar que en los métodos de fusión de etiquetas descritos en las siguientes páginas, el problema de segmentación de  $N$  etiquetas se descompondrá en  $N-1$  problemas de etiquetado binario (1 para los voxels que pertenezcan a la estructura y 0 para el resto).

### 4.5.1. Votación por mayoría

En este método, el valor de etiquetado asignado a cada uno de los voxels de la ROI objetivo se basará en la segmentación de los atlas deformados. El valor del etiquetado en la mayoría de los atlas será el que se asigne a los voxels de la imagen objetivo.

Matemáticamente se puede expresar de la siguiente forma [29]:

$$S_T(x) = \underset{l \in \{1..L\}}{\operatorname{argmax}} \sum_{i=1}^N S_i^l(x) \quad (4.6)$$

donde  $S_T(x)$  será la segmentación de la ROI objetivo en el voxel  $x$  y  $S_i^l(x)$  es el voto para cada etiqueta  $l$  del atlas  $i_{th}$  definido como:

$$S_i^l(x) = \begin{cases} 1 & \text{si } S_i(x) = l \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (4.7)$$

Debido a que todas las segmentaciones a fusionar tienen el mismo peso, es importante utilizar los atlas deformados que presenten mayor similitud con la ROI a segmentar. De esta manera se conseguirá una segmentación más precisa.

#### 4.5.2. Votación ponderada

En este método, cada atlas contribuye a la segmentación final de la imagen objetivo con un determinado peso. La influencia de cada atlas en la segmentación de la imagen objetivo viene determinada por la similitud entre cada atlas y la ROI objetivo. Los atlas más similares a la imagen objetivo tendrán un peso mayor:

$$S_i^l(x) = \begin{cases} \frac{m(I_T, I_i)}{M} & \text{si } S_i(x) = l \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (4.8)$$

donde  $m(I_T, I_i)$  es el valor de la medida de similitud entre el atlas evaluado y la ROI de la imagen objetivo y  $M$  es la suma de los valores de la medida de similitud entre cada atlas y la imagen objetivo.

La probabilidad de etiquetado del voxel  $x$  se obtendrá de la siguiente manera:

$$S_T^l(x) = \sum_{i=1}^N S_i^l(x) \quad (4.9)$$

A los voxels que tengan un valor de  $S_T^l$  mayor que 0.5 se les asignará la etiqueta 1 y al resto 0. De esta manera se obtendrá un etiquetado binario de cada estructura.

#### 4.5.3. Patch labeling

Dada una ROI de la imagen objetivo  $I_i$ , un subconjunto de  $N$  atlas son usados para la fusión de etiquetas utilizando registro no-rígido. Cada atlas estará compuesto por una ROI que comprenda la estructura de interés y su correspondiente etiquetado:

$$\{A_i\}_{i=1, \dots, N} = \{I_i, S_i\}_{i=1, \dots, N} \quad (4.10)$$

donde  $I_i : \Omega_i \subset \mathbb{N}^3 \rightarrow \mathbb{R}$  son las imágenes de modalidad y  $S_i : \Omega_i \subset \mathbb{N}^3 \rightarrow \{0, 1\}$  los mapas de etiquetas.

En las imágenes etiquetadas, se asignará a los voxels que pertenecen a la estructura anatómica de interés la etiqueta  $S(x) = 1$  y a los voxels de background se asignará la etiqueta  $S(x) = 0$ .

Se denotará  $\Phi_i : \Omega \rightarrow \Omega_i$  a la transformación del espacio de coordenadas de la imagen objetivo al de cada  $i$ -th atlas. Por tanto se referirá a cada atlas en el dominio de la imagen objetivo de la siguiente manera:

$$\mathbb{A} = \{\tilde{S}_i = S_i \circ \Phi_i, \tilde{I}_i = I_i \circ \Phi_i\}_{i=1, \dots, N} \quad (4.11)$$

Dado el subconjunto de atlas registrados sobre la ROI de la imagen objetivo, cada voxel  $x$  en  $I$  está correlacionado con cada voxel  $y$  en  $\tilde{I}_i$  con un peso  $w_i(x, y)$ . Una representación basada en patches es extraída utilizando un sub-volumen centrado en  $x$  o en  $y$  de la imagen objetivo o del atlas registrado respectivamente. Éstos

son denotados como  $P_I(x)$  o  $P_{\tilde{I}_i}(y)$  respectivamente. La diferencia más significativa entre un voxel de referencia  $x$  y un voxel del atlas  $y$  es normalmente definido como  $w_i(x, y)$ :

$$w_i(x, y) = \begin{cases} e^{-\frac{\|P_I(x) - P_{\tilde{I}_i}(y)\|_2^2}{h^2(x)}} & \text{si } y \in N(x) \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (4.12)$$

donde  $N(x)$  se refiere al conjunto de vecinos del voxel  $x$  en un atlas. El parámetro  $h$  determina como este método asigna los pesos para cada patch  $P_{\tilde{I}_i}(y)$ . El parámetro  $h$  mostrará la distancia mínima entre el patch objetivo  $P_I(x)$  y sus patches vecinos  $P_{\tilde{I}_i}(y)$ . Utilizando estos pesos, se puede emplear un modelo de punto único para la fusión del etiquetado obtenido mediante cada uno de los atlas. Este método viene definido por la siguiente expresión:

$$S(x) = \frac{\sum_{i=1}^{N_A} \sum_{y \in \Omega} w_i(x, y) \tilde{S}_i(y)}{\sum_{i=1}^{N_A} \sum_{y \in \Omega} w_i(x, y)} \quad (4.13)$$

donde  $S(x)$  es una estimación del etiquetado para cada voxel  $x$ , y  $N_A$  es el número de atlas registrados empleados para la fusión. Sin embargo, como la medida de similaridad está basada en patches, se puede emplear un modelo multi-punto para la fusión de etiquetas:

$$P_s(x) = \frac{\sum_{i=1}^{N_A} \sum_{y \in \Omega} w_i(x, y) P_{\tilde{S}_i(y)}}{\sum_{i=1}^{N_A} \sum_{y \in \Omega} w_i(x, y)} \quad (4.14)$$

donde  $P_{\tilde{S}_i(y)}$  es un patch de etiquetas que pertenece al atlas  $i$ -ésimo y  $P_S(x)$  es la estimación del patch de etiquetas que tiene como origen al voxel  $x$ . Estas estimaciones serán posteriormente fusionadas mediante la regla de votación por mayoría. La estimación multi-punto proporcionará mejores resultados que la obtenida con un único punto.

#### 4.5.4. Segmentación discriminativa

Se trata de una técnica que asocia a una función de energía un grafo con una función de capacidad, de modo que el corte del grafo con coste mínimo define un mínimo global de energía.

Para la segmentación de una energía mediante cortes de grafos existen dos problemas principales:

- Definir una energía  $E$  adecuada de modo que la segmentación buscada  $g$  sea un mínimo absoluto de la energía descrita.
- Encontrar el mínimo absoluto de la energía definida (encontrar  $g$ ).

#### Definición de la Energía

En el campo de la segmentación de imágenes se considera función de energía a una función real,  $E : L^x \rightarrow \mathbb{R}$ , que define el conjunto de etiquetados posibles de una imagen. Al igual que en el método anterior, se descompondrá el problema con  $N$

estructuras en  $N$  problemas con etiquetado binario. Las correspondientes funciones de energía, denominadas energías binarias, son de la forma  $E : \{0, 1\}^x \rightarrow \mathbb{R}$ .

En general, se supone que la energía se puede descomponer como una suma de potenciales:

$$E(f) = \sum_{C \subset X} V_C(f) \quad (4.15)$$

donde  $C$  es un subconjunto del total de voxels  $X$  y  $V_C$  es una energía cuyo valor solo depende de las etiquetas asignadas en los voxels del clique  $C$ . El orden de un potencial viene determinado por el cardinal (número de elementos) del clique  $C$ .

La energía a minimizar será de orden dos, puesto que como se demuestra en [28], una energía binaria de orden dos es directamente representable y submodular<sup>2</sup>. Al ser submodular existirá un mínimo de la función de energía. Al ser una energía directamente representable, el conjunto de vértices del grafo queda definido por los voxels de la imagen, y se explicita una función de capacidad.

Las energías de orden dos se representan de la siguiente manera:

$$E(f) = \sum_{x \in X} V_x(f_x) + \sum_{\{x,y\}} V_{xy}(f_x, f_y) \quad (4.16)$$

Los potenciales de orden uno,  $V_x$  miden la preferencia de etiquetado de cada voxel individualmente. Los potenciales de orden dos,  $V_{x,y}$  se usan para penalizar la asignación de etiquetas distintas a dos voxels consecutivos. Sin embargo esta penalización no debe darse si los voxels vecenios forman parte del borde del objeto.

La energía de orden dos que se utilizará será la propuesta en (tesis de tobar):

$$E(f) = \sum_{x \in X} V_x(f_x) + \lambda_R \sum_{\{x,y\} \in \varepsilon} V_{xy}^R(f_x, f_y) + \lambda_F \sum_{\{x,y\} \in \varepsilon} V_{xy}^F(f_x, f_y) \quad (4.17)$$

donde  $\varepsilon$  hace referencia al sistema de vecinos,  $V_x$ ,  $V_{xy}^R$  y  $V_{xy}^F$  son los potenciales de orden uno, los de orden dos de Riemann y de flujo respectivamente, y  $\lambda_R$  y  $\lambda_F$  son los pesos de los términos de Riemann y de flujo.

### **Potenciales de orden uno**

Los potenciales de orden uno se usan para estimar si un voxel pertenece al fondo de la imagen o a la estructura. Se definen de la siguiente manera:

$$V_x(f_x) = -\ln(P(I_x|f_x))P(f_x) \quad (4.18)$$

donde  $P(I_x|f_x)$  es la probabilidad de máxima verosimilitud y  $P(f_x)$  es la probabilidad a priori, y ambos definen los modelos de apariencia y forma respectivamente.

Para definir la *probabilidad a priori* se utilizará un método de votación ponderada, basado en una medida de similitud entre los atlas registrados y la imagen

<sup>2</sup>La submodularidad puede verse como una propiedad de las funciones discretas análoga a la convexidad de las funciones definidas en el dominio continuas

objetivo. Este método se ha descrito en el apartado anterior.

La *probabilidad de máxima verosimilitud* se definirá a partir de un modelo discriminativo<sup>3</sup>. Para definir el modelo, se lleva a cabo la convolución de la imagen con un banco de filtros. Para cada voxel  $x$  de la imagen objetivo se obtiene un vector de características  $D_I(x)$ . Del mismo modo, para cada voxel del atlas registrado  $(\hat{I}^i, \hat{f}^i)$  se obtiene el vector de características correspondiente  $D_{\hat{f}}(x)$ , que deben normalizarse (media cero y varianza uno) debido a la diferente escala de las respuestas. Para cada etiqueta  $l \in \{0, 1\}$  se denota por  $F_l$  al conjunto de los vectores de características asociados a los atlas y a los voxels con etiqueta igual a  $l$ , esto es  $F_l = \{D_{\hat{f}}(x) | \hat{f}_x^i = l\}$ . Con el algoritmo de clasificación k-NN (k - Nearest Neighbours) se obtiene los  $k$  vectores de características de  $F_l$  más próximos a  $D_I(x)$ , para cada voxel  $x$  y cada etiqueta  $l$ , con la distancia euclídea. Este subconjunto se denotará como  $F_r$ .

De forma matemática la probabilidad de máxima verosimilitud se define como:

$$P(I_x | f_x) = \frac{1}{Z_D} E_D(I_x | f_x) \quad (4.19)$$

donde

$$E_D(I_x | f_x) = \sum \exp(-d(D_I(x), F_r)) \quad (4.20)$$

,  $Z_D$  es un factor de normalización y  $f_x$  solo puede tomar los valores de  $l$ .

### **Potenciales de orden dos**

Como ya se comentó anteriormente, los términos de orden dos son términos de regularización que deben penalizar la asignación de etiquetas distintas a dos voxels vecinos. Sin embargo esta penalización no debe darse si los voxels vecinos forman parte del borde del objeto.

Los potenciales de orden dos se utilizarán para estimar si un voxel es brillante u oscuro con respecto a sus vecinos.

Siguiendo lo enunciado en [28], el potencial de orden dos se define mediante el modelo de Potts, el cual viene dado de la siguiente manera:

$$V_{xy}(f_x, f_y) = \begin{cases} \alpha_{x,y} & \text{si } f_x = 0 \quad \text{y } f_y = 1 \\ \beta_{x,y} & \text{si } f_x = 1 \quad \text{y } f_y = 0 \\ 0 & \text{si } f_x = f_y \end{cases} \quad (4.21)$$

Los coeficientes de penalización,  $\alpha_{x,y}$  y  $\beta_{x,y}$  se definirán en función del vector gradiente de la imagen pues éste es un detector de bordes. El valor de estos coeficientes será alto para voxels con intensidades similares y próximo a cero cuando las intensidades sean muy diferentes.

En el potencial de Riemann se tendrá en cuenta tanto el módulo del gradiente en cada voxel como su dirección. Para estos potenciales, en imágenes 3D y con vecindad

<sup>3</sup>Modelo que combina múltiples propiedades estadísticas locales

a 6, los términos de penalización se definen de la siguiente manera:

$$\alpha_{x,y} = \beta_{x,y} = \frac{\det D(x)}{(d_D(x,y))^2} \quad (4.22)$$

donde

$$D(p) = g(\|\nabla I_x\|)\mathbb{I} + (1 - g(\|\nabla I_x\|))\frac{1}{\|\nabla I_x\|^2}\nabla I_x \cdot \nabla I_x^T \quad (4.23)$$

siendo  $\mathbb{I}$  la matriz de identidad y  $g(z) = e^{z/3\sigma}$  donde  $\sigma$  es el valor medio del módulo del gradiente de la imagen.

En el potencial de flujo, al igual que en el de Rieman, se considera tanto el módulo como el signo del vector gradiente. Los coeficientes de penalización se definen de la siguiente manera:

$$\alpha_{x,y} = -\beta_{x,y} = \vec{v} \frac{\vec{pq}}{|\vec{pq}|^2} \quad (4.24)$$

donde  $\vec{v}$  es el vector gradiente de la imagen en el voxel  $x$  y  $|\vec{pq}|$  es la distancia euclídea entre los voxels  $x$  y  $y$ .

### Cortes de Grafos

Sea  $G$  un grafo dirigido<sup>4</sup> completo<sup>5</sup> en el que el conjunto de vértices  $V$  contiene dos vértices especiales,  $s$  y  $t$  denominados fuente y sumidero respectivamente. Se considera una función de capacidad  $c$  que asigna a cada arista dirigida  $(p, q)$  un número no negativo  $c(p, q)$ .

Un corte en el grafo es una división del total de los vértices en dos conjuntos  $S$  y  $T$  tal que  $s \in S$ ,  $t \in T$  y cada vértice del grafo pertenece a uno de los dos subconjuntos. El coste  $|C|$  de un corte  $C = (S, T)$  es la suma de las capacidades de las aristas con vértice origen en  $S$  y vértice final en  $T$ :

$$|C| = c(S, T) = \sum_{p \in S, q \in T} c(p, q) \quad (4.25)$$

Un flujo en el grafo  $G$  es una función que a cada arista le asigna un valor entre 0 y su capacidad. Deben cumplir las siguientes condiciones:

- Restricción de capacidad: El flujo de una arista siempre debe ser menor o igual a la capacidad de dicha arista.
- Conservación de flujo: En cualquier vértice (exceptuando  $s$  y  $t$ ), la suma de los flujos que entran en ese vértice es igual a la suma de los vértices que salen. De forma equivalente, la suma de todos los flujos que pasan por el vértice es igual a cero.
- El flujo que sale del vértice  $s$  debe ser igual al flujo que llega a  $t$ .

<sup>4</sup>Aristas del grafo tienen un sentido definido.

<sup>5</sup>Cada vértice del grafo está conectado por una arista con otro vértice.

El problema de máximo flujo consiste en determinar el máximo flujo que puede ingresar al grafo a través de la fuente y salir por el vértice sumidero.

En teoría de grafos, el problema de mínimo coste se corresponde con el de maximizar el flujo de un grafo. El flujo máximo de  $s$  a  $t$  hará que sature un conjunto de aristas en el grafo que divide el conjunto de vértices en dos conjuntos disjuntos correspondiendo al corte con coste mínimo.

#### 4.5.5. Patch Match

La documentación de este método vendrá dada por medio de un resumen del artículo [6].

La segmentación automática es muy utilizada en el estudio de imágenes de resonancia magnética (MRI) para el seguimiento de enfermedades neurodegenerativas. Actualmente las técnicas más utilizadas se basan en la fusión de segmentaciones manuales obtenidas a partir de sujetos de entrenamiento. Estos enfoques, conocidos como segmentación multi-atlas, aunque obtienen buenos resultados en cuanto a precisión en la segmentación, requieren un alto tiempo computacional. En [6] se propone un método basado en patches siguiendo una estrategia no local. Este método encuentra, para todos los patches del sujeto, correspondencias con los atlas utilizados como sujetos de entrenamiento. Posteriormente, se asignará un peso a las etiquetas del patch de cada atlas en función de su similitud con el patch del sujeto que se segmentará. Finalmente, las etiquetas se fusionarán según su peso para generar la segmentación final. Los métodos de fusión de etiquetas presentan varias limitaciones que reducen su precisión y los hacen computacionalmente muy costosos:

- La búsqueda de patches similares es costosa.
- La preselección de modelos puede evitar encontrar los patches en atlas muy diferentes y eliminarse durante la preselección.
- La asignación de de peso a patches muy poco similares al patch evaluado del sujeto puede disminuir la precisión de la segmentación.

En [6] se propone un método para abordar estas limitaciones denominado OPAL. Se basa en el algoritmo de PatchMatch [1] optimizado para la fusión de etiquetas y la segmentación de estructuras anatómicas.

#### OPAL

OPAL busca similitudes entre un sujeto 3D  $S$  y una biblioteca de atlas 3D  $L = \{M_1, \dots, M_n\}$ . Una ventaja de OPAL es que su complejidad depende únicamente del tamaño de la imagen  $S$  y no del tamaño de la biblioteca  $L$ . Ésto permite seleccionar la totalidad de la biblioteca  $L$  sin tener que recurrir a ninguna etapa de preselección. Para cada patch en  $S$ , OPAL buscará correspondencias en el campo de vecinos más próximos (NN) en cada atlas de la biblioteca  $L$ .

- **Inicialización restringida:** Se restringe la posición inicial (aleatoria) de cada patch dentro de una ventana de tamaño fijo, centrada en la ubicación del patch evaluado.

- **Propagación y cálculo de distancias:** Para cada patch ubicado en  $(x, y, z) \in S$ , se desplaza el NN tratado a sus vecinos adyacentes  $(x \pm 1, y, z)$ ,  $(x, y \pm 1, z)$  y  $(x, y, z \pm 1)$ . La propagación es un paso clave ya que permite que una coincidencia se mueva entre todos los atlas de la biblioteca.
- **Restricción de búsqueda aleatoria:** La búsqueda aleatoria se realiza solo en el atlas evaluado que presenta la mejor coincidencia y el muestreo se realiza en  $(x_0, y_0, z_0) \in M_i$  dentro de una ventana decreciente.
- **Múltiples PM y computación paralela:** La búsqueda de k-NN en k-PM independientes será gestionada en paralelo por un proceso dedicado.
- **Fusión de etiquetas:** Al final del proceso se estiman los k-NN para cada patch de  $S$ . Por lo tanto, se conoce la posición y la distancia entre los patches de  $S$  y su k-NN. En OPAL solo se utilizan los  $k$  patches más similares, lo que limita los errores de segmentación, y se considera toda la biblioteca de atlas, lo que limita errores en la segmentación. Finalmente, para mejorar aún más la segmentación final, la fusión de las etiquetas se realiza en todo el patch y no solo en el voxel central.

## 4.6. Obtención de Marcadores desde imágenes ponderadas en T2 de manera Automática

Como se ha comentado anteriormente en este trabajo, únicamente se procederá a la automatización del método de obtención de aquellos marcadores que presenten buena capacidad de discriminar entre sujetos control sanos y pacientes con la EP. Por esta razón, y para entender que estructuras de interés se segmentarán automáticamente en las imágenes T2, se recomienda leer previamente la sección 5.1. En esta parte del escrito, se recogerán los resultados observados al evaluar los marcadores obtenidos desde imágenes T2 de manera manual.

Puede haber casos en los que un marcador no presente poder discriminativo, pero la automatización del proceso de segmentación de las ROIs utilizadas para calcularlo sean interesante por su posible utilización en otros estudios. Una de estas regiones de interés es la sustancia nigra de las imágenes T2.

Como se reporta en la sección 5.1, ni la volumetría, ni la intensidad de señal son capaces de captar diferencias entre sujetos control y pacientes. Sin embargo, como se puede observar en [8], la segmentación de la SN obtenida de imágenes T2\* es utilizada como máscara para obtener los valores de intensidad de dicha región en otras imágenes que si podrían presentar diferencias entre sujetos control y pacientes. Debido a que las imágenes T2\* son una variante de las T2, se realizará la segmentación automática de la SN vista en imágenes T2 de la forma descrita en las secciones 4.4 y 4.5 por si fuera de utilidad en estudios posteriores. Esta automatización, evitará los posibles errores derivados del proceso de segmentación manual (en caso de que los atlas estén segmentados correctamente).

## 4.7. Obtención de Marcadores desde imágenes ponderadas en T1 sensibles a la Neuromelanina de manera Automática

De forma análoga al caso de las imágenes T2, el contenido de esta sección estará condicionado por la capacidad discriminativa de los marcadores obtenidos de manera manual. Por tanto, se recomienda leer previamente la sección 5.2 para así entender por completo el contenido de esta parte.

### 4.7.1. Volumetría de la Sustancia Nigra (SN)

Como se recoge en la sección 5.2, se ha observado que tanto el volumen de la SN completa como sus voxels más hiperintensos presentan buena capacidad a la hora de discriminar entre sujetos control y enfermos de Parkinson. Por tanto, en esta sección se describirán las modificaciones (mínimas) que se introducirán con respecto al procedimiento seguido para su cálculo manual, con el objetivo de automatizar su obtención. Estas modificaciones irán orientadas a sustituir los procesos manuales de obtención de regiones de interés por el método descrito en 4.4 y 4.5.

Los pasos seguidos para la obtención de los resultados en volumetría de la SN de forma manual, fueron los siguientes:

1. Segmentación de la SN.
2. Obtención de los voxels más hiperintensos dentro de la segmentación obtenida en el paso anterior.
3. Cálculo del volumen de la SN y de sus voxels más hiperintensos.

El paso final ya es un proceso automático, por tanto para lograr la automatización del método habrá que introducir modificaciones en los pasos 1 y 2.

### Segmentación de la Sustancia Nigra (SN)

Este paso será el que presente mayores modificaciones con respecto al proceso manual. La automatización de este paso se realizará directamente aplicando lo expuesto en la sección 4.4 y 4.5. Este cambio proporciona cuatro beneficios principales:

- No será necesaria la definición de la ROI situada entre la SN y el borde del tronco encefálico, ni la ROI rectangular empleada para limpiar la segmentación obtenida con el proceso de umbralización.
- Evitará errores en la segmentación debidos a una localización errónea de las ROIs de referencia utilizadas en el proceso de umbralización.
- Evitará evaluar visualmente múltiples segmentaciones para determinar cual es la más adecuada.
- No será necesario limpiar manualmente los alrededores de la segmentación final.

Estos problemas estarán presentes únicamente durante el proceso de construcción de los atlas. Pero, una vez construida una librería de atlas de calidad, sería posible obtener la segmentación de la SN incluso sin tener ningún conocimiento a priori sobre ella.

### **Obtención de los voxels más hiperintensos dentro de la ROI de la sustancia nigra (SN)**

El proceso de obtención de los voxels más hiperintensos dentro de la SN no podrá ser automatizado directamente mediante métodos basados en multi-atlas. Esto se debe a que estos procesos se basan en la posición y forma de las segmentaciones, y no en la intensidad de señal.

La principal modificación será la sustitución de la segmentación manual del tronco encefálico por su adquisición automática siguiendo lo expuesto en las secciones 4.4 y 4.5. Con este cambio, se evitarán errores en la segmentación manual de dicha estructura y se conseguirá obtener el valor del umbral de manera totalmente automática. El resto del proceso de obtención de los voxels más hiperintensos será similar al anteriormente mencionado.



## Capítulo 5

# RESULTADOS

En este capítulo se recogerán los resultados que han sido obtenidos al desarrollar los métodos anteriormente planteados. Los resultados adquiridos pueden ser evaluados de dos maneras distintas. Por un lado, se examinará la calidad de las segmentaciones (utilizando el coeficiente DICE) en caso de que sea posible, y por otro lado se evaluará la calidad de los marcadores para diagnosticar la enfermedad del Parkinson.

Para la evaluación de los biomarcadores potenciales se utilizarán dos herramientas distintas:

- **Análisis de la varianza con un factor (ANOVA).** Este análisis se utilizará para contrastar la hipótesis nula de que el valor medio de una característica coincide en las dos poblaciones (pacientes con EP y controles sanos), frente a la hipótesis alternativa de que las poblaciones difieren en cuanto a su valor esperado. En caso de no haber trabajado anteriormente con este tipo de análisis, se recomienda leer previamente el Anexo C.
- **Análisis de las características operativas del receptor (ROC).** Cada uno de los marcadores obtenidos serán utilizados para elaborar un diagnóstico de la enfermedad en todo el grupo de sujetos. El diagnóstico se llevará a cabo por medio de un clasificador lineal. La capacidad de diagnóstico de cada biomarcador potencial será evaluada por medio del análisis de la curva ROC. En caso de no haber trabajado anteriormente con este tipo de análisis, se recomienda leer previamente el Anexo D.

### 5.1. Evaluación de los biomarcadores obtenidos desde imágenes ponderadas en T2

En esta sección se llevará a cabo la evaluación de los marcadores obtenidos desde las imágenes ponderadas en T2 como marcador diferencial de la enfermedad del Parkinson. Los dos posibles biomarcadores que se han obtenido desde las imágenes T2 en este trabajo son los siguientes:

- Volumetría de la Sustancia Nigra (SN) y del Subtálamo (Sth)
- Intensidad de la Sustancia Nigra (SN)

### 5.1.1. Volumetría de la Sustancia Nigra (SN) y del Subtálamo (STh)

Los marcadores basados en volumetría están estrechamente relacionados con la calidad de la segmentación de la estructura analizada. Por esta razón previamente a evaluar la validez del volumen como biomarcador diferencial de la enfermedad del Parkinson se evaluará la calidad de las segmentaciones. Ésto se podrá llevar a cabo gracias a que en un trabajo anterior se realizó la segmentación de la SN y el STh de un conjunto de imágenes T2, y a la disponibilidad de un mapa probabilístico de la SN obtenido mediante imágenes de 7T [10].

En vista de lo descrito anteriormente, en este apartado se llevarán a cabo tres experimentos:

- Cálculo del coeficiente DICE entre las segmentaciones manuales de la SN y el mapa probabilístico de Keuken.
- Cálculo del coeficiente DICE entre las segmentaciones manuales de la SN y STh, y las obtenidas del estudio previo.
- Evaluación de la volumetría como biomarcador diferencial de la enfermedad del Parkinson.

Las segmentaciones de la sustancia nigra y el subtálamo desde imágenes T2 realizadas en este trabajo se obtuvieron en el espacio estándar MNI-152. Se eligió este espacio de coordenadas debido a que se observaba mejor la separación entre el subtálamo y la sustancia nigra.

#### Cálculo del coeficiente DICE entre las segmentaciones manuales de la SN y el mapa probabilístico de Keuken

El cálculo de este coeficiente tiene como objetivo comprobar que la localización de las segmentaciones realizadas concuerda con la región definida por la plantilla, o lo que es lo mismo, se comprobará el nivel de contención de las segmentaciones realizadas dentro del mapa probabilístico de Keuken. Este proceso se llevará a cabo directamente según lo expuesto en la sección 4.2, debido a que tanto la plantilla de Keuken como las segmentaciones se encuentran en el espacio MNI-152 y por tanto no será necesario realizar ningún proceso de registro. Los resultados obtenidos para la región derecha e izquierda de la SN se recogen en la siguiente tabla:

	SN_right	SN_left
DICE	0.998	0.996

Tabla 5.1: Coeficiente DICE promedio entre las segmentaciones manuales y la plantilla de Keuken

En base a los resultados observados en la tabla, se puede afirmar que prácticamente la totalidad de la SN segmentada se encuentra contenida dentro del mapa probabilístico dado por Keuken. Aún así, no se debe ignorar que algunos voxels de las segmentaciones se encuentran fuera del mapa. Ésto puede ser debido a que el mapa se creó a partir de imágenes tomadas desde máquinas de resonancia magnética de 7T mientras que las segmentaciones de este trabajo se han obtenido desde imágenes

de 3T, y como se ha comentado en el inicio de este trabajo, la visualización de la SN en ambos tipos de imagen varia.

### Cálculo del coeficiente DICE entre las segmentaciones manuales de la SN y STh, y las obtenidas en el estudio previo

A diferencia del valor anteriormente calculado, el cálculo del coeficiente DICE entre las segmentaciones realizadas en este trabajo y las realizadas en el trabajo previo tiene como objetivo medir la similitud entre las segmentaciones. Es decir, el volumen común.

Las segmentaciones del trabajo previo fueron realizadas en el espacio nativo de la imagen, por lo que será necesario registrarlas de manera afín al espacio MNI-152 para compararlas con las realizadas en este trabajo. Como se puede deducir fácilmente, únicamente se podrán comparar aquellas segmentaciones que hayan sido realizadas en ambos trabajos, siendo un total de 16. Los valores promedio del coeficiente DICE obtenido para la SN derecha e izquierda y el STh derecho e izquierdo se recogen en la siguiente tabla:

	SN_right	SN_left	STh_right	STh_left
DICE	0.741	0.733	0.646	0.645

Tabla 5.2: Coeficiente DICE promedio entre las segmentaciones manuales realizadas en este trabajo y las del estudio previo.

Los resultados observados difieren del caso ideal, que sería que ambas segmentaciones fueran similares. Una consecuencia de esta desigualdad podría ser la existencia de errores debidos al proceso de registro de las segmentaciones del estudio previo al espacio MNI-152. Para evaluar la problemática planteada se llevará a cabo un experimento de registro. Éste consistirá en registrar las segmentaciones manuales obtenidas en el espacio nativo al espacio MNI-152, y posteriormente, volver a registrar las segmentaciones obtenidas al espacio nativo.

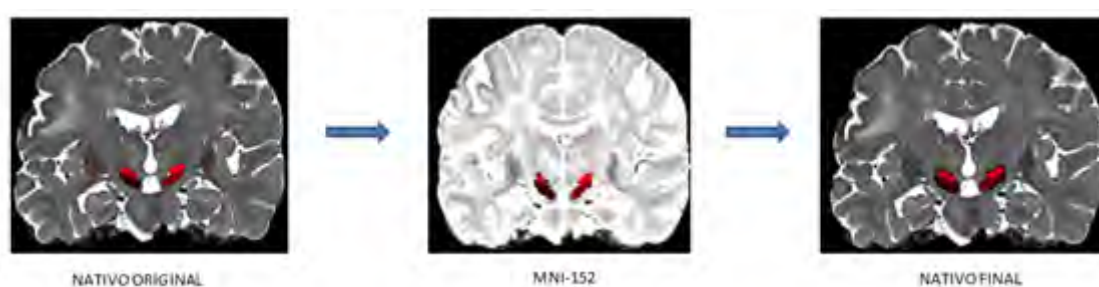


Figura 5.1: Experimento de registro.

La calidad del registro será evaluada mediante el valor medio del coeficiente DICE calculado entre la segmentación original y la resultante del experimento. Si el DICE entre la segmentación original en el espacio nativo y la resultante tras aplicar la secuencia anteriormente descrita es 1 entonces no existirán errores en el registro. Si por el contrario da un valor menor, se confirmará que existen errores en el proceso de registro y que por tanto la segmentación obtenida en el estudio previo, no se

adecuará perfectamente a las estructuras en el espacio MNI-152.

El registro se llevará a cabo con el software ANTs. Este software ofrece la posibilidad de llevar a cabo el registro utilizando interpolación lineal o interpolación mediante la aproximación del vecino más próximo (Nearest Neighbor, NN). Se realizará el registro utilizando los dos métodos de interpolación y se compararán los resultados obtenidos.

	SN_right	SN_left	STh_right	STh_left
<b>DICE (NN)</b>	0.935	0.935	0.912	0.903
<b>DICE (LINEAR)</b>	0.226	0.247	0.042	0.027

Tabla 5.3: Tabla con los valores promedio del coeficiente DICE entre la segmentación original en el espacio nativo y la obtenida tras la secuencia de registro con los distintos métodos de interpolación.

Se observa que mediante la interpolación lineal los valores del coeficiente DICE son peores que mediante la interpolación del vecino más próximo. Ésto se debe a que al utilizar la interpolación lineal se pierde la binariedad del etiquetado. Por estas razones se considerarán los valores obtenidos mediante interpolación NN para evaluar los resultados del experimento.

Se puede observar que el DICE entre la segmentación original y a la que se aplicó la secuencia de registro es distinto de 1. Por tanto, existirán errores en el proceso de registro que harán que lo segmentado como sustancia nigra y subtálamo tras el registro no sea del todo correcto. La diferencia mencionada se puede observar claramente en la siguiente imagen:



Figura 5.2: Experimento de registro. La segmentación en tonos rojos será la obtenida tras la secuencia de registro, mientras que la representada en tonos grises será la original.

Aún así, no se puede achacar la diferencia entre las segmentaciones únicamente a la no idealidad del registro. Deben existir diferencias en el método de segmentación, pero al no haber un protocolo estándar definido no se puede saber si el método utilizado en el estudio previo o el empleado en este trabajo es el procedimiento de delineación correcto. Por tanto al no conocerse con exactitud el protocolo de segmentación utilizado en el estudio previo, se analizará la calidad de los marcadores en volumetría utilizando las segmentaciones obtenidas siguiendo el protocolo de segmentación planteado en este trabajo.

## Evaluación de la volumetría como biomarcador diferencial de la enfermedad del Parkinson

Como se ha comentado anteriormente, el volumen de la sustancia nigra y del subtálamo obtenidos desde imágenes T2 podrían ser marcadores diferenciales de la enfermedad del Parkinson. Más concretamente, se han evaluado las siguientes medidas:

- Volumetría de la sustancia nigra izquierda ( $SN_{LH}$ ).
- Volumetría de la sustancia nigra derecha ( $SN_{RH}$ ).
- Volumetría de la sustancia nigra bilateral ( $SN_{BI}$ ).
- Volumetría de la sustancia nigra localizada en el lado contralateral<sup>1</sup> al hemisferio clínicamente más afectado ( $SN_{CONTRA}$ ).
- Volumetría de la sustancia nigra localizada en el lado homolateral al hemisferio clínicamente más afectado ( $SN_{IPSI}$ ).
- Volumetría del subtálamo izquierdo ( $STh_{LH}$ ).
- Volumetría del subtálamo derecho ( $STh_{RH}$ ).
- Volumetría del subtálamo bilateral ( $STh_{BI}$ ).

En la siguiente tabla, se resumen los valores obtenidos para las medidas anteriormente mencionadas siguiendo la fórmula *media*  $\pm$  *desviación estándar*:

	<b>SN_LH</b>	<b>SN_RH</b>	<b>SN_BI</b>	<b>SN_CONTRA</b>	<b>SN_IPSI</b>
<b>HC</b>	433.87 $\pm$ 77.95	439.25 $\pm$ 78.64	873.125 $\pm$ 147.57	427.35 $\pm$ 78.77	445.75 $\pm$ 76.68
<b>EP</b>	418 $\pm$ 75.04	438.5 $\pm$ 68.19	856.5 $\pm$ 136.69	432.27 $\pm$ 75.05	424.22 $\pm$ 69.53

	<b>STh_LH</b>	<b>STh_RH</b>	<b>STh_BI</b>
<b>HC</b>	191.5 $\pm$ 31.26	168.25 $\pm$ 30.66	359.75 $\pm$ 47.20
<b>EP</b>	202.72 $\pm$ 47.88	180.54 $\pm$ 53.22	383.27 $\pm$ 95.49

Tabla 5.4: Tabla resumen de los valores volumétricos de la SN y STh vistos desde imágenes T2 en  $mm^3$

La evaluación de estas medidas como posibles biomarcadores diferenciales de la enfermedad del Parkinson, se basará en su capacidad discriminativa entre sujetos control sanos y pacientes con la EP, y la calidad de diagnóstico que ofrecen. En la siguiente tabla se mostrará el *p-valor* obtenido del análisis ANOVA y los resultados del análisis ROC de cada una de ellas:

<sup>1</sup>En todo este trabajo se considerará como lado contralateral de los sujetos control al lado izquierdo, y como lado homolateral al derecho.

	<b>p-valor</b>	<b>SE</b>	<b>EP</b>	<b>PPV</b>	<b>VPN</b>	<b>ACC</b>	<b>AUC</b>
<b>SN_LH</b>	0.498	48 %	44 %	67 %	27 %	47 %	0.476
<b>SN_RH</b>	0.518	62 %	56 %	76 %	38 %	60 %	0.466
<b>SN_BI</b>	0.488	52 %	56 %	73 %	33 %	53 %	0.476
<b>SN_CONTRA</b>	0.826	38 %	11 %	50 %	7 %	30 %	0.085
<b>SN_IPSI</b>	0.254	57 %	67 %	80 %	40 %	60 %	0.556
<b>STh_LH</b>	0.903	24 %	22 %	42 %	11 %	23 %	0.090
<b>STh_RH</b>	0.498	48 %	56 %	71 %	31 %	50 %	0.439
<b>STh_BI</b>	0.656	48 %	56 %	71 %	31 %	50 %	0.434

Tabla 5.5: Tabla resumen de la calidad de los marcadores de volumetría obtenidos desde imágenes T2.

Como se puede observa en la tabla 5.5, ninguna de las medidas en volumetría obtenidas de las imágenes T2 se puede considerar como biomarcador de la enfermedad por sí solo.

Desde el punto de vista de capacidad discriminativa entre sujetos control y pacientes con EP, todas las medidas presentan un *p-valor* muy elevado. En todo caso, la característica que presenta mejores resultados es el volumen de la sustancia nigra homolateral al lado clínicamente más afectado. Aún así, su *p-valor* de 0.254 se encuentra muy por encima de los valor de  $\alpha = 0.05$  que indican la posibilidad de rechazar la hipótesis nula.

En cuanto a la capacidad de diagnóstico empleando los datos de volumetría extraídos de las imágenes T2, se puede observar claramente en el área bajo la curva que no son marcadores adecuados para realizar una prueba diagnóstica. De nuevo la medida que presenta mejores características es el volumen de la sustancia nigra homolateral al lado clínicamente más afectado, pero su valor de 0.556 lo hace ser igualmente una variable de clasificación mala.

### 5.1.2. Intensidad de señal en la Sustancia Nigra (SN)

Al igual que en el caso de la volumetría, para evaluar la intensidad de señal también se utilizarán las segmentaciones de la SN realizadas en el espacio MNI-152. Por este motivo, la delineación de las ROIs de referencia también se realizará en el espacio MNI-152.

A continuación se analizará el poder discriminativo y la capacidad de diferenciación que ofrece el nivel de hipointensidad de la SN respecto al pedúnculo cerebral (*HIPO\_LEVEL*):

	<b>p-valor</b>	<b>SE</b>	<b>EP</b>	<b>PPV</b>	<b>VPN</b>	<b>ACC</b>	<b>AUC</b>
<b>HIPO_LEVEL</b>	0.412	57 %	67 %	80 %	40 %	60 %	0.455

Tabla 5.6: Tabla resumen de la calidad de los marcadores de intensidad obtenidos desde imágenes T2.

Los resultados observados para el marcador basado en intensidad son similares a los obtenidos en volumetría, de manera que tampoco tendrán poder discriminativo ni capacidad de diagnóstico en la enfermedad del Parkinson.

## 5.2. Evaluación de los biomarcadores obtenidos desde imágenes ponderadas en T1 sensibles a la neuromelanina

Al igual que en el caso de las imágenes ponderadas en T2, se procederá a evaluar la calidad de los marcadores de la enfermedad del Parkinson obtenidos desde imágenes T1 sensibles a la neuromelanina propuestos en este trabajo.

### 5.2.1. Volumetría de la Sustancia Nigra (SN)

A diferencia del caso de las imágenes T2, la segmentación de la SN se realizó en el espacio nativo. En este caso, no se dispone de segmentaciones obtenidas en un trabajo previo. Por tanto, se considerará que las segmentaciones son de calidad y que por tanto se pueden obtener posibles marcadores de la enfermedad a partir de ellas. Las medidas basadas en la volumetría de la sustancia nigra evaluadas serán similares a las tratadas en el caso de las imágenes T2:

- Volumetría de la sustancia nigra izquierda (*SN\_LH*).
- Volumetría de la sustancia nigra derecha (*SN\_RH*).
- Volumetría de la sustancia nigra bilateral (*SN\_BI*).
- Volumetría de la sustancia nigra localizada en el lado contralateral al hemisferio clínicamente más afectado (*SN\_CONTRA*).
- Volumetría de la sustancia nigra localizada en el lado homolateral al hemisferio clínicamente más afectado (*SN\_IPSI*).
- Volumen de los voxels más hiperintensos dentro de la sustancia nigra izquierda (*SN\_HU\_LH*).
- Volumen de los voxels más hiperintensos dentro de la sustancia nigra derecha (*SN\_HU\_RH*).
- Volumen de los voxels más hiperintensos dentro de la sustancia nigra bilateral (*SN\_HU\_BI*).
- Volumen de los voxels más hiperintensos dentro de la sustancia nigra localizada en el lado contralateral al hemisferio clínicamente más afectado (*SN\_HU\_CONTRA*).
- Volumen de los voxels más hiperintensos dentro de la sustancia nigra localizada en el lado homolateral al hemisferio clínicamente más afectado (*SN\_HU\_IPSI*).

En la siguiente tabla, se resumen los valores obtenidos para las medidas anteriormente mencionadas siguiendo la fórmula *media*  $\pm$  *desviación típica*:

	<b>SN_LH</b>	<b>SN_RH</b>	<b>SN_BI</b>	<b>SN_CONTRA</b>	<b>SN_IPSI</b>
<b>HC</b>	377.70 $\pm$ 56.81	324.18 $\pm$ 81.74	701.88 $\pm$ 123.41	377.70 $\pm$ 56.81	324.18 $\pm$ 81.74
<b>EP</b>	338.09 $\pm$ 97.19	318.94 $\pm$ 94.74	657.04 $\pm$ 164.28	302.645 $\pm$ 74.37	354.39 $\pm$ 107.97

	SN_HU_LH	SN_HU_RH	SN_HU_BI	SN_HU_CONTRA	SN_HU_IPSI
<b>HC</b>	58.49±10.29	48.92±21.67	107.41±29.11	58.49±10.29	48.92 ±21.67
<b>EP</b>	38.28±18.26	48.56±26.11	86.84±38.68	34.74±18.39	52.10±23.93

Tabla 5.7: Tabla resumen de los valores volumétricos de la SN vista desde imágenes T1 NM en  $mm^3$ . En la parte superior se mostrarán los resultados de la SN completa y en la inferior los resultados de los voxels más hiperintensos.

El valor asignado al multiplicador de la varianza para obtener el valor de los voxels más hiperintensos dentro del rango establecido fue 2.1. A pesar de no seguir exactamente el proceso de obtención descrito en [27], cabe destacar que el volumen medio bilateral de los sujetos control obtenido en este trabajo ( $107.41 mm^3$ ) es similar al valor medio utilizado en el artículo para ajustar los voxels más hiperintensos ( $106.9 mm^3$ ). Por tanto, se puede observar que los dos procedimientos ligeramente distintos producen resultados similares.

Como se ha comentado anteriormente, la segmentación de la sustancia nigra se extraerá desde el espacio nativo de las imágenes. Al no existir un registro afín a un espacio común, el volumen cerebral de cada paciente puede ser diferente. Será necesario corregir esta variabilidad entre los sujetos para proceder a la evaluación de las medidas obtenidas. La corrección se llevará a cabo, dividiendo (para cada paciente) el volumen de la SN segmentado entre el volumen intracraneal (IntraCranial Volume, ICV) y multiplicándolo por 1000. Dicho de otra manera, las medidas se evaluarán como el tanto por mil del volumen intracraneal. Los resultados que reflejan la calidad de los marcadores propuestos a partir del volumen total de la sustancia nigra se resumen en la siguiente tabla:

	p-valor	SE	EP	PPV	VPN	ACC	AUC
<b>SN_LH</b>	0.172	75 %	63 %	80 %	56 %	71 %	0.695
<b>SN_RH</b>	0.631	56 %	38 %	64 %	30 %	50 %	0.430
<b>SN_BI</b>	0.277	63 %	50 %	71 %	40 %	58 %	0.617
<b>SN_CONTRA</b>	0.0036	81 %	63 %	81 %	63 %	75 %	0.789
<b>SN_IPSI</b>	0.689	50 %	63 %	73 %	38 %	54 %	0.352

Tabla 5.8: Tabla resumen de la calidad de los marcadores obtenidos a partir del volumen de la SN completa en imágenes T1 NM como biomarcadores de la enfermedad.

Los resultados obtenidos muestran una mejora del diagnóstico con respecto a las imágenes T2 al utilizar la sustancia nigra izquierda y bilateral normalizadas como variable de diagnóstico. Aún así, observando el área bajo la curva, el rendimiento del clasificador no deja de ser únicamente regular. Los resultados obtenidos del análisis ANOVA tampoco son muy buenos, ya que el *p-valor* obtenido no permite rechazar la hipótesis nula. Por estas razones, no se considerarán como biomarcadores diferenciales de la enfermedad.

Mención especial requiere el volumen normalizado de la sustancia nigra contralateral al lado más afectado clínicamente. Este marcador ofrece un diagnóstico con un área bajo la curva superior a 0.75 pero inferior a 0.9, lo que es catalogado como un buen rendimiento del clasificador. Además el *p-valor* obtenido es inferior a 0.05 lo que permite rechazar la hipótesis nula y por tanto afirmar que el volumen normalizada de la sustancia nigra contralateral es capaz de discriminar entre sujetos control

## 5.2. EVALUACIÓN DE LOS BIOMARCADORES OBTENIDOS DESDE IMÁGENES PONDERADAS EN T1 SENS

sanos y pacientes con la EP, ver Figura 5.3. Por estas razones, esta característica será considerada un biomarcador diferencial de la enfermedad del Parkinson y por tanto se procederá a su obtención de manera automática.



Figura 5.3: Diagrama caja-bigote de los valores normalizados respecto al volumen intracraneal de SN\_CONTRA. HC=0 EP=1

A continuación se evaluará la calidad de los voxels más hiperintensos de la SN como biomarcador:

	<b>p-valor</b>	<b>SE</b>	<b>EP</b>	<b>PPV</b>	<b>VPN</b>	<b>ACC</b>	<b>AUC</b>
<b>SN_HU_LH</b>	0.0016	75 %	75 %	86 %	60 %	75 %	0.852
<b>SN_HU_RH</b>	0.7492	56 %	13 %	56 %	13 %	42 %	0.203
<b>SN_HU_BI</b>	0.0767	63 %	50 %	71 %	40 %	58 %	0.695
<b>SN_HU_CONTRA</b>	0.0002	81 %	75 %	87 %	67 %	79 %	0.898
<b>SN_HU_IPSI</b>	0.9606	13 %	0 %	20 %	0 %	8 %	0.000

Tabla 5.9: Tabla resumen de la calidad del volumen de voxels más hiperintensos dentro de la SN obtenido desde imágenes T1 NM como biomarcadores de la enfermedad.

Por lo general, los resultados que presentan los voxels más hiperintensos dentro de la SN (normalizado respecto al volumen intracraneal) son mejores que los obtenidos con la SN total. Ésto se corresponde con lo descrito en [2]. Aún así, esto no se puede afirmar en todos los casos. El análisis de los resultados ofrecidos por los voxels más hiperintensos de la sustancia nigra izquierda e ipsilateral al lado del cerebro más afectado muestra un empeoramiento con respecto a los valores obtenidos con las estructuras completas.

El estudio del volumen de voxels mas hiperintensos dentro de la SN izquierda y contralateral al lado más afectado clínicamente no dejan ninguna duda de su validez como biomarcadores de la enfermedad. El *p-valor* de ambos marcadores se encuentra por debajo de 0.05 por lo que se puede rechazar la hipótesis nula y afirmar que ambos marcadores son capaces de discriminar entre sujetos control sanos y pacientes con la EP, ver Figura 5.4. Por su parte, el área bajo la curva que presenta el diagnóstico con ambos marcadores se encuentra entre los valores de 0.75 y 0.9, muy cerca de este último valor, lo que significaría un muy buen rendimiento del clasificador. Por el contrario, el análisis conjunto de los voxels localizados en ambas estructuras no podrá ser considerado biomarcador diferencial de la enfermedad del Parkinson, ya que no se podrá rechazar la hipótesis nula (por muy poco) y el rendimiento del diagnóstico obtenido utilizando esta medida como variable de clasificación es regular.

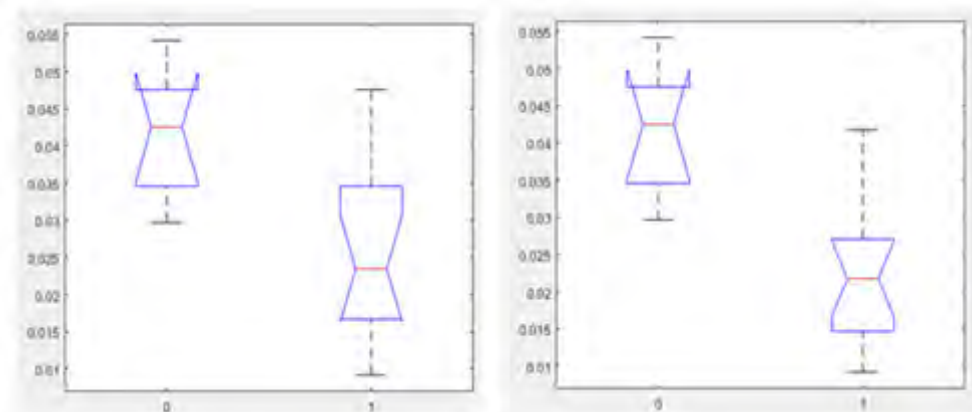


Figura 5.4: Diagrama caja-bigote de los valores normalizados respecto al volumen intracraneal de SN\_UH\_LH (izquierda) y de SN\_UH\_CONTRA (derecha). HC=0 EP=1

Los resultados obtenidos mediante la utilización de los voxels más hiperintensos dentro de la SN izquierda y la región contralateral al lado clínicamente afectado harán que se lleve a cabo su obtención de manera automática.

### 5.2.2. Intensidad de señal en la Sustancia Nigra (SN)

A diferencia del caso de las imágenes T2, en la bibliografía se reportan buenos resultados en lo referente a la intensidad de señal de la SN. Por este motivo se realizará un análisis más exhaustivo evaluando las siguientes medidas:

- Intensidad de señal de la sustancia nigra izquierda respecto a la ROI de referencia (*HIPER\_LH*).
- Intensidad de señal de la sustancia nigra derecha respecto a la ROI de referencia (*HIPER\_RH*).
- Intensidad de señal de la sustancia nigra localizada en el lado contralateral al hemisferio clínicamente más afectado respecto a la ROI de referencia (*HIPER\_CONTRA*).
- Intensidad de señal de la sustancia nigra localizada en el lado homolateral al hemisferio clínicamente más afectado respecto a la ROI de referencia (*HIPER\_IPSI*).

La calidad de estas medidas como biomarcadores de la enfermedad del Parkinson se puede observar en la siguiente tabla:

	<b>p-valor</b>	<b>SE</b>	<b>EP</b>	<b>PPV</b>	<b>VPN</b>	<b>ACC</b>	<b>AUC</b>
<b>HIPER_LH</b>	0.636	69 %	25 %	65 %	29 %	54 %	0.398
<b>HIPER_RH</b>	0.378	69 %	38 %	69 %	38 %	58 %	0.508
<b>HIPER_CONTRA</b>	0.5716	69 %	38 %	69 %	38 %	58 %	0.445
<b>HIPER_IPSI</b>	0.4316	69 %	38 %	69 %	38 %	58 %	0.508

Tabla 5.10: Tabla resumen de la calidad de los marcadores de intensidad obtenidos desde imágenes T1 NM.

Como se puede observar en la tabla anterior, los resultados obtenidos en lo referente al *p-valor* y al área bajo la curva son bastante malos. A diferencia de lo

reportado en [14], los resultados obtenidos no permiten considerar la variación de intensidad de señal de la SN en imágenes T1 NM como un biomarcador de la enfermedad. Los resultados obtenidos no se corresponden con lo esperado ya que en otros artículos como [5] también se reporta una buena relación de la intensidad de señal en la SN con la progresión de la enfermedad. Las diferencias mostradas se pueden deber a un error en el proceso de delineación manual de la región de referencia, pero ésta se definió en la localización descrita en [12].

### 5.3. Evaluación de la segmentación automática de las ROIs obtenidas mediante métodos basados en multi-atlas

En esta sección se evaluará la calidad de las ROIs obtenidas mediante los métodos de segmentación automática. Las segmentaciones extraídas manualmente constituirán el *gold estándar* con el que se compararán los resultados del proceso automático. Ésto se debe a que el caso ideal sería que las segmentaciones obtenidas de manera automática coincidieran con las delineadas manualmente y, por tanto, que la calidad del marcador obtenido de manera automática coincidiera con la del adquirido manualmente.

Previamente, se realizará un experimento para determinar a que espacio común conviene registrar las imágenes T1 NM y sus correspondientes segmentaciones manuales para llevar a cabo la formación de los atlas. Esta duda se origina debido a que el grosor de los slab T1 NM es de 3mm y en caso de que se registren al espacio MNI-152 pasaría a ser de 1mm. Este registro puede suponer una gran pérdida de información en las segmentaciones manuales. Por este motivo se llevarán a cabo dos procesos de registro cíclico y se comparará el DICE medio entre la segmentación de la sustancia nigra original y la resultante del proceso. Los dos procesos de registro que se evaluarán serán los siguientes:

- Espacio nativo - MNI-152 - Espacio nativo.
- Espacio nativo - Espacio de un sujeto - Espacio nativo.

Además, debido a que los métodos automáticos con los que se trabaja en este estudio emplean el software Elastix para llevar a cabo el registro no-rígido de los atlas sobre la imagen a segmentar, habrá que evaluar si los parámetros definidos son válidos para el tipo de imágenes empleadas en este trabajo.

En base a lo expuesto en los párrafos anteriores, en esta sección se tratarán tres temas diferentes:

- Experimento de registro a un espacio común de las segmentaciones manuales obtenidas desde imágenes T1 NM.
- Evaluación de los parámetros del registro no-rígido con Elastix de manera visual.
- Evaluación del coeficiente DICE de solape entre las ROIs segmentadas de manera manual y automática en imágenes T2.
- Evaluación del coeficiente DICE de solape entre las ROIs segmentadas de manera manual y automática en imágenes T1 sensibles a la neuromelanina.

### 5.3.1. Experimento de registro a un espacio común de las segmentaciones manuales obtenidas desde imágenes T1 NM.

Como se ha comentado anteriormente, en esta sección se evaluarán los resultados de los dos procesos de registro cíclico propuestos utilizando interpolación mediante la aproximación del vecino más próximo.

En el caso del proceso de registro a un sujeto común, la plantilla será seleccionada como aquel paciente que presente mayor similitud con todos los demás. Este parámetro será medido comparando el valor medio de la información mutua entre un paciente con el resto de sujetos, para todos los participantes en el estudio. Dentro del grupo de trabajo el sujeto que presenta mayor similitud con todos los demás es el denominado *Soma25*.

A continuación se muestran los resultados de los dos procesos de registro cíclico planteados:

	SN_LH	SN_RH
<b>DICE (MNI152)</b>	0.880	0.877
<b>DICE (Soma25)</b>	0.986	0.983

Tabla 5.11: Tabla con los valores promedio del coeficiente DICE entre la segmentación original en el espacio nativo y la obtenida tras la secuencia de registro.

Se puede observar, numéricamente, una clara diferencia entre ambos procesos de registro. A continuación se muestran los resultados de ambos procesos de registro:



Figura 5.5: Experimento de registro *soma 25* (izquierda) y experimento de registro MNI-152 (derecha). La segmentación en tonos rojos será la obtenida tras la secuencia de registro, mientras que la representada en tonos grises será la original.

En base a los resultados observados en este experimento se seleccionará el sujeto *soma25* como plantilla del espacio común en el que se llevará a cabo la construcción de los atlas.

### 5.3.2. Evaluación de los parámetros del registro no-rígido con Elastix

Los parámetros del software Elastix inicialmente están establecidos para garantizar un buen registro entre imágenes T1, ya que la demo original se realizó para llevar a cabo la segmentación del hipocampo. Para comprobar si estos parámetros

### 5.3. EVALUACIÓN DE LA SEGMENTACIÓN AUTOMÁTICA DE LAS ROIS OBTENIDAS MEDIANTE MÉTODOS

sirven para el registro de las imágenes T2 y T1 NM que forman los atlas, se visualizarán los resultados del registro no-rígido de los atlas sobre la imagen objetivo. A continuación se muestran los resultados obtenidos para imágenes T2:

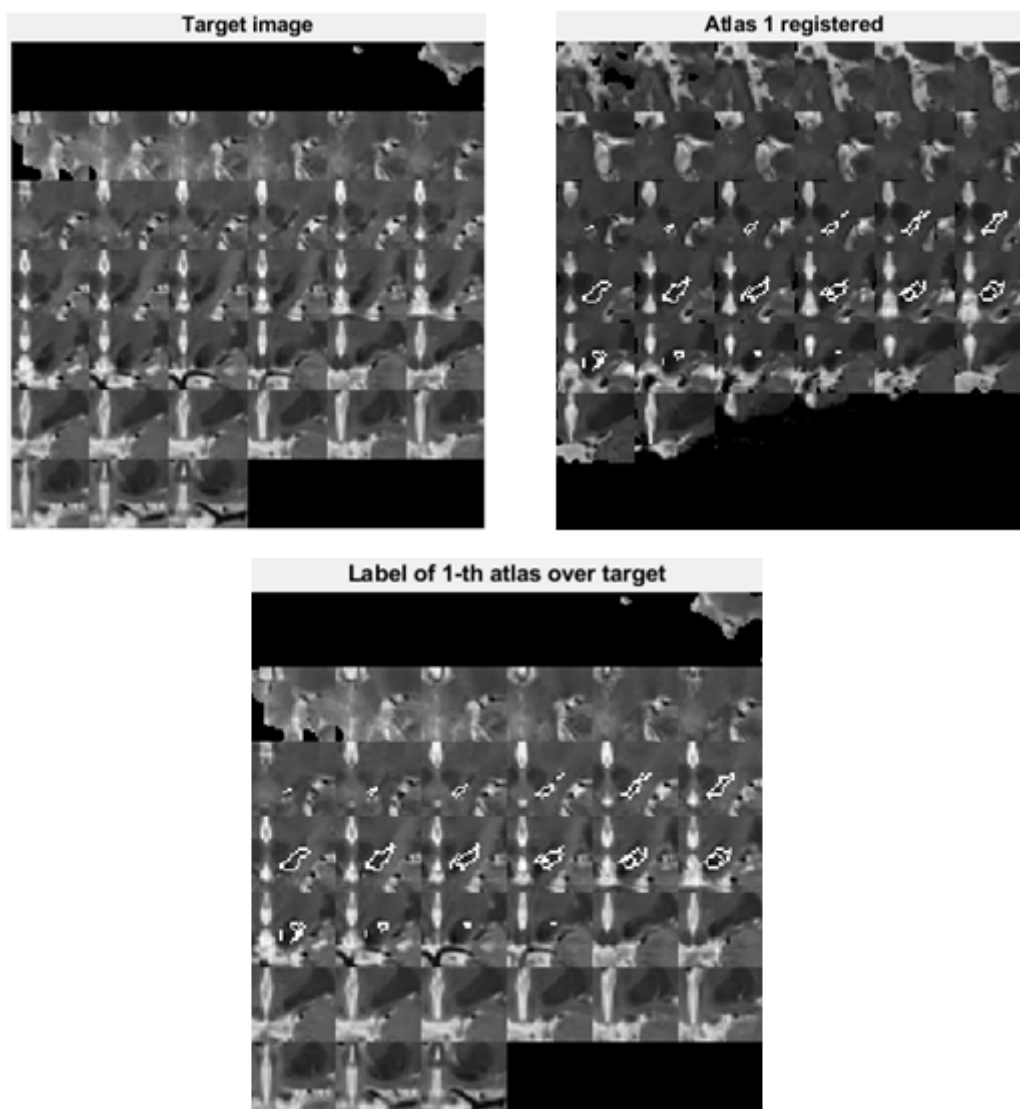


Figura 5.6: Registro de la segmentación del n-th atlas sobre la imagen objetivo correspondiente (T2).

En las imágenes T2 se observa que el registro presenta buenos resultados. Esto concuerda con lo esperado ya que tanto en el caso del hipocampo como en el del subtálamo y la nigra se lleva a cabo un registro no-rígido entre imágenes monomodales.

A continuación se muestran los resultados obtenidos para imágenes las T1 NM:

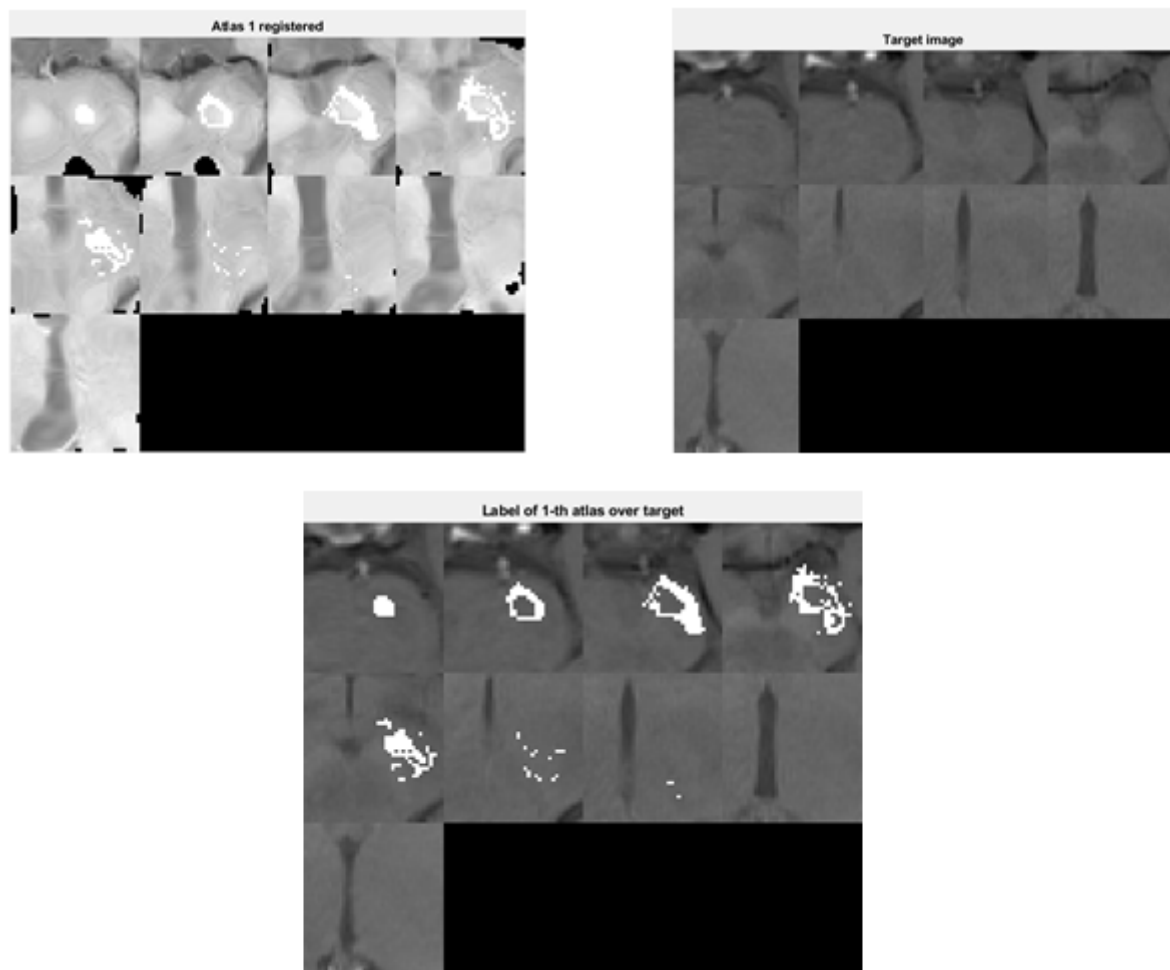


Figura 5.7: Registro de la segmentación del  $n$ -th atlas sobre la imagen objetivo correspondiente (T1 NM).

A diferencia de las imágenes T2, para el caso de las imágenes T1 NM los resultados no muestran tanta calidad. Esta situación no se corresponde con lo esperado, ya que al igual que en el caso de las imágenes T2, se trata de un registro entre imágenes monomodales.

### 5.3.3. Evaluación de las segmentaciones automáticas obtenidas desde imágenes T2

Como se comento anteriormente, únicamente se segmentaran de manera automática aquellas ROIs que sean utilizadas para adquirir algún marcador con poder discriminativo, o que puedan ser de utilidad en estudios posteriores. Dentro del segundo grupo se encuentra la SN vista en imágenes T2. A continuación se mostraran los valores medios del coeficiente DICE obtenidos con cada uno de los métodos de fusión de etiquetas implementados en [25]:

- Votación por mayoría (MV).
- Votación ponderada (WV).
- Segmentación discriminativa (DS).

### 5.3. EVALUACIÓN DE LA SEGMENTACIÓN AUTOMÁTICA DE LAS ROIS OBTENIDAS MEDIANTE MÉTODOS

- Etiquetado basado en patches (PT\_conv).
- Etiquetado basado en patches combinado con algoritmo de Patch Match (PT\_conv\_PM).
- Etiquetado basado en patches combinado con segmentación discriminativa (PT\_DS\_PM).
- Etiquetado basado en patches combinado con algoritmo de Patch Match y segmentación discriminativa (PT\_DS\_PM).

Inicialmente se llevo a cabo la segmentación automática utilizando únicamente 16 atlas. Los valores medios del coeficiente DICE obtenidos mediante los distintos métodos de fusión de etiquetas son los siguientes:

	<b>SN_LH</b>	<b>SN_RH</b>	<b>STh_LH</b>	<b>STh_RH</b>
<b>MV</b>	0.706	0.682	0.640	0.631
<b>WV</b>	0.741	0.733	0.665	0.665
<b>DS</b>	0.764	0.767	0.706	0.688
<b>PT_conv</b>	0.62	0.589	0.540	0.401
<b>PT_conv_PM</b>	0.735	0.737	0.687	0.686
<b>PT_DS</b>	0.760	0.776	0.730	0.716
<b>PT_DS_PM</b>	0.767	0.776	0.719	0.717

Tabla 5.12: Tabla resumen del valor medio del coeficiente DICE entre las segmentaciones automáticas y las manuales (T2, 16 atlas).

Posteriormente se incrementó el número de atlas a 30. Los nuevos valores del coeficiente DICE son los siguientes:

	<b>SN_LH</b>	<b>SN_RH</b>	<b>STh_LH</b>	<b>STh_RH</b>
<b>MV</b>	0.719	0.709	0.639	0.631
<b>WV</b>	0.756	0.748	0.670	0.665
<b>DS</b>	0.769	0.772	0.707	0.692
<b>PT_conv</b>	0.643	0.602	0.558	0.488
<b>PT_conv_PM</b>	0.733	0.736	0.694	0.694
<b>PT_DS</b>	0.775	0.777	0.730	0.719
<b>PT_DS_PM</b>	0.778	0.785	0.727	0.716

Tabla 5.13: Tabla resumen del valor medio del coeficiente DICE entre las segmentaciones automáticas y las manuales (T2,30 atlas).

Se observa una ligera mejoría de los resultados obtenidos utilizando 30 atlas con respecto a los obtenidos con 16. Este ligero crecimiento es una buena señal ya que deja entrever que si se aumenta más el número de atlas los resultados mejorarían. Por otra parte, se observa que el coeficiente DICE obtenido con las segmentaciones de la SN tiende a ser mayor que con las delineaciones del STh, lo que deja entrever la posibilidad de mejores resultados cuando el tamaño de las estructuras es mayor.

#### 5.3.4. Evaluación de las segmentaciones automáticas obtenidas desde imágenes T1 sensibles a la Neuromelanina

Las ROIs que se extraerán de manera automática desde las imágenes T1 sensibles a la neuromelanina serán el tronco encefálico y la sustancia nigra.

A diferencia del caso de las imágenes T2, inicialmente se llevo a cabo la segmentación automática utilizando 24 atlas. Los valores medios del coeficiente DICE obtenidos mediante los distintos métodos de fusión de etiquetas son los siguientes:

	SN_LH	SN_RH	MT
<b>MV</b>	0.569	0.579	0.773
<b>WV</b>	0.583	0.596	0.787
<b>DS</b>	0.639	0.639	0.787
<b>PT_conv</b>	0.261	0.154	0.68
<b>PT_conv_PM</b>	0.581	0.559	0.787
<b>PT_DS</b>	0.638	0.632	0.803
<b>PT_DS_PM</b>	0.653	0.648	0.795

Tabla 5.14: Tabla resumen del valor medio del coeficiente DICE entre la segmentación automática y las manuales (T1 NM, 24)

Los resultados obtenidos para la SN dejan mucho que desear. Los valores del coeficiente DICE tan bajos pueden ser debidos a los errores que tienen lugar en el proceso de registro no rígido. Por otro lado, los resultados obtenidos afianzan la suposición de que los métodos de segmentación basados en multi-atlas presentan mejores resultados cuanto mayor es el tamaño de la estructura a segmentar.

#### 5.4. Evaluación de los biomarcadores obtenidos desde imágenes ponderadas en T1 sensibles a la neuromelanina de manera automática

Los marcadores segmentados manualmente que presentaron buenos resultados como biomarcadores diferenciales de la enfermedad del Parkinson fueron el volumen contralateral al lado clínicamente más afectado de la sustancia nigra, los voxels más hiperintensos localizados dentro de la sustancia nigra izquierda y los voxels más hiperintensos localizados dentro de la sustancia nigra contralateral al lado clínicamente más afectado. Por tanto, serán éstos los marcadores que se segmentarán de manera automática y posteriormente se evaluarán mediante el análisis ANOVA y la curva ROC.

En la siguiente tabla se muestran los valores obtenidos para las medidas anteriormente mencionadas siguiendo la fórmula *media*  $\pm$  *desviación típica*:

	SN_CONTRA	SN_HU_LH	SN_HU_CONTRA
<b>HC</b>	495.57 $\pm$ 72.32	47.97 $\pm$ 20.15	47.97 $\pm$ 20.15
<b>EP</b>	366.71 $\pm$ 146.55	29.24 $\pm$ 18.95	25,34 $\pm$ 16.91

Tabla 5.15: Tabla resumen de los valores volumétricos obtenidos mediante segmentación automática desde imágenes T1 NM en  $mm^3$ .

Es necesario destacar que para ajustar el volumen de voxels hiperintensos localizados dentro de la sustancia nigra bilateral al intervalo dado en [27] fue necesario eliminar dos sujetos.

En este caso, las medidas han sido extraídas de un espacio común (*soma25*) para todos los sujetos. Por tanto, no se llevará a cabo la división por el volumen intracranial para evaluar los marcadores. La calidad de estas medidas como biomarcadores de la enfermedad del Parkinson se puede observar en la siguiente tabla:

	<b>p-valor</b>	<b>SE</b>	<b>EP</b>	<b>PPV</b>	<b>VPN</b>	<b>ACC</b>	<b>AUC</b>
<b>SN_CONTRA</b>	0.0548	69 %	83 %	92 %	50 %	73 %	0.719
<b>SN_UH_LH</b>	0.0557	69 %	50 %	79 %	38 %	64 %	0.719
<b>SN_UH_CONTRA</b>	0.0151	75 %	50 %	80 %	43 %	68 %	0.802

Tabla 5.16: Tabla resumen de la calidad de los marcadores obtenidos de manera automática desde imágenes T1 NM.

En comparación con los resultados obtenidos mediante las segmentaciones manuales, la calidad de los marcadores desciende. Ésto se puede observar más claramente en los resultados del análisis ANOVA. El *p-valor* se incrementa para todas las medidas, especialmente en el número de voxels más hiperintensos dentro de la SN contralateral (0.015 frente a 0.0002). La situación es más seria en el caso de la sustancia nigra contralateral y los voxels más hiperintensos. En estos casos, el *p-valor* pasa de 0.0036 a 0.0548 y de 0.0016 a 0.0557 respectivamente. Se pasa de poder rechazar la hipótesis nula a un *p-valor* > 0.05 el cual no permitirá asumir que estos marcadores son capaces de discriminar entre sujetos control sanos y paciente con la EP.

En lo referente a la calidad de diagnóstico utilizando cada uno de los marcadores como variable de clasificación, los resultados de los tres empeoran. Aún así, siguen encontrándose dentro del rango 0.75-0.9 y por tanto presentando buen rendimiento de clasificación.

Como se comentó anteriormente, la calidad de los biomarcadores también se encuentra condicionada por la calidad de las segmentaciones desde las que se extraen. Por tanto, si se mejoran las segmentaciones de las ROIs obtenidas automáticamente es posible que mejoren los resultados presentados anteriormente.

## 5.5. Evaluación conjunta de los biomarcadores obtenidos mediante imágenes ponderadas en T2 e imágenes ponderadas en T1 sensibles a la neuromelanina

En esta sección se evaluará la capacidad de diagnóstico de todos los marcadores obtenidos manualmente desde imágenes ponderadas en T2 y ponderadas en T1 sensibles a la neuromelanina de manera conjunta, independientemente de los resultados obtenidos al ser evaluados individualmente. Será necesario identificar los marcadores más características con el objetivo de minimizar el error a la hora de clasificar entre sujetos control sanos y pacientes con la EP.

En base a lo expuesto en el párrafo anterior se pueden observar dos partes claramente diferenciadas en esta sección:

- Selección de las K mejores características.

- Evaluación del diagnóstico obtenido utilizando el grupo de características como variables de clasificación.

El algoritmo que se utilizará para agrupar las  $K$  mejores características será el conocido método *minimal-redundancy-maximal-relevance* (mRMR) [22]. Este algoritmo se basa en la premisa de que las combinaciones de buenas características individuales no necesariamente conducen a un buen rendimiento de clasificación, o como se expresa textualmente en [22]: “*las  $m$  mejores características no son las mejores  $m$  características*”.

Según lo expuesto en [22], el criterio de máxima relevancia se basa en seleccionar aquellas características que presenten mayor información mutua con la variable de clasificación. Si únicamente se atendiera a este criterio para la formación de los grupos, se obtendría información relevante pero que puede ser redundante. Éste problema se solucionará con el criterio de máxima redundancia, el cual se basa en seleccionar características que presenten baja información mutua con otras ya seleccionadas. La combinación de ambos criterios dará lugar al conocido método mRMR.

Previamente a realizar cualquier agrupación, se asignará un valor numérico a cada uno de los marcadores extraídos en este trabajo:

1. Sustancia nigra izquierda (T1 NM).
2. Sustancia nigra derecha (T1 NM).
3. Sustancia nigra bilateral (T1 NM).
4. Sustancia nigra contralateral (T1 NM).
5. Sustancia nigra ipsilateral (T1 NM).
6. Hiperintensidad en la sustancia nigra izquierda (T1 NM).
7. Hiperintensidad en la sustancia nigra derecha (T1 NM).
8. Hiperintensidad en la sustancia nigra contralateral (T1 NM).
9. Hiperintensidad en la sustancia nigra ipsilateral (T1 NM).
10. Voxels más hiperintensos contenidos en la sustancia nigra izquierda (T1 NM).
11. Voxels más hiperintensos contenidos en la sustancia nigra derecha (T1 NM).
12. Voxels más hiperintensos contenidos en la sustancia nigra bilateral (T1 NM).
13. Voxels más hiperintensos contenidos en la sustancia nigra contralateral (T1 NM).
14. Voxels más hiperintensos contenidos en la sustancia nigra ipsilateral (T1 NM).
15. Sustancia nigra izquierda (T2).
16. Sustancia nigra derecha (T2).
17. Sustancia nigra bilateral (T2).
18. Sustancia nigra contralateral (T2).

19. Sustancia nigra ipsilateral (T2).
20. Subtálamo izquierdo (T2).
21. Subtálamo derecho (T2).
22. Subtálamo bilateral (T2).
23. Hipointensidad de la sustancia nigra (T2).

En un principio, se evaluarán por separado los marcadores extraídos desde imágenes T2 y NM. Primero, se realizarán agrupaciones de marcadores en base al algoritmo mRMR y posteriormente se evaluará la calidad de diagnóstico obtenida utilizando dichos marcadores como variables de clasificación :

	<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>SE</b>	<b>EP</b>	<b>PPV</b>	<b>VPN</b>	<b>ACC</b>	<b>AUC</b>
<b>T2</b>	<b>22 + 16</b>	48 %	67 %	77 %	35 %	53 %	0.471
<b>NMEL</b>	<b>12+1+10+13+4</b>	75 %	88 %	92 %	64 %	79 %	0.906

Tabla 5.17: Tabla resumen de la calidad de clasificación obtenida con los grupos de marcadores T2 y NM seleccionados mediante el algoritmo mRMR.

Cabe destacar que para el grupo de marcadores extraídos desde las imágenes T1 sensibles a la neuromelanina, se han obtenido 7 conjuntos de marcadores que proporcionan un diagnóstico con un área bajo la curva superior a 0.8, mientras que para los marcadores extraídos de T2, ninguna agrupación supera el 0.5.

Por último se analizarán de forma conjunta todos los marcadores extraídos tanto de imágenes T2 como de imágenes T1 NM. El grupo de estudio estará formado por 24 sujetos (7 HC y 17 EP) ya que únicamente se han seleccionado aquellos pacientes para los que se hayan extraído tanto los marcadores de T2 como los de T1 NM. A continuación se mostrará el mejor resultado de clasificación obtenido con la combinación de los 22 marcadores extraídos a lo largo del trabajo:

<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>SE</b>	<b>EP</b>	<b>PPV</b>	<b>VPN</b>	<b>ACC</b>	<b>AUC</b>
<b>20+12+1+13+10+4+22+18+6+7+19+3</b>	69 %	88 %	92 %	58 %	75 %	0.914

Tabla 5.18: Tabla resumen de la calidad de clasificación obtenida combinando los marcadores extraídos desde imágenes T1 NM y T2.

Desde un punto de vista práctico, debería plantearse si merece la pena combinar los marcadores de ambas imágenes. Este pensamiento surge debido a la necesidad de adquirir siete marcadores más para mejorar mínimamente los resultados obtenidos combinando exclusivamente los marcadores extraídos de las imágenes T1 sensibles a la neuromelanina.



## Capítulo 6

# CONCLUSIONES

En este capítulo se presentarán las conclusiones obtenidas a medida que se ha ido realizando el proyecto así como los desarrollos futuros.

### 6.1. Conclusión: Imágenes T2

El primer tema a tratar en este apartado serán las segmentaciones manuales extraídas desde imágenes T2. Los valores del coeficiente DICE reportados en la sección de Resultados reflejan una clara diferencia entre las segmentaciones propias y las previas. En base a estos resultados, no se puede concluir cual de las segmentaciones es mejor ya que no existe un procedimiento estándar con el que compararlas. En este estudio se tomó como “mejor” segmentación la obtenida mediante el protocolo establecido en este trabajo. Los motivos de esta decisión se deben a la siguientes razones:

- Posibilidad de aumentar la base de datos.
- Evitar la pérdida de información en el proceso de registro afín al espacio MNI-152 necesario para llevar a cabo la construcción de la librería de atlas que se utilizará en los métodos de segmentación automáticas.

Los marcadores extraídos desde las imágenes T2 fueron la volumetría de la sustancia nigra izquierda, derecha, bilateral, contralateral al lado clínicamente más afectado, ipsilateral al lado clínicamente más afectado y el nivel de hipointensidad de la sustancia nigra con respecto al pedúnculo cerebral. La evaluación individual de estos marcadores mediante los análisis ROC y ANOVA mostraron malos resultados para todos ellos. Esto se corresponde con lo reportado en [5], donde se habla de los beneficios marginales del uso de imágenes T2 en el prácticas clínicas.

Aún así, siguiendo el principio básico del algoritmo mRMR (*las m mejores características no son las mejores m características*), se evaluaron de manera conjunta los marcadores obtenidos desde imágenes T2. Los resultados observados utilizando los grupos de características obtenidos del algoritmo mRMR como variables de clasificación mostraron nuevamente valores muy pobres. El mejor resultado fue el obtenido mediante la combinación de la volumetría de la sustancia nigra izquierda y del subtálamo izquierdo, pero éste no presentó ni siquiera un área bajo la curva superior a 0.5.

Pese a los resultados observados, se llevo a cabo la segmentación automática de la sustancia nigra y subtálmo por su posible utilización como regiones de interés en otros estudios [8]. Los resultados obtenidos no fueron especialmente buenos. Aún así, su mejoría presentada ante un aumento del número de atlas deja entrever la posibilidad de obtener mejores resultados si se aumenta significativamente el número de atlas.

## 6.2. Conclusión: Imágenes T1 NM

En cuanto a la extracción de la segmentación de la sustancia nigra desde imágenes ponderadas T1 sensibles a la neuromelanina, se han debido realizar modificaciones sobre los procesos descritos en la bibliografía. Las variaciones han sido incluidas debido a la obtención de resultados erróneos en el caso de [8] y a falta de información en el proceso descrito en [2].

Superado este primer problema, se procedió a la extracción de marcadores desde las imágenes ponderadas en T1 sensibles a la neuromelanina. Estos marcadores están basados en la volumetría de la sustancia nigra, los voxels más hiperintensos dentro de la sustancia nigra y el nivel de hiperintensidad de la sustancia nigra con respecto al pedúnculo cerebral. El poder discriminativo entre sujetos control sanos y enfermos con la EP coincide con lo reportado en [8] para el caso de la volumetría contralateral, pero no en el de la ipsilateral. Para el caso de los voxels más hiperintensos dentro de la SN, al igual que se reporta en [2], se observa un aumento del poder discriminativo en el caso de la sustancia nigra contralateral e izquierda con respecto a la evaluación de las estructuras completas. Aún así, debido al método de obtención de estos voxels descrito en [27], será necesario repetir el experimento aumentando el número de sujetos control para considerarlos un biomarcador robusto. En el caso de los marcadores en intensidad los resultados obtenidos dejan mucho que desear, especialmente en comparación con los resultados reportados en [7], los cuales muestran un alto poder discriminativo entre sujetos control sanos y Parkinson.

Debido a los buenos resultados discriminativos de algunos de los marcadores anteriormente propuestos, se procedió a llevar a cabo su adquisición de manera automática. Las ROIs necesarias para llevar a cabo dicha adquisición se obtendrán mediante los métodos de segmentación multi-atlas. Los resultados obtenidos del proceso de segmentación automática fueron bastante malos, lo que podría estar debido a errores en el proceso de registro-no rígido de cada uno de los atlas sobre la imagen a segmentar. La baja calidad de las ROIs segmentadas afecto especialmente al poder discriminativo de la sustancia nigra contralateral y los voxels más hiperintensos dentro de la sustancia nigra izquierda, los cuales pasaron a tener un *p-valor* que impedía rechazar la hipótesis nula.

Por último, se llevo a cabo la combinación, mediante el algoritmo mRMR de los marcadores obtenidos anteriormente de manera manual, debido a que podrían presentar mejorías con respecto al análisis individual. Ésto se observa especialmente en la combinación formada por los voxels más hiperintensos contenidos en la sustancia nigra bilateral, izquierda y contralateral junto a la volumetría de la región izquierda y contralateral, la cual presenta un valor de área bajo la curva superior a 0.9. Pos-

teriormente se procedió a analizar de manera combinada los marcadores de T2 con los de T1 NM. Se consiguió incrementar ligeramente el área bajo la curva, a costa de incrementar en 7 el número de marcadores necesarios para hacer el diagnóstico.

### 6.3. Desarrollos Futuros

Los desarrollos futuros del trabajo serán los siguientes:

- Mejorar el protocolo de segmentación manual de la SN y STh para obtener resultados más robustos.
- Aumentar la base de datos de imágenes T2 para mejorar las segmentaciones resultantes de los métodos basados en multi-atlas.
- Aumentar la base de datos de imágenes T1 NM para aportar mayor robustez a los biomarcadores extraídos en este trabajo, en especial al volumen de voxels más hiperintensos dentro de la sustancia nigra contralateral.
- Segmentación del locus coeruleus desde las imágenes T1 NM debido a su poder discriminativo reportado en [8].
- Modificar los parámetros del software Elastix para mejorar los resultados del registro no-rígido y por tanto de la segmentación automática.
- Extracción de marcadores desde otras modalidades de imagen capaces de captar cambios relacionados con la enfermedad del Parkinson [23], para analizarlos tanto individualmente como combinados con los extraídos en este trabajo.
- Análisis longitudinal utilizando imágenes T1 NM con el objetivo de observar la calidad de los biomarcadores propuestos en este trabajo como marcadores de la progresión de la enfermedad.



## Apéndice A

# Anexo A: Imágenes de Resonancia Magnética (MRI)

El fenómeno de la resonancia magnética nuclear tiene unos orígenes relativamente recientes siendo descubierta en 1946 por los científicos Purcell y Bloch. Sin embargo, no fue hasta el año 1952 cuando se llevo a cabo la primera imagen del interior de un objeto con esta técnica y hasta los años 70 cuando se patento la primera máquina. En la actualidad el número de máquinas no es muy elevado debido a los altos costes de fabricación y mantenimiento.

Desde el punto de vista de la salud, la principal ventaja de la resonancia magnética radica en que no emplea radiación ionizante<sup>1</sup> para obtener las imágenes.

### TOMA DE LAS IMÁGENES

La adquisición de las imágenes se basa en el efecto de precesión de los núcleos de hidrógeno, definido por el Teorema de Larmor. Todos los átomos con un número impar de partículas nucleares poseen la propiedad de resonancia magnética nuclear. El núcleo rota alrededor de un eje que pasa por su centro lo cual produce un campo magnético. Cuando los átomos tienen un número par de protones los momentos magnéticos de las partículas se cancelan unos con otros, pero en el caso de que sean impares, dan como resultado un momento magnético que puede medirse. Estos átomos se comportan como dipolos por lo que al ser sometidos a la acción de un campo magnético se alinean tanto en antiparalelo como en paralelo lo que hará que se cancelen entre ellos. Sin embargo, existirá un cierto exceso de dipolos alineados en paralelo (dirección de menor energía) que da lugar un vector de magnetización neta en la dirección del campo magnético externo.

En resonancia magnética este campo magnético es perturbado por una fuente de energía externa (pulsos de radiofrecuencia), el resultado es un movimiento del eje del vector llamado movimiento de precesión, cuya frecuencia es proporcional a la fuerza del campo principal y específica para cada núcleo. Como consecuencia el vector resultante formará un determinado ángulo con respecto al campo magnético original conocido como flip-angle (ángulo de desviación(FA)).

---

<sup>1</sup>Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las dosis bajas de radiación ionizante pueden aumentar el riesgo de efectos a largo plazo, tales como el cancer y cuando dichas dosis superan determinados niveles pueden tener efectos agudos en la salud, tales como quemaduras cutáneas o síndrome de irradiación aguda

En función del tipo de imagen que se desee obtener habrá que variar un poco este proceso genérico.

Para emplear la secuencia *Spin-Eco* (*SE*) hay que elegir un pulso de radiofrecuencia que produzca un ángulo de desviación de  $90^\circ$ , por lo que habrá que aplicar un pulso de  $90^\circ$ . Cuando el pulso de radiofrecuencia se interrumpe, el objeto sometido al campo magnético libera la energía recibida en forma de señal de radiofrecuencia, a este fenómeno se le conoce como caída libre de inducción (FID). Esta señal se recibe al inducir una corriente eléctrica en una bobina de alambre adecuadamente colocada que actúa como una antena. Debido a que el campo magnético no es totalmente homogéneo la FID ocurre muy rápidamente y la señal de radiofrecuencia emitida por el cuerpo se desfase, por lo que será necesario compensar este desfase aplicando un segundo pulso de radiofrecuencia más potente (pulso de  $180^\circ$ ) para así mantener una señal suficiente para obtener la imagen. La señal recibida por la antena se llama Spin-Eco.

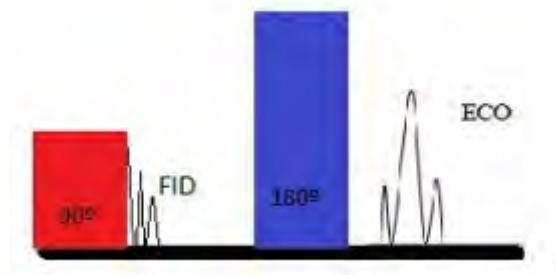


Figura A.1: Pulsos de radiofrecuencia SPIN-ECO

En el caso de la secuencia Turbo Espín Eco (TSE) se aplican varios pulsos de  $180^\circ$  produciendo cada uno ecos diferentes.

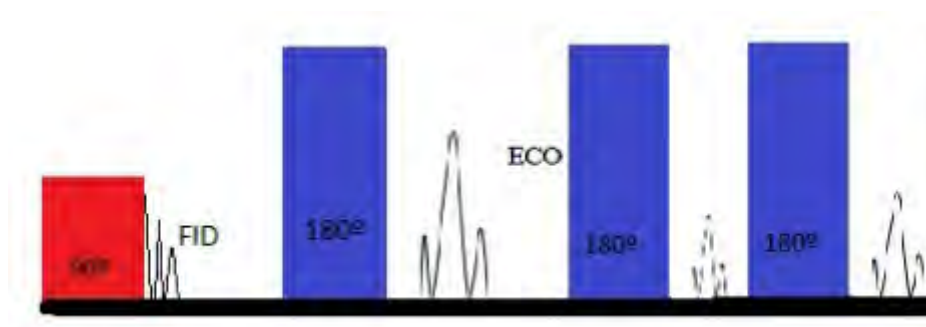


Figura A.2: Pulsos de radiofrecuencia TURBO SPÍN ECO

Asociados a estas secuencias existen dos importantes conceptos:

- Tiempo de Repetición (TR): Tiempo que hay entre cada pulso de radiofrecuencia.

- Tiempo de Eco (TE): Tiempo que transcurre desde el pulso de excitación principal y la obtención del eco.

Dependiendo de como varíen estos tiempos, se obtienen las imágenes potenciadas en modalidad T1, T2 y DP (Densidad Protónica). Ver figura A.3.

### PONDERACIÓN T1

Recibe el nombre de *tiempo de relajación spin-red, spin-lates, spinplasma* o *tiempo de relajación longitudinal*. El T1 de un tejido se define como el tiempo que tarda la magnetización longitudinal en recuperar el 63 % de su estado de equilibrio. Este valor depende del entorno molecular de los núcleos de hidrógeno (H), ya que en función de como sea éste, la liberación de la energía del núcleo H se producirá con mayor o menor facilidad. Es decir, el retorno longitudinal de los protones para su alineación con el campo magnético externo después de que se interrumpa el pulso de radiofrecuencia será más o menos costoso dependiendo del entorno molecular de dicho proton. Se mide en mili segundos.

Como se ha dicho anteriormente el T1 varía con la estructura molecular. Los líquidos presentan un T1 más largo (las moléculas de agua tardan bastante tiempo en transferir su energía) que los sólidos y estos a su vez mayor que los tejidos grasos (transfieren energía más rápidamente). Las sustancias con T1 largo serán hipointensas y las que poseen un T1 corto hiperintensas (muestran mayor intensidad de señal). En imágenes de resonancia magnética potenciadas en T1 los líquidos aparecen de color negro mientras que las moléculas de mayor tamaño, como las del tejido graso, aparecen de un color blanco.

Las medidas de T1 dependen del valor del campo magnético por lo que a la hora de dar valores de T1 debe indicarse el campo magnético con el que han sido calculados.

Para la obtención de imágenes en T1 el TR debe ser menor a 800 ms y el TE inferior a 20ms. El TR tiene que ser corto para resaltar las diferencias en la señal de relajación T1 de los tejidos y el TE debe ser corto para que no se manifieste el efecto T2. Cuanto más corto sea el T1 más intensa será la señal.

### PONDERACIÓN T2

Recibe el nombre de *tiempo de relajación spin-spin, o tiempo de relajación transversal*. El T2 de un tejido define como el tiempo que tarda la magnetización transversal en descender en un 63 % de su fuerza máxima.

La relajación T2 mide el tiempo que los protones permanecen en fase después de un pulso de radiofrecuencia. El desfase aparece debido a los campos magnéticos proveniente de los protones vecinos. Las sustancias con T2 largo serán hiperintensas y las que poseen un T2 corto serán hipointensas.

A diferencia de los valores de T1, los de T2 son poco sensibles a cambios en el campo magnético aplicado pero igualmente debe indicarse el valor del campo en que

han sido calculados.

Si se aplica un TR superior a 2000ms y un TE que supere los 80ms se obtiene una imagen potenciada en T2. El TR tiene que ser largo para que la relajación T1 se haya completado y no influya en la imagen. Lo mismo sucede con el TE, el cual debe ser largo para que la imagen refleje las diferencias en T2. Cuanto más largo es el T2 más intensa será la imagen.

Elemento	Secuencia T1	Secuencia T2
Agua	Gris muy oscuro	Blanco
Grasa	Blanco	Gris oscuro
Aire	Negro	Negro
Tejido colágeno denso	Negro	Negro
Hueso cortical	Negro	Negro
Sangre en periodo subagudo(metahemoglobina)	Blanco	Blanco
Sangre en periodo remoto (hemosiderina)	Negro	Negro
Sustancia gris	Gris oscuro	Gris claro
Sustancia blanca	Gris claro	Gris oscuro

Tabla A.1: Tabla de intensidades de tejidos en secuencias potenciadas en T1 y T2

Actualmente se utilizan medidas de contraste como el gadolinio<sup>2</sup> (Gd) [20] , el cual al adherirse a los tejidos facilita la relajación de los núcleos de H con los que se relaciona, por lo que acorta el T1 y da lugar a imágenes hiperintensas.

## DENSIDAD PROTÓNICA (DP)

Para obtener una imagen potenciada en DP se debe aplicar un TR superior a 1200ms e inferior a 2000ms y un TE que no supere los 30ms. El tiempo TR tiene que ser largo para que la relajación T1 se haya completado y no influya en la imagen. El TE debe ser lo más corto posible para que no de tiempo al efecto T2 a manifestarse.

La señal que forma la imagen esta determinada por la densidad de los protones en el tejido.

---

<sup>2</sup>Metal del grupo de los lantánidos que en forma libre resulta tóxico para el organismo pero que al convivirse con un quelante lo convierte en inerte y no tóxico

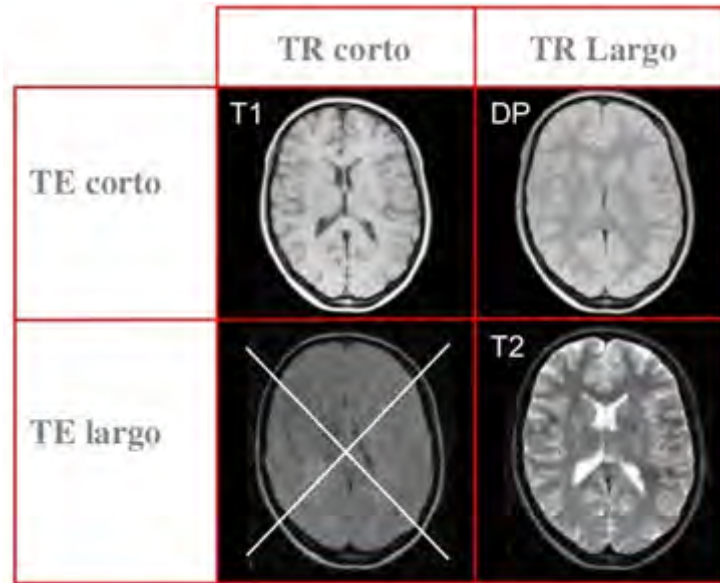


Figura A.3: Imágenes de RM captadas mediante la secuencia Spin-Eco

Además de la Spin-Eco, existen otras secuencias para obtener imágenes en resonancia magnética. A continuación se expondrán brevemente dos:

#### ■ Secuencia Inversión-Recuperación

Se trata de una secuencia derivada del Spin-Eco en la que se aplica un pre-pulso de  $180^\circ$  previo al pulso de excitación de  $90^\circ$ . Ver figura A.4.

Esta secuencia tiene asociado un parámetro que recibe el nombre de Tiempo de Inversión (TI) y se define como el tiempo que transcurre entre el lanzamiento del pre-pulso de  $180^\circ$  y el lanzamiento del pulso de excitación. Se trata de un parámetro que se puede seleccionar libremente en el propio equipo en función de la señal de tejido que desee eliminar (la señal del tejido se anula si la curva de relajación T1 pasa por cero en ese momento). Los dos tejidos que se suelen eliminar son la grasa (secuencia STIR) y el agua (secuencia FLAIR).

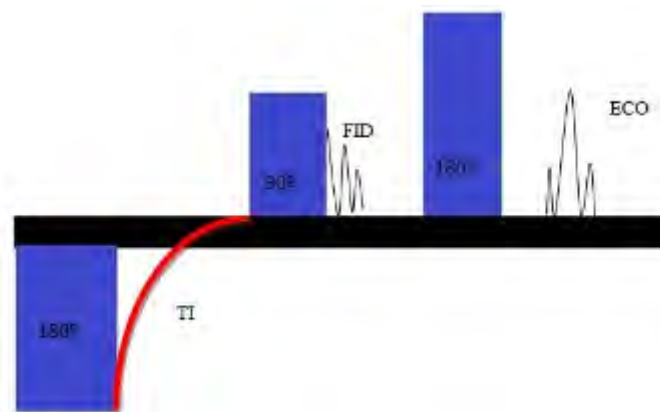


Figura A.4: Pulsos de radiofrecuencia secuencia Inversión-Recuperación

### ■ Secuencias Eco de Gradiente

Son secuencias que emplean ángulos de desviación menores de  $90^\circ$ , por lo que será más rápida que la SE y la TSE (menor tiempo de adquisición de la secuencia). A diferencia de las secuencias anteriores no se utilizan pulsos de  $180^\circ$  para el refase, sino que en el momento que se produce la FID se aplica un gradiente de desfase lo cual produce que se refasen los protones y por tanto que aparezca el Eco. En este momento se aplica otro gradiente de refase en la dirección de lectura. Por último se aplica otro gradiente en el mismo momento en el que se aplica el pulso de radiofrecuencia, denominado gradiente de selección de corte.

Para poder obtener secuencias en Eco de Gradiente potenciadas en T1, T2\* y CP, se debe de considerar el ángulo de desviación además de los parámetros TE y TR.

## Apéndice B

# Anexo B: Registro de Imágenes

El registro de imágenes [4] tiene como objetivo superponer dos capturas de la misma escena que pueden haber sido adquiridas en diferentes instantes de tiempo (análisis multi-temporal), desde distintos puntos de vista (análisis multi-vista) y/o usando diferentes sensores (análisis multi-modal). Estas diferencias a la hora de tomar las imágenes tiene como consecuencia la aparición de discrepancias geométricas que impiden una superposición precisa de las imágenes. Ante este problema, para alcanzar dicho objetivo, se mantiene una de las imágenes sin modificar (imagen de referencia) mientras que la otra imagen (imagen de entrada) se modifica geométricamente para ajustarla a la de referencia. Mediante este proceso se eliminan las diferencias geométricas de manera que los voxels de ambas imágenes situados en las mismas coordenadas se corresponden con el mismo punto del objeto y, por tanto se pueden comparar o integrar fácilmente.

Cabe destacar la importancia de conseguir una gran precisión a la hora de llevar a cabo el registro ya que una transformación inadecuada provoca importantes desajustes. La precisión dependerá de las condiciones de adquisición de la imagen (ángulo de observación e iluminación), la geometría de la escena y el sensor que se utilice para captar la imagen (naturaleza de las imágenes). Existe una gran variedad de medidas que cuantifican la precisión del registro, también llamadas medidas de consistencia de las que se hablará más adelante.

A continuación se procede a describir tanto el problema como los pasos a seguir normalmente para llevar a cabo el propio proceso de registro.

### PROBLEMA

Dado un punto cualquiera  $X = (x, y, z)^t \in \mathbb{R}^3$  situado en dos escenas distintas en las coordenadas  $x = (x, y, z)^T \in \Omega$  y  $x' = (x', y', z')^T \in \Omega$ , respectivamente, con  $\Omega \subset \mathbb{N}^3$ , se define la aplicación  $f : \Omega \rightarrow \Omega$ , biyectiva<sup>1</sup>, que relaciona geoméricamente las coordenadas  $x$  y  $x'$  como:

$$x = f(x') \equiv \begin{cases} x = f_x(x', y', z') \\ y = f_y(x', y', z') \\ z = f_z(x', y', z') \end{cases}$$

donde  $f_x$ ,  $f_y$  y  $f_z$  son las funciones de transformación en  $x$ ,  $y$  e  $z$ , respectivamente.

---

<sup>1</sup>Una aplicación es biyectiva si todos los elementos del conjunto de salida tienen una imagen distinta en el conjunto de llegada, y a cada elemento del conjunto de llegada le corresponde un elemento del conjunto de salida

Mediante el registro de imágenes se pretende determinar tanto el tipo como los parámetros de la función  $f$  que permita obtener la superposición adecuada de  $x$  sobre  $x'$ .

## PROCESO

Sea una imagen de referencia  $I$  y una imagen de entrada  $I'$ , considerando una función de interpolación  $r$  y una medida de consistencia del registro  $s$ , los pasos a seguir para llevar a cabo la operación del registro son los siguientes:

1. Se lleva a cabo la extracción de elementos característicos de ambas imágenes y se establecen correspondencias entre ellos.
2. En base a las correspondencias establecidas en el paso anterior se concretan los parámetros de la función de transformación  $f$ .
3. Mediante la función obtenida se transforman las coordenadas de la imagen de entrada y se transfieren los valores de intensidad mediante la función de interpolación  $r$ .

Este proceso se repite de manera iterativa hasta que la medida de similitud  $s$  alcanza un valor determinado  $t$ .

Una representación esquemática de dicho proceso se puede observar en la figura (B.1).

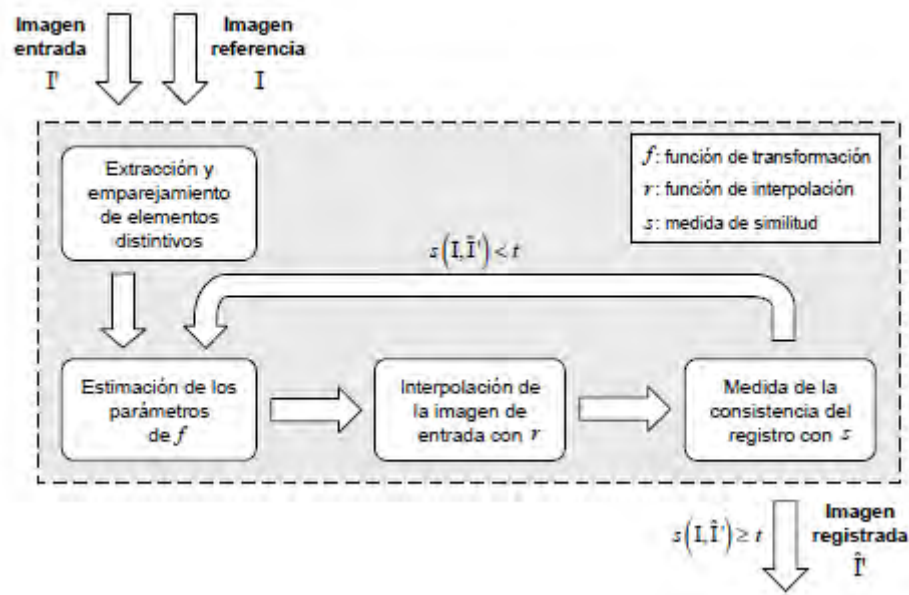


Figura B.1: Proceso de registro de imágenes.

Los elementos que intervienen en el proceso de registro son los explicados en las siguientes hojas .

## BASES DEL REGISTRO

Se tratan de los elementos utilizados para establecer la relación geométrica entre las imágenes. Éstos pueden ser características de ambas imágenes o las propias

imágenes al completo (niveles de intensidad). Las bases a emplear son de gran importancia ya que influyen directamente en el coste computacional del proceso y permiten clasificar los métodos de estimación de los parámetros de la función de transformación en dos grupos:

- **Basados en puntos:** Los parámetros se determinan a partir de un conjunto de correspondencias entre ambas imágenes  $\{(x_i, x'_i), i = 1, \dots, n\}$ , llamadas puntos de control (CP). El problema consiste en resolver:

$$\begin{aligned} \underset{\alpha \{(x_j, x'_j), j = 1, \dots, m\}}{\operatorname{argmin}} \quad & (x_i - f(x'_i)) \end{aligned} \quad (\text{B.1})$$

donde  $\alpha$  son los parámetros de la función de transformación  $f$  y  $\{(x_j, x'_j), j = 1, \dots, m\}$ , con  $m \leq n$ , un conjunto de correspondencias libre de espurios.

- **Basados en intensidad:** Los parámetros se determinan mediante un proceso de optimización consistente en maximizar una medida de similitud de intensidad. Para llevar a cabo este proceso se requiere la utilización total de ambas imágenes ya que es necesario comparar la totalidad de los píxeles de ambas por lo que este método implicará un mayor coste computacional. El problema consiste en resolver:

$$\underset{\alpha}{\operatorname{argmax}} \quad s(I(x_i), I'(f^{-1}(x_i))) \quad (\text{B.2})$$

donde  $i = 1, \dots, N$ , siendo  $N$  el número de voxeles de la imagen de referencia y  $s$  una medida de similitud.

### FUNCIÓN DE TRANSFORMACIÓN

Se trata de la relación geométrica entre los voxeles de ambas imágenes. Se puede distinguir entre transformaciones rígidas, transformaciones afines y transformaciones no-rígidas o elásticas. Según su ámbito de influencia podemos distinguir a su vez entre:

- *Funciones globales:* La transformación afecta a la totalidad de los voxeles de la imagen.
- *Funciones locales:* La influencia de la transformación depende de la posición de cada voxel de la imagen.

### Transformaciones rígidas

También llamadas homográficas, se trata de transformaciones que aseguran la invarianza de las rectas, es decir, mantienen sus ángulos y longitudes. Esto no asegura que se sigan manteniendo otras propiedades como el paralelismo. Están constituidas por traslaciones y rotaciones.

- **TRASLACIÓN**

Mueve el objeto a una nueva posición. La representación matricial de esta transformación es la siguiente:

$$\begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ t_x & t_y & t_z & 1 \end{pmatrix}$$

Donde  $t_x$ ,  $t_y$  y  $t_z$  son las traslaciones en los respectivos ejes de coordenadas. Ver figura(B.2).

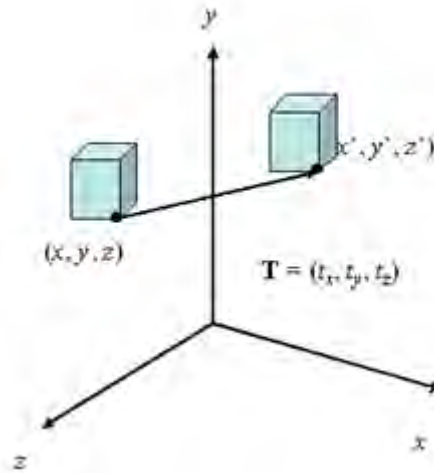


Figura B.2: Traslación de un objeto.

## ■ ROTACIÓN

La rotación en tres dimensiones puede definirse alrededor de cualquier recta en el espacio. Existen tres rotaciones elementales que se definen alrededor de los ejes coordenados.

La representación matricial de estas transformaciones elementales es la siguiente:

- Rotación respecto al eje x.

$$\begin{pmatrix} \cos\theta_x & \text{sen}\theta_x & 0 & 0 \\ -\text{sen}\theta_x & \cos\theta_x & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

Donde  $\theta_x$  es el ángulo de rotación respecto al eje x.

- Rotación respecto al eje y.

$$\begin{pmatrix} \cos\theta_y & 0 & -\text{sen}\theta_y & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ \text{sen}\theta_y & 0 & \cos\theta_y & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

Donde  $\theta_y$  es el ángulo de rotación respecto al eje y.

- Rotación respecto al eje z.

$$\begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos\theta_z & \text{sen}\theta_z & 0 \\ 0 & -\text{sen}\theta_z & \cos\theta_z & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

Donde  $\theta_z$  es el ángulo de rotación respecto al eje z.

### Transformaciones afines

Se trata de una transformación con 12 grados de libertad. Se caracteriza por preservar el paralelismo, el ratio de áreas, el ratio de longitudes de líneas colineales o paralelas y las combinaciones lineales de vectores. Una transformación afín consta de secuencias de rotaciones, traslaciones, escalamientos y sesgados.

#### ■ ESCALADO

El escalado cambia el tamaño del objeto y al mismo tiempo desplaza el objeto a una nueva posición. La representación matricial del escalado es la siguiente:

$$\begin{pmatrix} S_x & 0 & 0 & 0 \\ 0 & S_y & 0 & 0 \\ 0 & 0 & S_z & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

Donde  $S_x$ ,  $S_y$  y  $S_z$  son los factores de escalado para las medidas en las direcciones x, y ,z respectivamente. Ver figura(B.3).

#### ■ SESGADO

La operación de sesgado consiste en modificar las coordenadas de dos direcciones manteniendo inalteradas las de la dirección restante. Por tanto existen tres formas distintas de aplicar la transformación de sesgado:

- Coordenadas del objeto z inalteradas.

$$\begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ sh_x & sh_y & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

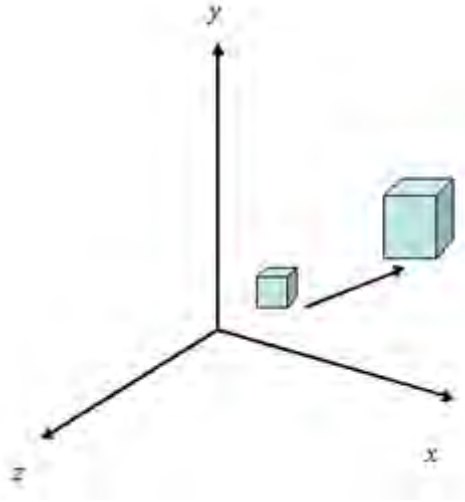


Figura B.3: Escalado de un objeto.

- Coordenadas del objeto y inalteradas.

$$\begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ sh_x & 1 & sh_z & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

- Coordenadas del objeto x inalteradas.

$$\begin{pmatrix} 1 & sh_y & sh_z & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

Donde los términos  $sh$  representan las deformaciones en los ejes indicados.

### Transformaciones no-rígidas

Se utilizan cuando las transformaciones rígidas no son suficientes para modelar las distorsiones, frecuentemente no lineales, que presentan un par de imágenes conjugadas <sup>2</sup>.

#### ■ POLINOMIAL

Son utilizadas en el caso que las imágenes presentes diferencia geométricas globales que afectan a toda la imagen por igual. Sería el caso en el que la imagen de referencia y la entrada son adquiridas desde la misma posición.

<sup>2</sup>Imágenes de una misma escena que presentan diferencias geométricas.

Por el contrario, son inservibles para el caso en que las imágenes presenten diferencias locales, ya que no proporcionan resultados aceptables, lo que hace que su campo de aplicación sea muy limitado.

Cabe destacar que cuanto mayor sea el grado del polinomio, la función será capaz de modelar diferencias geométricas más acentuadas ya que contará con más grados de libertad.

#### ■ LINEAL POR TROZOS

Las funciones lineales por trozos llevan a cabo el registro dividiendo las imágenes en regiones triangulares conjugadas que son registradas individualmente mediante transformaciones lineales.

El principal inconveniente de este método radica en que las líneas pueden no conservarse en las transiciones entre los triángulos lo que da lugar al llamado *efecto de quebramiento*.

#### ■ BASE RADIAL

Se trata de métodos de interpolación de datos dispersos donde la transformación geométrica viene determinada por la combinación lineal de funciones de base radial<sup>3</sup> simétricas centradas en un punto de control (CP).

Las funciones de base radial constan de una componente global que se encarga de corregir deformaciones lineales y otra componente local que se ocupa de modelar distorsiones no lineales.

La utilización de este tipo de funciones puede provocar ciertas deformaciones en la imagen, pero éstas son controladas con facilidad.

Algunas de las más utilizadas son:

- *Thin-plate-spline*: Esta función posee una influencia global.
- *Gaussiana*: Esta función por el contrario, posee una influencia mucho más local.

### MEDIDA DE CONSISTENCIA

Cuantifica cómo de bien se superponen la imagen registrada y la imagen de referencia. Estas medidas se clasifican en función de las bases utilizadas en el registro:

#### ■ *Basadas en puntos*:

En este caso la precisión se determina mediante el cálculo de la distancia entre un conjunto de correspondencias identificadas en ambas imágenes que reciben el nombre de puntos independientes de control (ICP).

Dadas dos imágenes  $I$  e  $\hat{I}'$  del mismo tamaño; un conjunto de  $n$  correspondencias  $\{(x_i, x_{i'}), i = 1, \dots, n\}$  identificadas en ellas y la función de transformación geométrica  $f$  se definen las siguientes medidas de consistencia:

---

<sup>3</sup>Función real cuyo valor depende únicamente de la distancia al centro

- *Error cuadrático medio (RMSE):*

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n d_i^2} \quad (\text{B.3})$$

- *Error circular con 90 % de confianza:*

$$P(d_i \leq CE90) = 90\% \quad (\text{B.4})$$

donde  $d_i = \|x_i - f(x'_i)\|$ .

La diferencia entre estos métodos está en que el RMSE considera los errores de todos los ICPs (incluyendo correspondencias espurias), mientras que el CE90 mide el error máximo que acota superiormente el 90 % de los errores de ajuste.

- *Basadas en intensidad:*

Cuantifican la precisión del registro comparando el contenido de las dos imágenes voxel a voxel. En este enfoque cambios en el nivel de intensidad como pueden ser los debidos a variaciones en la iluminación son considerados como errores. Ésto significa un notable inconveniente ya que es muy complicado distinguir si la diferencia de intensidad que presenta un voxel en ambas imágenes se debe a un mal ajuste o a un cambio radiométrico.

Las medidas de consistencia más utilizadas son la *correlación cruzada (CC)* y la *información mutua (MI)*. Éstas son algunas de las medidas más importantes, pero no las únicas. Para seleccionar la más idónea se debe tener en cuenta el tipo de aplicación, los requisitos computacionales y, fundamentalmente, la modalidad y el tipo de diferencias radiométricas que exhiban las imágenes.

## CORRELACIÓN CRUZADA

Esta medida compensa tanto cambios en el brillo medio como variaciones en el contraste.

Su principal inconveniente es que no presenta un comportamiento adecuado cuando las diferencias en las paletas de las imágenes no son lineales por lo que se suele usar para el registro de imágenes mono-modales.

## INFORMACIÓN MUTUA

La MI mide la dependencia estadística de los niveles de intensidad de las dos imágenes, no su similitud radiométrica, luego no se ve afectada por diferencias radiométricas (como puede ser la iluminación) ni en la naturaleza de las imágenes (puede trabajar con imágenes multi-modales).

La elección de la medida de consistencia idónea depende de una amplia variedad de factores como pueden ser la disponibilidad de ICPs fiables, la naturaleza de las imágenes (mono-modales o multi-modales), su sensibilidad a las posibles diferencias radiométricas e incluso su coste computacional.

## FUNCIÓN DE INTERPOLACIÓN

Posee gran importancia ya que es la encargada de transferir los niveles de intensidad de la imagen de entrada a la imagen transformada. El problema radica en que en ocasiones el valor que hay que transferir no está asociado a un voxel concreto de la imagen de entrada sino a una posición cercana. Es por ello que será necesario determinar el nivel de intensidad a transferir mediante la función de interpolación. El proceso de interpolación se resume en los siguientes pasos:

1. Para cada voxel  $x = (x, y, z)^T$  de la imagen interpolada se obtienen las coordenadas origen en la imagen de entrada mediante  $f^{-1}(x)$ .
2. Por medio la función de interpolación, se determina la intensidad/color a transferir a la imagen interpolada.
3. Finalmente, se rellena el voxel  $x$  con dicho valor.

Existen una gran variedad de funciones de interpolación y la mayoría de ellas generan los niveles de gris a partir del conjunto de voxels que rodean a la coordenada transformada. Dentro de este grupo hay algunos que tienen un coste computacional inferior como es el caso de *el vecino más próximo* (solo utiliza un voxel), pero este produce imágenes con contornos fragmentados (efecto escalón). Otros como el caso de la interpolación bilineal (utiliza los 4 voxels más cercanos) o la bicúbica (utiliza los 16 voxels más cercanos) conllevan un mayor coste computacional pero producen imágenes de mayor calidad visual.

### MÉTODO DE ESTIMACIÓN

Se trata de los métodos de optimización empleados para obtener los parámetros robustos de una función de transformación mediante la resolución de los enunciados (B.1) o (B.2). Para el caso de que se trate de funciones de transformación sencillas se puede proporcionar una solución cerrada, pero en el caso de las funciones no-rígidas no se pueden emplear este tipo de soluciones y por tanto se recurre a métodos basados en algoritmos iterativos.



## Apéndice C

# Anexo C: Análisis de la Varianza con un Factor. ANOVA

Este método se utilizará para evaluar distintas segmentaciones de las mismas imágenes en función de la capacidad que tienen para diferenciar entre poblaciones en base a un marcador. Se calificará como “la mejor segmentación” a aquella que mejor consiga diferenciar entre individuos control e individuos con la enfermedad del Parkinson. Es decir, “la mejor segmentación” será aquella para la cual la función de distribución de probabilidad del volumen para pacientes control y Parkinson sean independientes <sup>1</sup>. La calificada como “la mejor segmentación” será aquella que se utilice en posteriores estudios y el resto serán desechadas.

Para llevar a cabo este estudio se realizará análisis de la varianza con un factor (ANOVA). Se trata de un método estadístico que se utiliza para contrastar la hipótesis nula de que las medias de distintas poblaciones coinciden.

### ANOVA

En este método se comparará el comportamiento de una variable **respuesta** (*volumen*) en los distintos valores, **niveles** (*control, Parkinson*), de otra variable, denominada **factor** (*pacientes*). La comparación de la variable respuesta en los  $K$  niveles del factor, se realiza analizando el comportamiento de la media de las dos poblaciones.

Debido a que los valores de la media ( $\mu_i$ ), con  $i = 1, \dots, K$ , serán desconocidos, la comparación de sus valores se realizará comparando sus valores estimados: sus medias muestrales respectivas ( $\bar{\mu}_{i\bullet}$ ).

$$\bar{\mu}_{i\bullet} = \frac{\sum_{j=1}^{n_j} y_{ij}}{n_j} \approx \mu_i \quad (\text{C.1})$$

Si los distintos valores de  $\bar{\mu}_{i\bullet}$  se encuentran alejados entre sí se podrá concluir que es posible que existan valores de  $\mu_i$  diferentes. Si por el contrario, los valores se encuentran próximos se tendrá evidencia de que los valores de  $\mu_i$  pueden ser

---

<sup>1</sup>En caso de que exista independencia en las funciones para ambas segmentaciones, “la mejor segmentación” será aquella en la que las funciones sean menos dispersas.

iguales. Será necesario establecer un criterio que permita decidir cuando se encuentran alejadas entre sí, y cuándo cercanas.

Para establecer el criterio, se evaluará tanto la variabilidad entre las medias muestrales (variabilidad explicada, VE) como la variabilidad entre las observaciones obtenidas de cada factor (variabilidad no explicada, VNE):

- La variabilidad explicada, VE, depende de las distancias entre las medias muestrales y es atribuible, únicamente a la diferencia de comportamiento de la variable respuesta en los  $K$  niveles del factor.

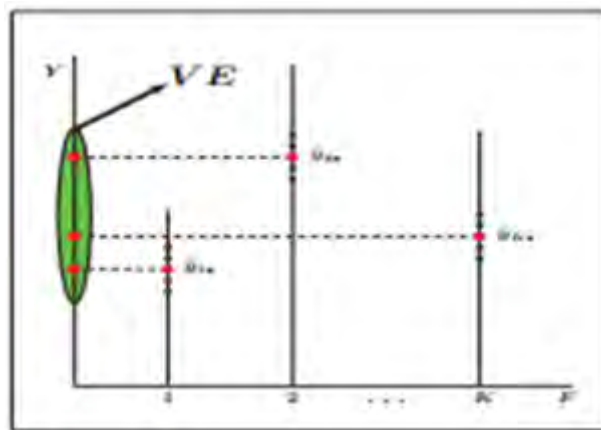


Figura C.1: Representación gráfica de VE.

- La variabilidad no explicada, VNE, depende de las distancias entre las observaciones obtenidas para el mismo factor, por lo que no se puede atribuir al cambio de nivel del factor. Se trata de una variabilidad natural, que contiene el efecto sobre la respuesta de todo lo no controlado por la experimentación.

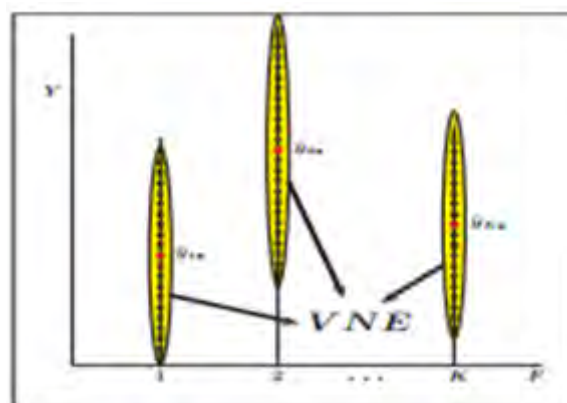


Figura C.2: Representación gráfica de VNE.

En la medida que VE sea grande con respecto a VNE, se tendrá evidencia para concluir que los distintos valores de  $\bar{\mu}_i$  están alejados entre sí y que, por lo tanto,

puede ocurrir que todas las  $\mu_i$  no sean iguales. Si por el contrario, VE es pequeña con respecto a VNE, los distintos valores de  $\mu_i$  pueden ser iguales.

Para calcular la VE, se tomará como referencia  $\bar{\mu}_{\bullet\bullet}$  que es la media del conjunto total de las observaciones:

$$\bar{\mu}_{\bullet\bullet} = \frac{\sum_{i=1}^K \sum_{j=1}^{n_j} y_{ij}}{N} \quad (\text{C.2})$$

donde N es la suma de los ensayos realizados en cada nivel.

La variabilidad explicada VE se definirá como:

$$VE = \sum_{i=1}^K n_i (\bar{\mu}_i - \bar{\mu}_{\bullet\bullet})^2 \quad (\text{C.3})$$

donde  $n_i$  tiene por objeto ponderar la aportación de cada media con el número de datos con que dicha media ha sido calculada

La variabilidad no explicada VNE se definirá como:

$$VNE = \sum_{i=1}^K \sum_{j=1}^{n_i} (y_{ij} - \bar{\mu}_i)^2 \quad (\text{C.4})$$

Para poder definir una regla de decisión que permita discriminar si VE es grande o pequeña con respecto a VNE se supondrá que se verifican las conocidas como *hipótesis básicas del modelo del Análisis de la Varianza con un un factor*:

- La variable respuesta en los individuos tratados con el nivel  $i$ , con  $i = 1, \dots, K$  del factor,  $F$  sigue una distribución:

$$(Y|F = i) \approx N(\mu_i, \sigma) \quad (\text{C.5})$$

- Todos los  $y_{ij}$  son independientes entre sí.

Si  $(Y|F = i) \approx N(\mu_i, \sigma)$ , con  $i = 1, \dots, K$ , siendo las observaciones  $y_{ij}$  independientes, y, adicionalmente, se verifica la hipótesis:

$$H_0 : \mu_1 = \dots = \mu_k = \mu \quad (\text{C.6})$$

se define la variable  $F$  como:

$$F = \frac{\frac{VE}{(K-1)\sigma^2}}{\frac{VNE}{(N-K)\sigma^2}} = \frac{\frac{VE}{K-1}}{\frac{VNE}{N-K}} = \frac{\hat{S}_e^2}{\hat{S}_R^2} \rightarrow F_{(K-1; N-K)} \quad (\text{C.7})$$

Cuando  $F$  tenga un valor elevado se tendrá evidencia de que VE es grande en comparación con VNE, lo que llevará a rechazar la hipótesis nula del contraste y se aceptará que existen  $\mu_i$  y  $\mu_j$  tales que:

$$\mu_i \neq \mu_j \quad (\text{C.8})$$

Cuando  $F$  sea pequeña se tendrá evidencia de que VE es pequeña en comparación con VNE, lo que llevará a aceptar la hipótesis nula del contraste y se aceptará que:

$$\mu_i = \dots = \mu_k = \mu \quad (\text{C.9})$$

Para decidir si el valor de  $F$  es grande o pequeño, se fija un valor frontera,  $F_\alpha$  (habitualmente  $\alpha = 0,100,0500,01$ ), lo que genera una zona de aceptación de  $H_0$  ( $F$  pequeña) y otra de rechazo de  $H_0$ ,  $F$  grande.

Definiendo el  $p$  - valor del contraste como  $P(F_{(K-1;N-K)} \geq F_0|H_0)$  siendo  $F_0$  el valor  $F$  obtenido con los datos muestrales. El  $p$  - valor es un indicador de si  $F_0$  se encuentra en la zona de aceptación,  $p > \alpha$ , o en la de rechazo,  $p < \alpha$ . Gráficamente:

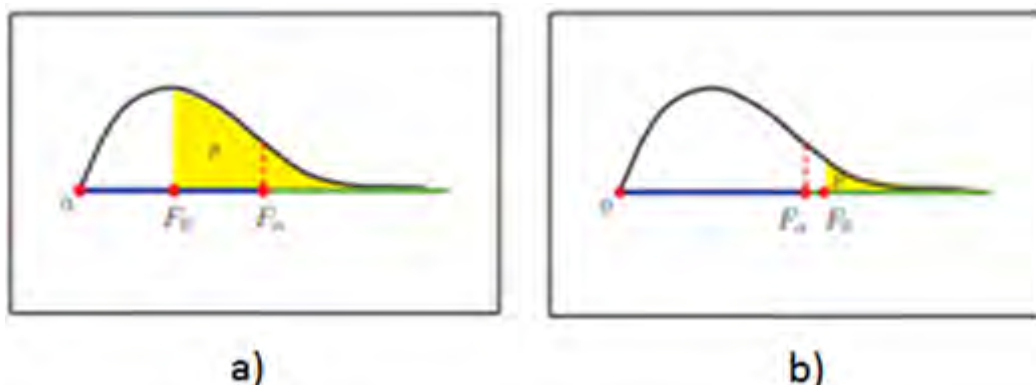


Figura C.3: a)Aceptación b)Rechazo.

El cálculo de la  $p$  se realizará por medio del *test de la F*:

Tabla C.1: TABLA ADEVA

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas	F	p-v
Entre grupos	VE	K-1	$\hat{s}_e^2 = \frac{VE}{K-1}$	$\frac{\hat{s}_e^2}{\hat{s}_R^2}$	p
Residual	VNE	N-K	$\hat{s}_R^2 = \frac{VNE}{N-K}$		
Total	VT	N-1	$\hat{s}_\gamma^2 = \frac{VNE}{N-1}$		

Para evitar la invalidación de las conclusiones del análisis es necesario que los individuos asociados a los niveles del factor sean seleccionados de manera aleatoria.

## Apéndice D

# Anexo D: Análisis ROC

El análisis de las características operativas del receptor (ROC) es utilizado para medir la calidad de los resultados obtenidos mediante un clasificador.

Los conceptos básicos que utiliza este método de análisis se recogen en la llamada matriz de confusión, y son definidos<sup>1</sup> a continuación:

- Verdaderos positivos (TP): Sujetos diagnosticados como enfermos por el clasificador y que están catalogados como enfermos en el diagnóstico clínico.
- Verdaderos negativos (TN): Sujetos diagnosticados como sanos por el clasificador y que están catalogados como sanos en el diagnóstico clínico.
- Falsos positivos (FP): Sujetos diagnosticados como enfermos por el clasificador y que están catalogados como sanos en el diagnóstico clínico.
- Falsos negativos (FN): Sujetos diagnosticados como sanos por el clasificador y que están catalogados como enfermos en el diagnóstico clínico.

En el análisis ROC se define una serie de medidas obtenidas a partir de los conceptos anteriores, y que permitirán evaluar la calidad del clasificador:

- Sensibilidad (SE): Probabilidad de que el clasificador determine la presencia de la enfermedad mediante un diagnóstico correcto:

$$SE = \frac{TP}{TP + FN} \quad (D.1)$$

- Especificidad (EP): Probabilidad de que el clasificador diagnostique a un paciente como sano por medio de una estimación acertada:

$$EP = \frac{TN}{TN + FP} \quad (D.2)$$

- Valor de predicción positivo (VPP): Probabilidad de que el clasificador diagnostique a un paciente como enfermo, y que éste esté realmente enfermo:

$$PPV = \frac{TP}{TP + FP} \quad (D.3)$$

---

<sup>1</sup>La definición dada de estos conceptos estará orientada al tema del trabajo

- Valor de predicción negativo (VPN): Probabilidad de que el clasificador diagnostique a un paciente como sano, y que éste esté realmente sano:

$$VPN = \frac{TN}{TN + FN} \quad (D.4)$$

- Precisión (ACC): Probabilidad de que el clasificador acierte en su diagnóstico:

$$ACC = \frac{TN + TP}{TN + TP + FN + FP} \quad (D.5)$$

Además de las anteriormente mencionadas, el área bajo la curva ROC (AUC) es otra medida utilizada para evaluar la calidad de un clasificador, y más concretamente para comparar los diagnósticos emitidos por dos clasificadores distintos. Se define como la probabilidad de que un clasificador puntué una instancia positiva más alto que una negativa. En la siguiente imagen se muestran las categorías de un clasificador según el valor del área bajo la curva:

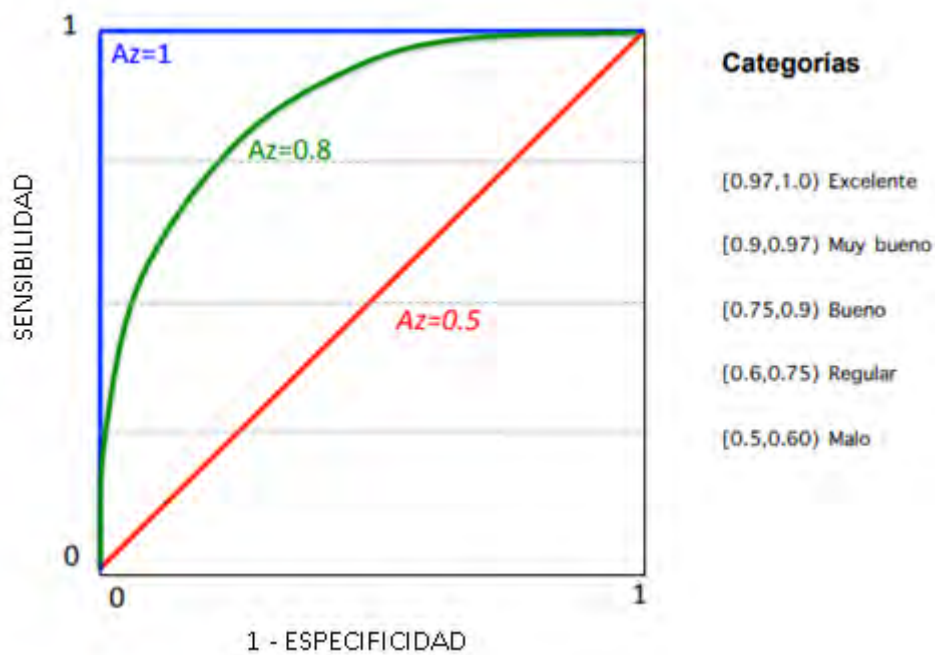


Figura D.1: Categorías de índice de área bajo la curva ROC.

# Bibliografía

- [1] Connelly Barnes, Eli Shechtman, Adam Finkelstein, and Dan B Goldman. Patchmatch: A randomized correspondence algorithm for structural image editing. *ACM Transactions on Graphics-TOG*, 28(3):24, 2009.
- [2] 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.
- [3] Pierrick Coupé, Pierre Yger, Sylvain Prima, Pierre Hellier, Charles Kervrann, and Christian Barillot. An optimized blockwise nonlocal means denoising filter for 3-D magnetic resonance images. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 27(4):425–41, April 2008.
- [4] Vicente M Arévalo Espejo and Javier González Jiménez. Registro de imágenes genes mediante transformaciones lineales por trozos. *ACM Computing Surveys*, 2008.
- [5] Daniela Frosini, Mirco Cosottini, Duccio Volterrani, and Roberto Ceravolo. Neuroimaging in parkinson's disease: focus on substantia nigra and nigrostriatal projection. *Current opinion in neurology*, 30(4):416–426, 2017.
- [6] Rémi Giraud, Vinh-Thong Ta, Nicolas Papadakis, D Louis Collins, and Pierrick Coupé. Optimisation de l'algorithme patchmatch pour la segmentation de structures anatomiques. In *GRETSI 2015*, 2015.
- [7] Daniel E Huddleston, Jason Langley, Jan Sedlacik, Kai Boelmans, Stewart A Factor, and Xiaoping P Hu. In vivo detection of lateral-ventral tier nigral degeneration in parkinson's disease. *Human brain mapping*, 38(5):2627–2634, 2017.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] Max C Keuken, P-L Bazin, L Crown, J Hootsmans, A Laufer, Christa Müller-Axt, R Sier, EJ van der Putten, Andreas Schäfer, Robert Turner, et al. Quantifying inter-individual anatomical variability in the subcortex using 7t structural mri. *NeuroImage*, 94:40–46, 2014.

- [11] Stefan Klein, Marius Staring, Keelin Murphy, Max A Viergever, and Josien PW Pluim. Elastix: a toolbox for intensity-based medical image registration. *IEEE transactions on medical imaging*, 29(1):196–205, 2010.
- [12] 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.
- [13] Stéphane Lehericy, Eric Bardinet, Cyril Poupon, Marie Vidailhet, and Chantal François. 7 tesla magnetic resonance imaging: a closer look at substantia nigra anatomy in parkinson’s disease. *Movement Disorders*, 29(13):1574–1581, 2014.
- [14] Stéphane Lehericy, David E Vaillancourt, Klaus Seppi, Oury Monchi, Irena Rektorova, Angelo Antonini, Martin J McKeown, Mario Masellis, Daniela Berg, James B Rowe, et al. The role of high-field magnetic resonance imaging in parkinsonian disorders: Pushing the boundaries forward. *Movement Disorders*, 32(4):510–525, 2017.
- [15] J Benito León. Epidemiología de la enfermedad de parkinson en españa y su contextualización mundial. *Revista de neurología*, 66(4):125–134, 2018.
- [16] Jürgen K Mai, Milan Majtanik, and George Paxinos. *Atlas of the human brain*. Academic Press, 2015.
- [17] Silvia Marino, Rosella Ciurleo, Giuseppe Di Lorenzo, Marina Barresi, Simona De Salvo, Sabrina Giacoppo, Alessia Bramanti, Pietro Lanzafame, and Placido Bramanti. Magnetic resonance imaging markers for early diagnosis of parkinson’s disease. *Neural regeneration research*, 7(8):611, 2012.
- [18] Carlos R Méndez-Herrera. El núcleo subtalámico en la fisiopatología de la enfermedad de parkinson y su rol como diana quirúrgica. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*, 49(1):62–68, 2011.
- [19] 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.
- [20] S Carrasco Muñoz, C Calles Blanco, Javier Marcin, C Fernández Álvarez, and J Lafuente Martínez. Contrastes basados en gadolinio utilizados en resonancia magnética. *Radiología*, 56:21–28, 2014.
- [21] Mario Ortega Pérez et al. Método de registro no rígido basado en funciones de base radial. aplicación a neurocirugía utilizando atlas cerebrales. 2009.
- [22] Hanchuan Peng, Fuhui Long, and Chris Ding. Feature selection based on mutual information criteria of max-dependency, max-relevance, and min-redundancy. *IEEE Transactions on pattern analysis and machine intelligence*, 27(8):1226–1238, 2005.
- [23] Patrice Péran, Andrea Cherubini, Francesca Assogna, Fabrizio Piras, Carlo Quattrocchi, Antonella Peppe, Pierre Celsis, Olivier Rascol, Jean-François Démonet, Alessandro Stefani, et al. Magnetic resonance imaging markers of parkinson’s disease nigrostriatal signature. *Brain*, 133(11):3423–3433, 2010.

- [24] Carlos Platero and M Carmen Tobar. A label fusion method using conditional random fields with higher-order potentials: Application to hippocampal segmentation. *Artificial intelligence in medicine*, 64(2):117–129, 2015.
- [25] Carlos Platero and M Carmen Tobar. Combining a patch-based approach with a non-rigid registration-based label fusion method for the hippocampal segmentation in alzheimer’s disease. *Neuroinformatics*, 15(2):165–183, 2017.
- [26] Marios Politis. Neuroimaging in parkinson disease: from research setting to clinical practice. *Nature Reviews Neurology*, 10(12):708, 2014.
- [27] 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.
- [28] María del Carmen Tobar. Optimización de una energia mediante cortes de grafos. segmentación de imágenes. 2014.
- [29] Hongzhi Wang, Jung W Suh, Sandhitsu R Das, John B Pluta, Caryne Craige, and Paul A Yushkevich. Multi-atlas segmentation with joint label fusion. *IEEE transactions on pattern analysis and machine intelligence*, 35(3):611–623, 2013.