



CIMAT

Centro de Investigación en Matemáticas, A.C.

---

# Métodos de Aprendizaje Supervisado y no Supervisado para la Estimación de Microestructura Cerebral en Datos de DWMR

## T E S I S

para obtener el grado de

### Maestro en Ciencias

con Especialidad en

### Computación y Matemáticas Industriales

### Presenta:

Pablo Antonio Stack Sánchez

### Director de Tesis:

Dr. Alonso Ramírez Manzanarez

---

Autorización de la versión final

Guanajuato, Gto., 13 de Octubre de 2021



# Métodos de Aprendizaje Supervisado y no Supervisado para la Estimación de Microestructura Cerebral en Datos de DWMR

por

Pablo Antonio Stack Sánchez

Sometida al Departamento de Ciencias de la Computación  
el 13 de octubre del 2021, en cumplimiento parcial de los  
requisitos para obtener el grado de  
Maestría en Ciencias de la Computación y Matemáticas Industriales

## **Abstract**

En esta tesis se trabajó con imágenes ex-vivo de resonancia magnética pesadas por difusión de cerebros de ratas con nervios ópticos sanos y con isquemia, los datos fueron provistos por el Instituto de Neurobiología de la UNAM. Se propuso un método para estimar la difusión paralela utilizando la técnica de la media esférica e información a priori de histología. Además se utilizaron técnicas de aprendizaje supervisado y no supervisado como la factorización no negativa de matrices y redes neuronales artificiales para estimar el porcentaje en el voxel de los principales compartimientos del cerebro como los micro ambientes de neuritas, materia gris, líquido cefalorraquídeo y conectivo. Por último, se estimaron algunos otros parámetros de la microestructura como la fracción intracelular de señal y la dispersión de los manojos de axones utilizando métodos basados en diccionarios, con el fin de caracterizar el daño ocasionado por la isquemia en los nervios ópticos. Todos los experimentos fueron validados con señales generadas de manera sintética.

Director de tesis: Alonso Ramírez Manzanares

Título: Centro de Investigación en Matemáticas A.C.



## Agradecimientos

Al igual que Juan José Millás gran parte de mi vida me he sentido más cerca de los Neandertales que de los Sapiens, y nunca me he sentido más Neandertal que estos dos años en CIMAT rodeado de los más prodigiosos Sapiens.

Ojalá esto no se malinterprete, desde que terminé la licenciatura era un sueño para mí estudiar en CIMAT, aún sabiendo de mi condición evolutiva. Estoy muy feliz y agradecido de poder convivir y trabajar con lo que posiblemente son las personas más inteligentes del país. Todas y cada una de las personas que conocí en CIMAT me han hecho sentir como si de verdad fuera o pudiera llegar a ser un Sapiens también.

En primer lugar quisiera agradecer infinitamente al Dr. Alonso Ramírez Manzanares por su inagotable paciencia y disponibilidad para contestar y explicar a este Neandertal hasta las preguntas más básicas posibles, a lo largo de este proceso no solo ha sido un extraordinario asesor, se ha convertido en un modelo a seguir en todos los sentidos. Muchas gracias Alonso, por tu guía y amistad en este proceso, sin tu ayuda definitivamente nunca hubiese concluido este trabajo. También quisiera agradecer al Dr. Luis Concha y al Dr. José Luis Marroquín por sus invaluable consejos y opiniones, y en general al Instituto de Neurobiología de la UNAM, quienes amablemente nos proporcionaron los datos para esta tesis.

A todos mis profesores dentro de CIMAT que sin duda me han inspirado con su ejemplo y me han enseñado cosas que jamás hubiese imaginado comprender. A todos mis compañeros y amigos de CIMAT, sin duda los Sapiens más prodigiosos que he conocido. Gracias por enseñarme y ayudarme tanto, por las noches de estudio y las noches de pizza infinita. En verdad disfruté mucho convivir con todos ustedes.

A mis Padres y hermanos que siempre han estado ahí para apoyarme. A mi abuela Lupe, a mi abuela Licha y a mi tía Calá que me han consentido desde pequeño y son un ejemplo de fortaleza e independencia.

Por último, le doy las gracias a CONACyT por el apoyo económico recibido para realizar la maestría.



# Índice general

<b>1. Introducción</b>	<b>11</b>
<b>2. Marco Téorico</b>	<b>13</b>
2.1. Fundamentos de Resonancia Magnética . . . . .	13
2.2. Relajación y Contraste en las MRI . . . . .	15
2.2.1. Tiempo de Relajación T1 . . . . .	16
2.2.2. Tiempo de Relajación T2 . . . . .	17
2.2.3. Contraste por Densidad de Protones . . . . .	20
2.3. Parámetros de las MRI . . . . .	20
2.4. Difusión y la Señal de NMR . . . . .	22
2.4.1. Difusión . . . . .	23
2.4.2. Aproximación de Pulso de Gradiente Corto . . . . .	28
2.4.3. Estimación del Tensor de Difusión . . . . .	30
2.4.4. Interpretación Geométrica del Tensor de Difusión . . . . .	31
2.4.5. Índices Invariantes del Tensor de Difusión . . . . .	33
2.5. Ruido Riciano . . . . .	35
2.5.1. Relación Señal a Ruido (SNR) . . . . .	36
2.6. Modelo de Señales de DW-MRI . . . . .	36
2.7. Técnica de la Media Esférica (SMT) . . . . .	38
2.8. Aprendizaje Supervisado y No Supervisado . . . . .	41
2.8.1. Redes Neuronales Artificiales (ANN) . . . . .	42
2.8.2. Factorización No Negativa de Matrices (NMF) . . . . .	43
2.9. Diccionarios . . . . .	45

<b>3. Datos ex-vivo de DW-MR</b>	<b>47</b>
3.1. Descripción de los Datos . . . . .	47
3.2. Adquisición de las MRI . . . . .	48
3.3. Histología . . . . .	49
3.4. Pre-Procesamiento . . . . .	50
3.4.1. Denoising . . . . .	50
3.4.2. Corrección de Gibbs . . . . .	51
3.4.3. Corrección del Sesgo de Campo . . . . .	53
3.4.4. Registro . . . . .	54
3.4.5. Escalamiento . . . . .	55
3.4.6. Corrección del Sesgo Riciano . . . . .	56
3.4.7. Mapa de Errores . . . . .	56
<b>4. Métodos</b>	<b>59</b>
4.1. Señales Sintéticas . . . . .	59
4.1.1. Relación Señal a Ruido (SNR) . . . . .	59
4.1.2. Fantasma Sintético . . . . .	61
4.1.3. Pre-Procesamiento de los Fantasmas Sintéticos . . . . .	64
4.2. Estimación de la Difusión Paralela . . . . .	65
4.3. Estimación de los Compartimientos de MAN, CON y CSF . . . . .	71
4.3.1. Arquitectura . . . . .	71
4.3.2. Red con Rango de Parámetros Amplio que Estima el Tamaño de Compartimiento de CSF . . . . .	73
4.3.3. Red con $\lambda_{\parallel}$ y $\lambda_{con}$ Fijos que Estima los Tamaños de Comparti- mientos de MAN, CON y CSF . . . . .	74
4.4. Estimación del ICSF voxel a voxel . . . . .	76
4.5. Estimación de la Dispersión . . . . .	77
4.5.1. Dispersión Individual por Manojó . . . . .	77
4.5.2. FOD . . . . .	78



4.6. Estimación de las firmas SMT de los tejidos con aprendizaje no supervisado . . . . .	78
<b>5. Discusión y Resultados</b>	<b>81</b>
5.1. Tamaños de Compartimiento con NMF . . . . .	81
5.1.1. Datos Sintéticos . . . . .	81
5.1.2. NMF en DW-MRI . . . . .	86
5.2. Estimación de $\lambda_{  }$ y $\lambda_{con}$ . . . . .	89
5.3. ANN que Estima MAN, CON, CSF . . . . .	90
5.4. ICSF por Diccionarios . . . . .	91
5.5. Dispersión . . . . .	92
5.6. FA . . . . .	96
<b>6. Conclusiones y Trabajo Futuro</b>	<b>99</b>
6.1. Trabajo Futuro . . . . .	102



# Capítulo 1

## Introducción

Las imágenes biomédicas han sido una herramienta fundamental para estudiar tejido y diagnosticar patologías de una forma no invasiva. Las imágenes tienen algunas ventajas con respecto a la histología tradicional: No hay necesidad de preparar el tejido ni extraerlo mediante biopsias, se pueden repetir las mediciones para monitoreo y permiten un análisis más amplio; típicamente un órgano completo en vez de una pequeña muestra, y por último, la adquisición de los datos es relativamente barata, rápida y automatizada.

La resonancia magnética (MR) tiene ventajas sobre otras técnicas no invasivas de imagenología (ultrasonido, rayos x, tomografía, etc.) ya que no emplea radiación ionizante y a diferencia del ultrasonido provee información del tejido con gran detalle. Todo esto es de gran utilidad en estudios de patologías del cerebro, en donde la histología clásica suele utilizarse únicamente en estudios post-mortem y las biopsias in-vivo solo se justifican en enfermedades muy agresivas como tumores cancerígenos [38].

El cerebro es el órgano principal del sistema nervioso central, está formado por dos hemisferios que controlan el funcionamiento de los músculos, el habla, pensamiento y demás funciones vitales del cuerpo. Cuando el cerebro está sano funciona de forma rápida y automática, pero cualquier accidente o alteración puede ser devastador. El accidente cerebral más común es el isquémico, suele ser causado por un coágulo que evita que la sangre fluya y en cuestión de minutos las células del cerebro comienzan

a morir.

Las imágenes de resonancia magnética pesadas por difusión (DW-MRI) sensibilizan la MR a la difusión aleatoria de las moléculas de agua en el cerebro, lo que es clave para obtener información acerca de la microestructura y poder estudiar patologías.

En esta tesis se trabajó con *ex-vivo* DW-MRI de cerebros de ratas con nervios ópticos sanos y con isquemia, se propuso un método para estimar la difusión paralela utilizando la media esférica, además se utilizaron técnicas de aprendizaje supervisado y no supervisado para estimar el porcentaje en el voxel de los principales tejidos del cerebro. Por último, se estimaron algunos otros parámetros de la microestructura como la fracción intracelular de señal (ICSF) y la dispersión de los manojos de axones utilizando métodos basados en diccionarios, con el fin de caracterizar el daño ocasionado por la isquemia en los nervios ópticos.

La tesis está organizada en 5 capítulos, en el Capítulo 2 se explica el protocolo de adquisición de MR así como las adecuaciones necesarias para convertir el proceso sensible a la difusión. También se presentan conceptos importantes para entender este trabajo, como la SMT, la factorización no negativa de matrices (NMF) y los métodos basados en diccionarios. En el Capítulo 3 se presenta la metodología de este trabajo así como las aportaciones realizadas. En el Capítulo 4 se discuten los principales experimentos y resultados de esta tesis. Por último, en el Capítulo 5 se presentan las conclusiones y el trabajo a futuro.

# Capítulo 2

## Marco Téorico

En este Capítulo se da una breve explicación de los principios físicos que permiten la obtención de una imagen de resonancia magnética (MRI), así como las modificaciones necesarias al protocolo de adquisición para hacerlo sensible al proceso de difusión del agua. Además se presenta el modelo de ruido Riciano inherente a este tipo de señales y se exponen las herramientas utilizadas en el desarrollo de este trabajo.

Los métodos para la codificación espacial de las MRI se obviaron ya que no es objetivo de esta tesis describirlos.

### 2.1. Fundamentos de Resonancia Magnética

Para capturar una señal de resonancia magnética nuclear (NMR) necesitamos un campo magnético  $B_0$  de gran potencia y una bobina con el eje perpendicular a dicho campo. La idea es utilizar esta bobina como transmisor y receptor de pulsos de radio frecuencia (RF). En primer lugar la bobina transmite pulsos de RF induciendo un campo magnético oscilatorio de pequeña magnitud. Posteriormente en la etapa de recepción, la bobina se apaga y actúa como receptor de radiofrecuencias. Si la frecuencia de oscilación transmitida está correctamente entonada a las características físicas del objeto, la señal sensada en la bobina será una resonancia de la señal transmitida [4]. Esta señal corresponde a la magnetización transversal de los núcleos, todo lo anterior se ejemplifica en la Figura 2-1.

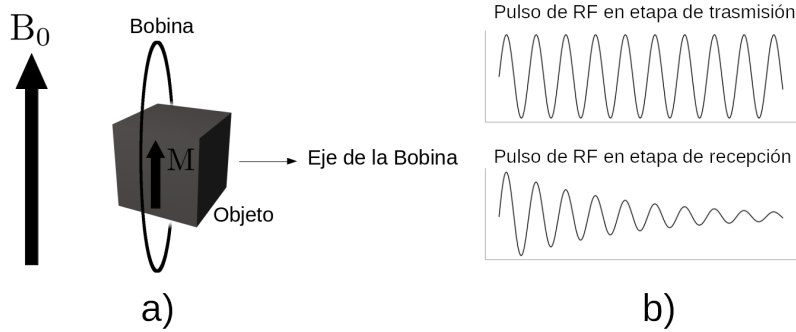


Figura 2-1: a) Esquema de los objetos que componen el experimento de NMR, b) Pulso transmitido y recibido (Free Induction Decay) por la bobina

A continuación se da una explicación detallada de este proceso. Para comprender el fenómeno de NMR hay que entender que todos los protones de los núcleos de los átomos poseen un spin, este spin es una propiedad intrínseca que se modela con la mecánica cuántica. Los neutrones también poseen un spin, que combinado con el de los protones se anulan y forman un núcleo sin spin neto (a menos que haya un número impar de protones o neutrones). Por ejemplo un átomo de  $H^1$  (1 protón) y  $C^{13}$  (6 protones y 7 neutrones) tienen spin neto, mientras que un átomo de  $C^{12}$  (6 protones y 6 neutrones) no. Para que un átomo sea sensible al proceso de NMR su núcleo debe de tener spin neto [1].

Los núcleos de diferentes elementos tienen un spin intrínseco y distinto llamado cociente giromagnético. Cuando los núcleos se exponen a un campo magnético  $B_0$ , que normalmente se considera orientado en la dirección  $z$ , su propiedad magnética de actuar como dipolo hace que tiendan a alinearse con el campo magnético. La unión de dipolos de varios núcleos alineados produce un vector de magnetización  $M$ . Debido al spin la alineación no se realiza de manera inmediata, por lo que en este tiempo el eje del spin precesa alrededor de  $B_0$ . La frecuencia a la que precesa el eje del spin está dada por la ecuación de Larmor:

$$v_0 = \gamma B_0, \quad (2.1)$$

donde  $v_0$  es la frecuencia de resonancia (frecuencia de Larmor) y  $\gamma$  es el cociente giromagnético ( $\text{MHzT}^{-1}$ ) del material. Entre más fuerte sea el campo magnético más

rápida sera la precesión [4, 32].

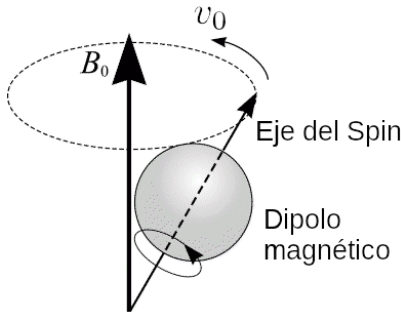


Figura 2-2: Precesión del dipolo magnético alrededor de  $B_0$

El hecho de que los dipolos magnéticos de los protones se alineen con el campo produciendo un vector de magnetización inicial  $M_0$  no lleva a ninguna señal medible, ya que un campo magnético constante no produce ninguna corriente. Sin embargo, utilizando un pulso de RF sintonizado a la frecuencia de Larmor del material, se inclina  $M_0$  lejos de la dirección de  $B_0$  hacia el eje de la bobina. De esta manera se logra que exista una componente del vector  $M_0$  en dirección del eje de la bobina, a esta componente se le denomina  $M_b$ . Este pulso de RF es de una magnitud muy pequeña, pero si el tiempo de aplicación es lo suficientemente grande se puede volcar el eje de precesión al plano perpendicular a  $B_0$ . Los pulsos de RF utilizados se definan por el ángulo  $\alpha$  al que el vector  $M_0$  es volcado [4].

Ya con el vector de magnetización volcado en la componente transversal  $M_b$  ( $\alpha = \frac{\pi}{2}$ ) se produce un campo magnético oscilatorio y por lo tanto una señal de NMR que puede ser medida, esta magnetización se mueve en el mismo eje de la bobina. En la etapa de recepción el pulso de RF es apagado y  $M_0$  tiende a alinearse de nueva cuenta con  $B_0$  produciendo la señal conocida como Free Inducción Decay (FID), como su nombre lo indica esta señal irá decayendo conforme  $M_0$  se alinea con  $B_0$  [4].

## 2.2. Relajación y Contraste en las MRI

El proceso anteriormente explicado es la base para la obtención de las imágenes de resonancia magnética. Como se mencionó las MRI son el resultado de la medición

de la magnetización transversal de los núcleos de hidrógeno en un instante de tiempo. Cuando se analiza tejido orgánico vivo se utiliza el hidrógeno, ya que además de ser un elemento con spin neto, es uno de los más abundantes.

El contraste de una MRI depende de los parámetros con los que se llevó a cabo el experimento y a las propiedades anatómicas del tejido. En esta Sección se explicará la fuente del contraste en las MRI en términos de como los tiempos de relajación y la densidad de protones interactúan con las diferentes configuraciones del experimento de NMR. Este factor de contraste puede estar pesado de 3 formas: pesadas en  $T1$ , pesadas en  $T2$  y pesadas en densidad de protones.

### 2.2.1. Tiempo de Relajación T1

La magnetización transversal  $M_b$  es la componente del campo magnético inicial  $M_0$  en dirección del eje de la bobina, por lo tanto la magnitud de  $M_0$  al momento del pulso de RF define el tamaño que tendrá  $M_b$ . Al apagarse el pulso de RF la magnetización transversal  $M_b$  comenzará a alinearse nuevamente hacia la dirección de  $B_0$ . El tiempo que tarda la magnetización longitudinal en recuperarse se conoce como tiempo de relajación  $T1$ , por consenso el  $T1$  de un tejido es el tiempo que tarda en recuperar el 63% de la magnetización longitudinal.

La ecuación que describe la forma en la que se recupera la magnetización longitudinal en un tiempo  $t$  por efecto de  $T1$  es:

$$M_z = M_0(1 - e^{-t/T1}). \quad (2.2)$$

En la Figura 2-3 se observa la exponencial creciente que forma la recuperación de la magnetización longitudinal y su tiempo de relajación  $T1$ .



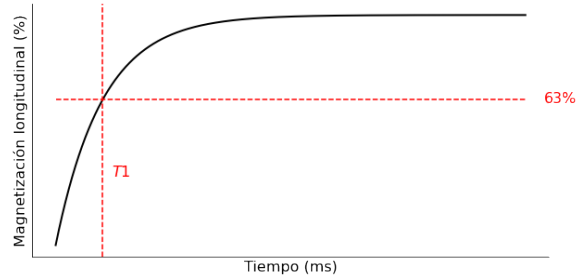


Figura 2-3: La relajación  $T1$  se comporta como una curva exponencial creciente. El  $T1$  de un tejido se define como el tiempo que tarda en recuperar el 63% de su magnetización longitudinal.

### 2.2.2. Tiempo de Relajación $T2$

En la Sección anterior se mencionó la señal FID, la razón por la cual esta señal decae con el tiempo es debido a que al apagar el pulso de RF los dipolos se desfazan. Cada núcleo de hidrógeno se ve influenciado por un campo magnético de pequeña magnitud (debido principalmente a la presencia de más átomos de hidrógeno) provocando variaciones en la frecuencia  $\nu_0$ . Estos cambios en la velocidad de precesión dependen de las características del objeto a analizar. El tiempo de relajación  $T2$  de un tejido se define como el tiempo que tarda en perder el 63% de su magnetización transversal  $M_b$  y por lo tanto es otra fuente de contraste en las MRI. La ecuación que describe la caída de  $M_b$  debido a  $T2$  está dada por:

$$M_b = M_{b_0} e^{-t/T_2}, \quad (2.3)$$

En donde  $M_{b_0}$  es la magnetización transversal en el instante en que el pulso de RF es apagado. En la Figura 2-4 se observa la exponencial decreciente que forma la pérdida de magnetización transversal y su tiempo de relajación  $T2$ .

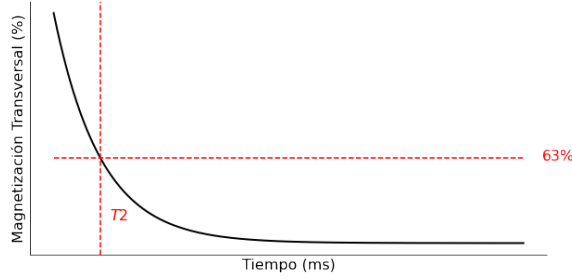


Figura 2-4: La relajación  $T2$  se comporta como una curva exponencial decreciente. El  $T2$  de un tejido se define como el tiempo que tarda en perder el 63% de su magnetización transversal.

En la práctica la magnetización transversal cae más rápidamente que lo predicho por los modelos, este nuevo tiempo de relajación se denota como  $T2^*$ . Esta nueva constante puede ser considerada como el  $T2$  “observado” o “efectivo”, mientras que el primer  $T2$  se considera como el  $T2$  “natural” o “verdadero” del tejido. Por lo tanto:

$$T2^* \leq T2. \quad (2.4)$$

$T2^*$  se debe principalmente a inhomogeneidades del campo magnético. Estas inhomogeneidades pueden ser causadas por defectos propios del electroimán o por las distorsiones del campo producidas por los tejidos. En el tejido vivo hay procesos de difusión en los cuales los núcleos de hidrógeno se mueven dentro y fuera de la zona de observación, alterando aún más la frecuencia  $\nu_0$  haciendo que la coherencia de giro se pierda y que la señal tenga una atenuación más rápida.

Este efecto se ha logrado disminuir mediante la aplicación de una secuencia spin eco. La idea es aplicar un segundo pulso de RF que re-sincronice los spins y produzca un eco de la señal original en un tiempo  $TE$  (tiempo eco) después del primer pulso de RF. A continuación se da una descripción más detallada del proceso.

Después del primer pulso de  $90^\circ$  la magnetización de los vectores es volcada al plano transversal. Cuando el pulso es apagado los spins comienzan a precesar a diferentes frecuencias, lo que ocasiona que comienzan a desfasarse. Después de esperar un tiempo  $TE/2$ , un pulso de RF a  $180^\circ$  es aplicado en la dirección del eje  $y$ . La

acción de este pulso de  $180^\circ$  es voltear el plano transversal, invirtiendo el signo de la fase de cada vector de magnetización. Después del pulso de RF, la fase de cada magnetización continua desarrollándose tal como antes pero con el signo contrario, para que después de otro tiempo  $TE/2$  terminen sincronizándose en un solo vector con una señal neta mayor (Eco) a un tiempo  $TE$ .

La Figura 2-5 ilustra el proceso de formación del eco producido por un pulso de  $180^\circ$ , utilizando una representación de 4 vectores de spin.

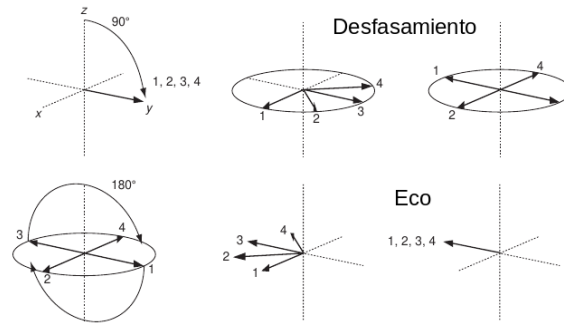


Figura 2-5: Formación de la secuencia spin eco. Los vectores se vuelcan al plano transversal por efecto del pulso de  $90^\circ$ , al apagarse el pulso los vectores comienzan a desfasarse formando un abanico, a un tiempo  $TE/2$  un pulso de  $180^\circ$  es aplicado volteando el plano transversal, los vectores continúan desarrollándose con signo contrario lo que provoca que al tiempo  $TE$  se sincronicen nuevamente provocando la señal eco. Figura obtenida de [4].

La secuencia puede resumirse como:

pulso de  $90^\circ$  - esperar  $TE/2$  - pulso de  $180^\circ$  - esperar  $TE/2$  - medir señal eco

Típicamente, esta secuencia es repetida en un intervalo regular llamado tiempo de repetición (TR). En las MRI convencionales es necesario repetir la secuencia muchas veces para recolectar toda la información necesaria para reconstruir la imagen. El contraste entre un tejido y otro dependerá de la magnitud de la señal eco generada en cada posición del tejido.

### 2.2.3. Contraste por Densidad de Protones

Cuando se desea que una MRI esté pesada únicamente por su densidad de protones, esto es que las zonas con mayor concentración de átomos de hidrógeno produzcan la señales más fuertes y por lo tanto más brillantes en la imagen, se debe de minimizar el impacto de las diferencias de  $T1$  y  $T2$  con un  $TR$  largo (2000 - 5000 ms) y un  $TE$  corto (10 - 20 ms).

En general la magnetización  $M_0$  y por lo tanto  $M_b$  dependen del número de dipolos que se han alineado, tejidos con mayor concentración de núcleos de hidrógeno producirán una mayor magnetización longitudinal y transversal. Aunque existe el modo de captura exclusivamente pesado por densidad, se puede decir que tanto las imágenes en  $T1$  y  $T2$  son también parcialmente pesadas en densidad.

## 2.3. Parámetros de las MRI

Como se vio anteriormente, la señal siempre es proporcional a la densidad local de protones pero también depende de los tiempos de relajación. Hay dos parámetros que el usuario puede ajustar que controlan que tanto los tiempos de relajación  $T1$  y  $T2$  afectan la señal. El primero de ellos se conoce como tiempo eco ( $TE$ ), es el tiempo cuando ocurre la señal eco debido a la resincronización por efectos del pulso de  $180^\circ$  y típicamente es el tiempo en el que la señal de NMR es medida. Al alargar el  $TE$  (esperar más tiempo después del primer pulso de RF antes de aplicar el pulso de  $180^\circ$ ), hay más tiempo para la atenuación transversal ( $T2$ ). El segundo parámetro es el tiempo de repetición ( $TR$ ), este controla cuanta relajación longitudinal ( $T1$ ) es permitida antes de que la magnetización sea volcada nuevamente cuando la secuencia de pulso sea repetida. Un  $TR$  muy corto, no permite que pase el tiempo suficiente para que el campo  $M$  se recupere y por lo tanto el factor  $T1$  estará muy presente en la imagen. Por el contrario, un  $TR$  muy largo permitirá que  $M$  se recupere por completo y no existirá ningún contraste debido a  $T1$ .

En resumen,  $TE$  controla el tiempo en el cual es aplicado el segundo pulso de RF y por lo tanto el tiempo al cual el eco es generado y  $TR$  controla el tiempo que pasa

entre el comienzo de un experimento y el inicio del siguiente. La sensibilidad de la señal a  $T1$  se controla con  $TR$ , a mayor  $TR$  menor el peso de  $T1$ , y la sensibilidad a  $T2$  es controlada por  $TE$ , a menor  $TE$  menor será el peso de  $T2$ . La Figura 2-6 esquematiza los tiempos  $TE$  y  $TR$ , así como la adquisición de la señal en la secuencia spin eco.

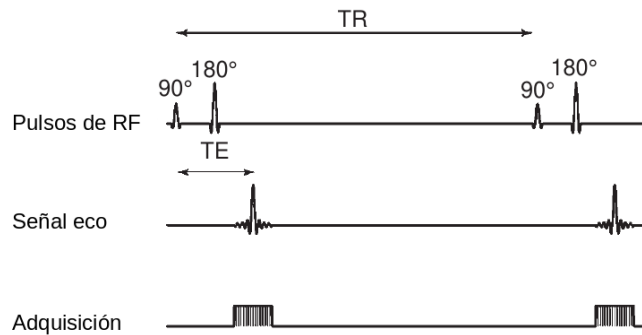


Figura 2-6: La secuencia spin eco es controlada por dos parámetros, el tiempo de repetición ( $TR$ ) y el tiempo eco ( $TE$ ). La señal eco es producida en un tiempo  $TE/2$  después de la aplicación del pulso de 180° y el  $TR$  controla el tiempo que pasa entre el comienzo de un experimento y el inicio del siguiente. Figura obtenida de [4].

En la Figura 2-7 se muestra un ejemplo de una MRI pesada en  $T1$ ,  $T2$  y por densidad de protones.

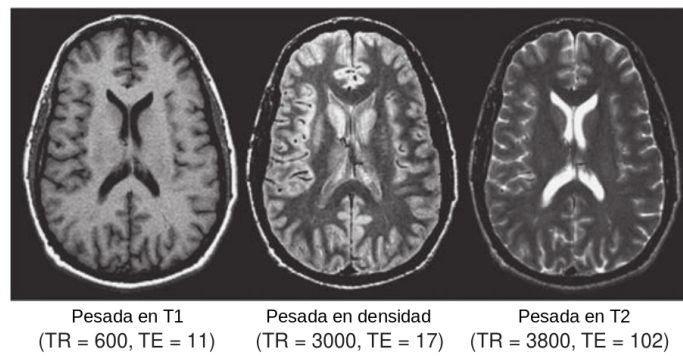


Figura 2-7: Imagen de resonancia magnética de un cerebro humano pesada en  $T1$ ,  $T2$  y por densidad de protones con sus respectivos  $TE$  y  $TR$  en ms. Figura obtenida de [4].

## 2.4. Difusión y la Señal de NMR

Las moléculas de agua en el cuerpo humano están en constante movimiento, en secciones anteriores hemos visto como estos movimientos termale conducen a rotaciones aleatorias que producen fluctuaciones en el campo magnético, lo que conlleva a las relajaciones. Sin embargo, estos movimientos termale también producen desplazamientos aleatorios de las moléculas, lo que se conoce como el proceso de difusión.

Las imágenes de resonancia magnética por difusión (DW-MRI) proveen información muy importante para el diagnóstico de patologías. Son comúnmente utilizadas en la evaluación de apoplejías, en el rastreo de fibras de materia blanca, en la determinación de isquemia cerebral, en la cuantificación de desmielinización y en la caracterización del desarrollo cerebral normal y su envejecimiento [6].

Las MRI tradicionales proveen imágenes en la escala de los milímetros con un alto contraste en el tejido blando, son particularmente útiles en estudios del cerebro. Una limitación de este tipo de imágenes es que la información que proporcionan es macroscópica, es decir información anatómica “general”. Voxeles en la escala de los milímetros contiene cientos de miles de células, por lo que las afectaciones solo serán visibles después de un daño importante. Las DW-MRI consisten en pesar las señales adquiridas por la cantidad de movimiento aleatorio traslacional de las moléculas de agua, conocido como movimiento Browniano. En un medio libre, el movimiento es en efecto aleatorio, y la probabilidad del desplazamiento es una distribución Gaussiana:

$$P(x) = \frac{1}{\sigma_x \sqrt{2\pi}} e^{-(x-\mu)^2/(2\sigma_x)^2}, \quad (2.5)$$

con  $\mu = 0$ ,  $\sigma_x = \sqrt{2D_x T}$  y  $D_x$  es el coeficiente de difusión en la dirección  $x$ . Sin embargo, esto no es cierto en el tejido biológico, ya que diferentes barreras y fenómenos biofísicos se interponen en el camino de las moléculas, modificando su comportamiento.

Cambios en el contraste de la imagen obtenidos por este proceso brindan información que refleja características de la microestructura del tejido, algo parecido a una “histología virtual”, sin necesidad de biopsias y con la ventaja de poder repetir las

mediciones para monitorear el desarrollo de las enfermedades, así como la capacidad de obtener información de un órgano completo en lugar de una pequeña muestra [38].

En esta Sección se explicará el proceso por el cual una señal de NMR se vuelve sensible al proceso de difusión.

### 2.4.1. Difusión

La difusión es el proceso por el cual las moléculas se desplazan de un lugar a otro en un medio no homogéneo, debido al movimiento aleatorio molecular. Si consideramos un medio isotrópico, el coeficiente de difusión se relaciona con la variación de la concentración  $C$ , de acuerdo a la ecuación (2.6).

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D\nabla^2 C, \quad (2.6)$$

La difusión también está muy relacionada con la energía cinética de las moléculas y su tamaño, como se puede apreciar en la ecuación de Stokes-Einstein:

$$D = \frac{kT}{f}, \quad (2.7)$$

en donde  $k$  es la constante de Boltzmann,  $T$  la temperatura y  $f$  el coeficiente de fricción. Que para el caso de una partícula esférica con radio de Stokes  $r_s$  en una solución con viscosidad  $\eta$  es:

$$f = 6\pi\eta r_s \quad (2.8)$$

Al suponer que la difusión es Gaussiana y al trabajar en un ambiente tridimensional,  $D$  en la ecuación (2.6) debe sustituirse por un tensor de segundo orden, simétrico y definido positivo, en un medio isotrópico los 3 eigen-valores son iguales:

$$D = \begin{bmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{xy} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{xz} & D_{yz} & D_{zz} \end{bmatrix} \quad (2.9)$$

La difusión no es enteramente isotrópica en el tejido biológico, la presencia de diferen-

tes compartimientos, membranas y organelos restringen el proceso y ocasionan que el coeficiente de difusión medido en realidad sea un coeficiente de difusión aparente (ADC). Para entender como difunde el agua en el cerebro, a continuación se presentan las propiedades básicas de los tres tipos principales de tejido en este órgano.

- **Materia blanca (WM):** Está compuesta principalmente de axones y oligodendrocitos, es la encargada de proporcionar las conexiones entre neuronas, hemisferios y lóbulos. Ocupa alrededor del 35 % del volumen cerebral. La difusión en este tejido es obstaculizada (dentro de los axones) y restringida (en el compartimiento extracelular).
- **Materia gris (GM):** Este tejido está compuesto de los cuerpos de las neuronas, dendritas y células gliales. Es la zona correspondiente a la corteza cerebral y núcleos internos. Es la encargada de realizar la mayor parte del procesamiento de la información y ocupa al rededor del 40 % del cerebro.
- **Líquido cefalorraquídeo (CSF):** Este líquido se encuentra en los ventrículos del cerebro y recorre todo el sistema nervioso incluyendo la médula espinal. Representa el 10 % del volumen cerebral y es 99 % agua. El patrón de difusión que presenta es difusión libre.

El uso de gradientes magnéticos permite que la difusión sea medible utilizando técnicas de NMR. Como se ha visto en secciones anteriores los protones de los átomos de hidrógeno precesan alrededor del campo magnético  $B_0$  con una frecuencia  $\nu_0$ , Como  $B_0$  es espacialmente homogéneo, la frecuencia  $\nu_0$  es la misma para toda la muestra. Ver ecuación (2.1). La idea es inducir modificaciones controladas a este campo magnético para hacerlo sensible al proceso de difusión, esto se logra aplicando un gradiente magnético  $G$  ( $Tm^{-1}$ ) que sea espacialmente dependiente:

$$v_{eff}(n, r) = n(\nu_0 + \gamma(G \cdot r)), \quad (2.10)$$

en donde  $n$  es la coherencia cuántica.



Lo importante es notar que si un gradiente lineal de magnitud conocida se introduce en el experimento, la frecuencia de Larmor deja de ser homogénea en toda la muestra y se convierte en espacialmente dependiente con respecto a la dirección  $g = [g_x, g_y, g_z]$  del gradiente aplicado.

Este gradiente magnético permite identificar la posición de un spin dependiendo del cambio de fase que experimenta. El cambio de fase está dado por:

$$\phi(t) = \gamma B_0 t + \gamma \int_0^t G(t') z(t') dt', \quad (2.11)$$

el primer término corresponde al campo magnético estático, el segundo representa el cambio de fase debido al gradiente. Se observa que el grado de desfase es proporcional al tipo de tejido ( $\gamma$ ), la fuerza del gradiente ( $G$ ), la duración del gradiente ( $t$ ) y el desplazamiento del spin en la dirección del gradiente. El gradiente normalmente se aplica en pulsos de amplitud constante, pero se decidió escribir  $G$  como  $G(t)$  para enfatizar que podría estar en función del tiempo.

La Figura 2-8 muestra el protocolo de adquisición, se puede observar que es similar al protocolo utilizado para obtener una imagen pesada en  $T_2$ , en primer lugar se introduce un pulso de radiofrecuencia de  $90^\circ$  ( $\frac{\pi}{2}$ ) para volcar el vector de magnetización al plano transversal, durante el primer periodo  $\tau$  aplicamos un gradiente magnético de duración  $\delta$  y magnitud  $G_z$  para que el spin  $i$  experimente un cambio de fase:

$$\phi_i(\tau) = \gamma B_0 \tau + \gamma G \int_{t_1}^{t_1+\delta} z_i(t) dt, \quad (2.12)$$

sacamos  $G$  de la integral porque estamos considerando un pulso de amplitud constante en el tiempo.

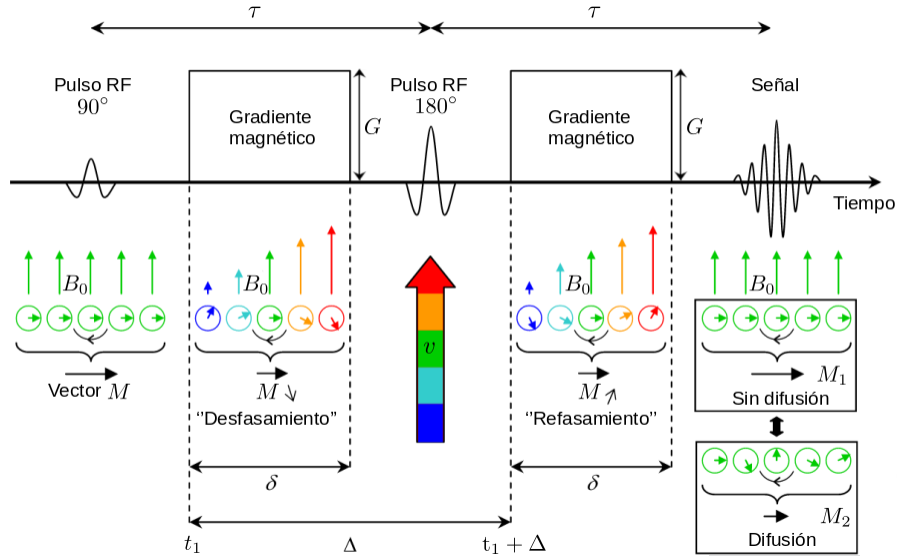


Figura 2-8: Una representación esquemática del protocolo de adquisición que hace sensibles las señales de NMR al proceso de difusión. La longitud de las líneas verticales de colores representa la intensidad del campo magnético  $B_0$  después de la aplicación del gradiente magnético, se observa como se convierte en espacialmente dependiente. Después de la aplicación del primer gradiente la señal pierde su fase uniforme (etapa de “desfasamiento”), la magnitud del vector  $M$  (representado como la flecha horizontal) disminuye, ya que cada protón empieza a precesar a diferente frecuencia  $\omega_0$  dependiendo de su posición en el espacio (la codificación en colores representa la magnitud de esta frecuencia de precesión). Después de la aplicación del segundo gradiente ocurre el “refasamiento”, si el spin no experimenta ningún movimiento traslacional en el tiempo  $\Delta$  los efectos de los 2 gradientes se cancelan y regresa a precesar a la frecuencia de Larmor. La magnitud de la señal con poca difusión siempre será mayor a la señal en presencia de alta difusión  $\|M_1\| > \|M_2\|$ . Figura obtenida de [24].

Al final del primer periodo  $\tau$  aplicamos un pulso de  $180^\circ$  que tiene el efecto de revertir el signo de la precesión o lo que es equivalente, el signo del gradiente. Se deja pasar un tiempo  $\Delta$ , así en el tiempo  $t_1 + \Delta$  se aplica el segundo gradiente de igual magnitud y duración pero de signo contrario. Si el spin no experimenta ningún movimiento traslacional con respecto del eje  $z$ , los efectos de los 2 gradientes se cancelan y el spin regresa a precesar a la frecuencia de Larmor. Sin embargo, si el spin

se movió, el grado de desfaseamiento es proporcional al desplazamiento en la dirección del gradiente en el periodo  $\Delta$ , por lo tanto al final del protocolo de adquisición el cambio total de fase del spin  $i$  está dado por:

$$\phi_i(2\tau) = \left\{ \gamma B_0 \tau + \gamma G \int_{t_1}^{t_1+\delta} z_i(t) dt \right\} - \left\{ \gamma B_0 \tau + \gamma G \int_{t_1+\Delta}^{t_1+\Delta+\delta} z_i(t') dt' \right\}. \quad (2.13)$$

Reescribiendo:

$$\phi_i(2\tau) = \gamma G \left\{ \int_{t_1}^{t_1+\delta} z_i(t) dt - \int_{t_1+\Delta}^{t_1+\Delta+\delta} z_i(t') dt' \right\}. \quad (2.14)$$

se observa que la fase debido a los gradientes magnéticos se cancela ( $\phi_i = 0$ ) cuando no hay difusión o cuando  $G = 0$ .

Recordemos que estamos trabajando con un ensamble de núcleos con diferentes posiciones de inicio y final, esto produce que la señal normalizada al tiempo  $t = 2\tau$  esté dada por:

$$S(2\tau) = S(2\tau)_{G=0} \int_{-\infty}^{\infty} P(\phi, 2\tau) e^{i\phi} d\phi, \quad (2.15)$$

$S(2\tau)_{G=0}$  es la señal en ausencia del gradiente magnético, lo que comúnmente conocemos como una imagen pesada en  $T2$ . Si consideramos únicamente la parte real (observar que  $P(\phi, 2\tau)$  es par y la transformada de Fourier de una función par es real) de  $S(2\tau)$  tenemos:

$$S(2\tau) = S(2\tau)_{G=0} \int_{-\infty}^{\infty} P(\phi, 2\tau) \cos(\phi) d\phi, \quad (2.16)$$

$P(\phi, 2\tau)$  es la función de distribución de fase, como toda función de distribución debe estar normalizada:

$$\int_{-\infty}^{\infty} P(\phi, 2\tau) d\phi = 1. \quad (2.17)$$

De las ecuaciones (2.16) y (2.17), se puede apreciar una idea intuitiva de como este protocolo de adquisición hace a la señal de NMR sensible a difusión. En ausencia de difusión o con  $G = 0$  la fase se cancela y tenemos  $\phi_i = 0$  y como  $\cos(0) = 1$

entonces tenemos una señal máxima. En cambio si tenemos difusión la señal de NMR se atenuará.

En la práctica la atenuación de la señal de resonancia magnética no solo es debido a la difusión, como se vio anteriormente existe un proceso de relajación durante la secuencia eco que provoca una caída en la señal. Por lo tanto en ausencia de difusión o con el gradiente magnético apagado ( $G = 0$ ), tenemos que la señal en el tiempo  $t = 2\tau$  es igual a:

$$S(2\tau)_{G=0} = S(0)\exp\left(-\frac{2\tau}{T_2}\right), \quad (2.18)$$

en donde  $S(0)$  es la señal sin atenuación por relajación, sería el resultado de registrar inmediatamente después del pulso de  $90^\circ$ .

En presencia de difusión y con el gradiente encendido, la atenuación debido a la relajación y la atenuación debido a difusión son independientes y podemos escribirla como:

$$S(2\tau) = S(0)\exp\left(-\frac{2\tau}{T_2}\right) f(\delta, G, \Delta, D), \quad (2.19)$$

en donde  $f(\delta, G, \Delta, D)$  es una función que representa la atenuación debido a la difusión. Por lo tanto al dividir la ecuación (2.19) entre la (2.18) dejamos únicamente la atenuación debido a la difusión:

$$E = \frac{S(2\tau)}{S(2\tau)_{G=0}} = f(\delta, G, \Delta, D). \quad (2.20)$$

Para comprender la función de atenuación debido a la difusión se utilizará la aproximación de pulso de gradiente corto.

### 2.4.2. Aproximación de Pulso de Gradiente Corto

Empezaremos en la ecuación (2.11) pero ignoramos los efectos de movimiento durante el pulso del gradiente, rigurosamente se tiene que suponer que  $\delta \rightarrow 0$  y  $|G| \rightarrow \infty$ , pero en la práctica basta con que  $\delta \ll \Delta$  por lo tanto el efecto del

gradiente de duración  $\delta$  en un spin con posición  $r$  está dado por:

$$\phi(r) = \gamma\delta G \cdot r. \quad (2.21)$$

El cambio de fase de un spin que se mueve de  $r_0$  a  $r_1$  está dado por:

$$\Delta\phi(r_1 - r_0) = \gamma\delta G \cdot (r_1 - r_0). \quad (2.22)$$

La probabilidad de que un spin empiece en  $r_0$  y se mueva a  $r_1$  en un tiempo  $\Delta$  es:

$$\rho(r_0)P(r_0, r_1, \Delta), \quad (2.23)$$

en donde  $\rho(r_0)$  es la densidad de la partícula y:

$$P(r_0, r_1, \Delta) = (4\pi D\Delta)^{-3/2} e^{-\frac{(r_1-r_0)^2}{4D\Delta}}. \quad (2.24)$$

La señal de NMR es proporcional a la suma de vectores de los componentes transversos de la magnetización, por lo tanto la señal para un spin es:

$$\rho(r_0)P(r_0, r_1, \Delta)e^{i\gamma\delta G \cdot (r_1-r_0)}, \quad (2.25)$$

pero como estamos trabajando con un ensamble de spins, debemos integrar sobre todos los posibles puntos de inicio y final, tenemos:

$$E(G, \Delta) = \int \int \rho(r_0)P(r_0, r_1, \Delta) e^{i\gamma\delta G \cdot (r_1-r_0)} dr_0 dr_1. \quad (2.26)$$

Si suponemos que la difusión es libre, el propagador  $p(r_0, r_1, \Delta)$  es Gaussiano, observemos que  $E$  no es más que la transformada de Fourier del propagador. Si resolvemos esta transformada de Fourier, obtenemos que la atenuación debido a la difusión es:

$$E(G, \Delta) = e^{-\gamma^2 G^2 D \delta^2 \Delta - \frac{\delta}{3}}, \quad (2.27)$$

reescribiendo:

$$E(G, \Delta) = f(\delta, G, \Delta, D) = e^{-bD}, \quad (2.28)$$

en donde:

$$b = (\gamma\delta G)^2 \left( \Delta - \frac{\delta}{3} \right). \quad (2.29)$$

$D$  es el coeficiente de difusión aparente, que nos brinda información acerca de la geometría del medio. Se observa que  $b$  es conocido, ya que depende únicamente de parámetros iniciales de la máquina. Sustituyendo la ecuación (2.28) en (2.19) obtenemos la famosa ecuación de Stejskal-Tanner, la cual describe la relación entre la pérdida de fase en la señal adquirida  $S(2\tau)$  y el gradiente  $G$ ,

$$S(2\tau) = S(0) \exp\left(-\frac{2\tau}{T_2}\right) e^{-bD}. \quad (2.30)$$

Entre mayor sea el valor  $b$ , también conocido como *b-valor*, la señal estará más atenuada. Intuitivamente se puede incrementar el *b-valor* aumentando  $\delta$ , ya que el proceso de difusión es mayor entre más grande es el tiempo transcurrido. Sin embargo en la práctica, se aumenta la magnitud del gradiente  $G$ , ya que en tiempos muy largos la señal es completamente atenuada por la relajación  $T_2$ . La atenuación también es controlada por  $D$ , cuanto mayor sean los coeficientes del tensor de difusión menor será la señal y viceversa.

### 2.4.3. Estimación del Tensor de Difusión

En la ecuación (2.9) se observó que, para el tejido humano,  $D$  es un tensor simétrico y definido positivo, por lo que para estimarlo es necesario hacer mediciones de atenuación de la señal en al menos 6 direcciones independientes y además tener la medición de la señal sin difusión  $S(2\tau)_{G=0}$ . Para estimar  $D$  tenemos un sistema de

ecuaciones de la siguiente forma:

$$\ln \left( \frac{S(2\tau)}{S(2\tau)_{G=0}} \right) = -bg^T Dg$$

$$D_g = \frac{1}{-b} \ln \left( \frac{S(2\tau)}{S(2\tau)_{G=0}} \right), \quad (2.31)$$

en donde  $g = [g_x, g_y, g_z]$  es un vector unitario que define una dirección arbitraria. El sistema lineal descrito en la ecuación (2.31) también puede representarse en forma matricial:

$$\underbrace{\begin{bmatrix} (g_x^{(1)})^2 & 2g_x^{(1)}g_y^{(1)} & 2g_x^{(1)}g_z^{(1)} & (g_y^{(1)})^2 & 2g_y^{(1)}g_z^{(1)} & (g_z^{(1)})^2 \\ (g_x^{(2)})^2 & 2g_x^{(2)}g_y^{(2)} & 2g_x^{(2)}g_z^{(2)} & (g_y^{(2)})^2 & 2g_y^{(2)}g_z^{(2)} & (g_z^{(2)})^2 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ (g_x^{(N)})^2 & 2g_x^{(N)}g_y^{(N)} & 2g_x^{(N)}g_z^{(N)} & (g_y^{(N)})^2 & 2g_y^{(N)}g_z^{(N)} & (g_z^{(N)})^2 \end{bmatrix}}_{\tilde{G}} \underbrace{\begin{bmatrix} D_{xx} \\ D_{xy} \\ D_{xz} \\ D_{yy} \\ D_{yz} \\ D_{zz} \end{bmatrix}}_{\tilde{D}} = \underbrace{\begin{bmatrix} \frac{1}{-b} \ln \left( \frac{S(2\tau)}{S_1(2\tau)_{G=0}} \right) \\ \frac{1}{-b} \ln \left( \frac{S(2\tau)}{S_2(2\tau)_{G=0}} \right) \\ \vdots \\ \frac{1}{-b} \ln \left( \frac{S(2\tau)}{S_N(2\tau)_{G=0}} \right) \end{bmatrix}}_B \quad (2.32)$$

Se observa que tenemos 6 incógnitas, cada una correspondiente a una posición en el tensor de difusión. Para exactamente 6 mediciones ( $N = 6$ ), existe una solución única y puede ser fácilmente calculada:

$$\tilde{D} = \tilde{G}^{-1} \cdot B. \quad (2.33)$$

Si hay más de seis mediciones el sistema estará sobredeterminado y puede ser resuelto utilizando algún método de mínimos cuadrados [10]

#### 2.4.4. Interpretación Geométrica del Tensor de Difusión

Como se explicó en la Sección anterior,  $D$  se considera un tensor por lo que se describe utilizando una matriz definida positiva de tamaño  $3 \times 3$ . En un experimento de DW-MRI, la difusión se mide a lo largo de una dirección arbitraria de  $D$ , la cual puede indicarse con el vector unitario  $u$ . Por ejemplo, si el gradiente que hace el

experimento sensible a la difusión se aplica en el eje  $x$ ,  $u = [1, 0, 0]$ , o si se aplica a un ángulo  $\theta$  del eje  $x$ ,  $u = [\cos(\theta), \sin(\theta), 0]$ . Entonces el valor de  $D$  a lo largo de cualquier dirección  $u$  está dado por:

$$D_u = \begin{bmatrix} u_x & u_y & u_z \end{bmatrix} \begin{bmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{xy} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{xz} & D_{yz} & D_{zz} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} u_x \\ u_y \\ u_z \end{bmatrix}, \quad (2.34)$$

utilizando una notación más compacta podemos escribir lo anterior como:

$$D_u = u^T D u \quad (2.35)$$

Las DW-MRI son entonces un campo tensorial, en el cual cada voxel puede ser representado por un elipsoide. Esta forma geométrica representa la distribución espacial de las posiciones finales de las moléculas que se mueven aleatoriamente regidas por el tensor de difusión. Este elipsoide se obtiene al realizar la descomposición propia del tensor:

$$D = E \cdot \Lambda \cdot E^{-1}, \quad (2.36)$$

con

$$E = \begin{bmatrix} e_1 & e_2 & e_3 \end{bmatrix} \quad \text{y} \quad \Lambda = \begin{bmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2 & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_3 \end{bmatrix}, \quad (2.37)$$

$\Lambda$  es la matriz de eigen-valores en donde  $\lambda_1 \geq \lambda_2 \geq \lambda_3$  y  $E$  son los eigen-vectores ortonormales. Geométricamente cada eigen-vector define un eje del elipsoide y su eigen-valor corresponde a la magnitud de la difusión en dicho eje. Todo esto se observa en la Figura 2-9



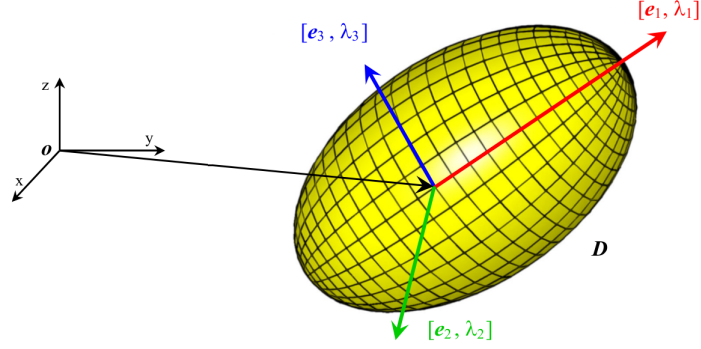


Figura 2-9: Representación elipsoidal del tensor de difusión  $D$ . Cada voxel de la imagen puede describirse como un elipsoide diferente definido por sus eigen-vectores  $e_i$  y sus eigen-valores  $\lambda_i$ . Figura obtenida de [24].

$e_1$  describe la dirección predominante de difusión y se conoce como vector principal de difusión (PDV). Es importante mencionar que la dirección de difusión en un tensor es ambigua, las moléculas se difunden en una orientación por lo que el PDV puede ser tanto en  $e_1$  como  $-e_1$ .

### 2.4.5. Índices Invariantes del Tensor de Difusión

Además de la información direccional descrita en la Sección anterior, diferentes medidas pueden calcularse a partir del tensor de difusión, las cuales pueden proveer información acerca de la microestructura del tejido. Estas medidas son invariantes al sistema coordenado del protocolo de adquisición.

La primera de ellas es la difusión media (MD), este índice caracteriza el desplazamiento promedio de las moléculas de agua en las tres direcciones principales, se calcula como:

$$MD(D) = \frac{Tr(D)}{3} = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3}{3}, \quad (2.38)$$

donde  $Tr(D)$  es la traza del tensor de difusión. Geométricamente la MD puede considerarse como el tamaño promedio del elipsoide.

Otro índice que se puede calcular es la anisotropía fraccional (FA), esta medición intenta caracterizar el grado de difusión anisotrópica en el tejido, indica que tan fuertemente orientada está la difusión en una sola dirección espacial [27]. Este índice

se define como:

$$FA(D) = \sqrt{\frac{(\lambda_1 - \lambda_2)^2 + (\lambda_1 - \lambda_3)^2 + (\lambda_2 - \lambda_3)^2}{2(\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2)}} \quad (2.39)$$

Para medios isotrópicos tiende a 0, mientras que para medios anisotrópicos tiende a 1. En cerebros sanos los valores más grandes de FA se encuentran en la WM, en particular en el cuerpo calloso, mientras que en la GM, se considera que hay difusión homogénea en todas las direcciones y por lo tanto la FA es menor. La anisotropía en la WM, se debe principalmente a la organización que hay del tejido en fibras y fascículos.

En la Figura 2-10 se presenta la FA y MD de un cerebro humano sano. Se observa que los valores de FA son altos en WM y bajos en GM, mientras que en la MD no se aprecia contraste entre estos dos tipos de tejido. Los valores de mayor intensidad en la MD corresponden a las zonas de CSF que es en donde las moléculas de agua pueden difundirse libremente.

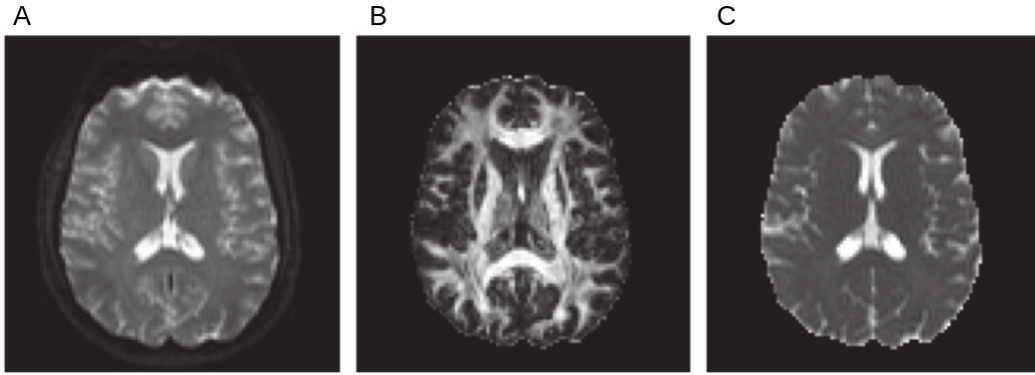


Figura 2-10: (A) MRI pesada en  $T_2$  de un cerebro sano. (B) FA, los valores son altos en WM y bajos en GM. (C) MD, no se aprecia contraste entre WM y GM, los valores de mayor intensidad corresponden al CSF en los ventrículos del cerebro. Figura obtenida de [4].

Por último tenemos la difusividad axial (AD) y la difusividad radial (RD). Las

difusividades  $(\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3)$  obtenidas al diagonalizar el tensor  $D$  pueden ser delimitadas en componentes paralelos ( $\lambda_1$ ) y perpendiculares ( $\lambda_2$  y  $\lambda_3$ ) de las fibras axonales. La AD se define como:

$$\lambda_{\parallel} \equiv \lambda_1 > \lambda_2, \lambda_3, \quad (2.40)$$

este índice describe el coeficiente medio de difusión de las moléculas de agua que se difunden paralelo a los axones en el voxel de interés. A su vez, la RD se define como:

$$\lambda_{\perp} \equiv \frac{(\lambda_2 + \lambda_3)}{2}, \quad (2.41)$$

este índice describe la difusión de las moléculas de agua perpendiculares a la dirección del axón en el voxel de interés [35].

## 2.5. Ruido Riciano

El ruido en las DW-MRI está gobernado por una distribución Riciana [16]. Para entender por qué las imágenes están contaminadas por este tipo de ruido es necesario analizar el proceso de adquisición de la señal.

Cómo se presentó en secciones anteriores la señal de NMR proviene de una corriente generada por la magnetización de los spins después de aplicar un pulso de RF. Para detectar esta señal se utilizan bobinas dispuestas ortogonalmente. Las señales de salida se envían por separado, obteniendo una señal compleja con un canal real y otro imaginario. En teoría las señales de ambos canales deberían ser idénticas, pero con un desfase de  $90^\circ$ , ya que se está observando el mismo fenómeno desde dos perspectivas diferentes, en la práctica esto no es así debido a que los canales se ven afectados por el ruido de forma independiente.

La magnitud de una señal sin ruido, compuesta por su parte real e imaginaria se puede calcular como:

$$S = \sqrt{S_{re}^2 + S_{im}^2} \quad (2.42)$$

Se supone que el ruido en cada canal es independiente y Gaussiano, por lo que al calcular la magnitud el ruido resultante tiene una distribución Riciana. Para simular el proceso de agregación de ruido en señales sintéticas se deben crear dos distribuciones normales con la misma varianza ( $\sigma^2$ ), la señal ruidosa ( $S_n$ ) se obtiene conforme a la siguiente ecuación:

$$S_n = \sqrt{(S + N_{re})^2 + N_{im}^2} \quad (2.43)$$

$$N_{re}, N_{im} \sim \mathcal{N}(0, \sigma^2)$$

### 2.5.1. Relación Señal a Ruido (SNR)

La relación señal a ruido (SNR) es un indicador de la calidad de una señal. Este valor es proporcional a la contribución de la señal con respecto al ruido. Para el caso de DW-MRI, la convención más usada es que:

$$SNR = \frac{\bar{S}_0}{\sigma}, \quad (2.44)$$

donde  $\bar{S}_0$  es el promedio de las imágenes  $S_0$ . Entre más grande sea la SNR la señal tendrá mejor calidad.

## 2.6. Modelo de Señales de DW-MRI

Existen diversos modelos para representar la señal generada por el movimiento del agua en el tejido. En los modelos multicompartimiento se representa la señal total como una combinación de subseñales de la parte intracelular y extracelular.

La morfología básica de una neurona se presenta en la parte izquierda de la Figura 2-11, consta de un soma, un axón y un número variable de dendritas. El axón puede ser visto como una estructura tubular que restringe el movimiento del agua y las dendritas como una combinación de este tipo de estructuras en múltiples orientaciones.

Es por esto que para la parte intracelular de los axones los modelos más utilizados son el modelo de stick y el modelo de cilindros. El modelo de cilindro supone una

difusión restringida para el agua en el interior y tiene un parámetro de difusión paralela ( $\lambda_{\parallel}$ ), así como el radio del cilindro ( $R$ ) y la dirección en la que se encuentra orientado. El modelo de stick es una simplificación del modelo anterior dado que supone un cilindro de radio  $R = 0$ , lo que implica que solo existe difusión a lo largo de la fibra axonal [25].

Algunos modelos para la difusión extracelular son el modelo de bola y el modelo de zeppelin. El modelo de bola supone una difusión isotrópica, el agua se mueve libremente para todas las direcciones, es un modelo muy sencillo y por consiguiente poco usado. El modelo de zeppelin es un tensor de difusión con dos de sus eigenvalores iguales, en el que la dirección principal tiene como difusión el valor  $\lambda_{\parallel}$  y las dos direcciones restantes tienen como difusión  $\lambda_{\perp}$ , el cual puede estimarse de manera libre o de un modelo de tortuosidad para reducir la complejidad del ajuste [8, 34].

$$\lambda_{\perp} = (1 - icsf)\lambda_{\parallel}, \tag{2.45}$$

en donde  $icsf$  es la fracción intracelular de señal (ICSF), un índice que representa que tan empaquetados están los manojos de axones dentro del voxel. Todo lo anterior se ve ejemplificado en la Figura 2-11 en donde se representan visualmente los distintos modelos intracelulares y extracelulares.

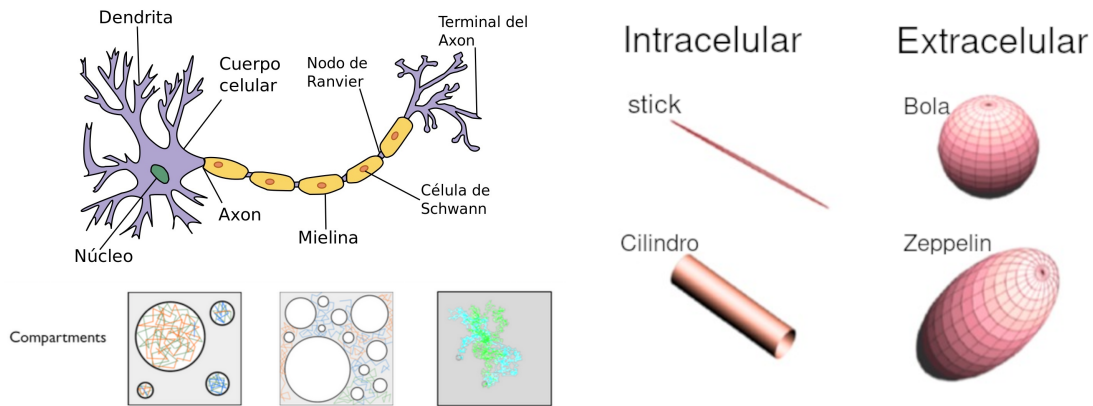


Figura 2-11: Modelos de multicompartimiento, difusión intracelular (izquierda), difusión extracelular (derecha). Figura obtenida de [8].

## 2.7. Técnica de la Media Esférica (SMT)

Las técnicas que se utilizan normalmente para analizar las DW-MRI tienen limitaciones, se suele suponer que la población intravoxel de axones consiste en un solo haz de fibras y que los axones dentro de esta fibra tienen la misma orientación y típicamente esto no sucede. Incluso en el cuerpo calloso la distribución de direcciones está lejos de ser homogénea [22]. Estas pequeñas ondulaciones que existen en los axones pueden originar una dispersión de orientación significativa.

Para enfrentar esta limitación es que se utiliza la SMT, esta técnica ha sido utilizada para estimar la difusión paralela  $\lambda_{\parallel}$  y la difusión perpendicular  $\lambda_{\perp}$  de los microambientes axonales sin los efectos debido a la dispersión y a los cruces de axones en la materia blanca, como se presenta en los artículos de Kaden [22] [11]. Por ejemplo Sun la utilizó para segmentar el cerebro en diversos compartimientos permitiendo una clasificación basada únicamente en las propiedades de la microestructura [33].

Algunas de las ventajas de esta técnica es que no se utiliza información apriori de la distribución de orientación de fibras (FOD) ni secuencias complicadas con múltiples gradientes para la adquisición. Esto se debe al hecho de que para un  $b$ -valor fijo la media esférica de la señal de difusión en las direcciones del gradiente no depende de la FOD. En particular, la señal media es solo función de la señal de difusión de axones individuales. A continuación se brinda una descripción detallada de la SMT.

En primer lugar se empezará con un modelo de señal de difusión para las fibras individuales. Consideremos la vecindad infinitesimal de un axón orientado por el vector tangente  $w \in S^2$ , en donde  $S^2 = \{w \in \mathbb{R}^3 : \|w\| = 1\}$  denota la esfera unitaria de dos dimensiones. Si el trayecto del axón es lo suficientemente suave, un segmento de la fibra se asemeja a un cilindro.

La señal de difusión para un microambiente de fibras incluyendo el espacio extracelular que lo rodea se puede modelar por el kernel  $h_b(g, w)$ .  $b \geq 0$  denota el factor de difusión y  $g \in S^2$  la dirección del gradiente normalizada. Este kernel es diametralmente simétrico,  $h_b(g, w) = h_b(-g, w)$  para toda  $g, w \in S^2$  y toma valores en el intervalo  $[0, 1]$ . Por lo tanto suponemos que la señal  $h_b$  de un manojito de axones es

conocida para su orientación  $w \in S^2$ .

La convolución esférica de la distribución de orientaciones de fibras (FOD) con  $h_b$  da origen a la atenuación de la señal de resonancia magnética debido a difusión:

$$e_b(g) = \frac{E_b(g)}{E_0} = \int_{S^2} h_b(g, w) p(w) dw, \quad (2.46)$$

en donde  $p$  es la FOD. Esta densidad es simétrica  $p(w) = p(-w)$ ,  $w \in S^2$ , no negativa,  $p(w) \geq 0$ ,  $w \in S^2$  y está normalizada,  $\int_{S^2} p(w) dw = 1$ .  $E_b(g)$  es la señal de resonancia magnética con los gradientes de difusión encendidos, mientras que  $E_0$  es la señal en ausencia de estos gradientes, una imagen T2.

Hasta el momento hemos supuesto que se conoce la señal de difusión de un segmento de fibra. Para estimar la respuesta al impulso sin conocimiento previo de la FOD, consideremos la media esférica de la señal de difusión a lo largo de las direcciones del gradiente:

$$\bar{e}_b = \frac{1}{4\pi} \int_{S^2} e_b(g) dg, \quad (2.47)$$

en donde todos los demás parámetros, en particular  $b \geq 0$  están fijos. La idea es que la señal media  $\bar{e}_b$  es invariante con respecto a la FOD. Para ver esto, primero mostraremos que la media esférica de la respuesta al impulso de un segmento de axón:

$$\bar{h}_b = \frac{1}{4\pi} \int_{S^2} h_b(g, w) dg, \quad (2.48)$$

no depende de la orientación  $w \in S^2$ . Para dos direcciones arbitrarias  $w_1, w_2 \in S^2$  siempre podemos encontrar una rotación  $R \in SO$  que preserve la orientación con  $w_1 = R w_2$ , en donde  $SO$  denota el grupo especial ortogonal. Por lo tanto:

$$\frac{1}{4\pi} \int_{S^2} h_b(g, w_2) dg = \frac{1}{4\pi} \int_{S^2} h_b(Rg, R w_2) dg \quad (2.49)$$

$$= \frac{1}{4\pi} \int_{S^2} h_b(Rg, w_1) dg = \frac{1}{4\pi} \int_{S^2} h_b(g, w_1) dg. \quad (2.50)$$

$h_b$  solo depende del producto interno de sus argumentos y la integración es invariante a traslaciones con respecto a  $SO$ .

Ahora se demuestra la propiedad de invarianza. Sustituimos el modelo de convolución de la ecuación (2.46) en la ecuación (2.47), debido a que la magnitud del kernel  $|h_b(g, w)| \leq 1$  está acotada para todo  $g, w \in S^2$  y tanto el área  $S^2$  y la integral  $\int_{S^2} p(w) dw$  son finitas, podemos cambiar el orden de las integrales de la siguiente manera:

$$\bar{e}_b = \int_{S^2} \left( \frac{1}{4\pi} \int_{S^2} h_b(g, w) dg \right) p(w) dw = \bar{h}_b \int_{S^2} p(w) dw, \quad (2.51)$$

como se demostró anteriormente, la integral entre paréntesis no es función de  $w$  por lo tanto nos da la media esférica  $\bar{h}_b$ . Recordemos que  $\int_{S^2} p(w) dw = 1$ . Entonces la señal  $\bar{e}_b$  para alguna orientación de fibra es igual a la media esférica de la señal de difusión de un manojito de axones  $\bar{h}_b$ , sin importar su orientación.

Entonces, para obtener la media esférica del kernel cuya orientación puede ser elegida arbitrariamente, normalmente por conveniencia  $w = (0, 0, 1)^T \in S^2$ , basta con calcular la media esférica de la señal de difusión.

En la Figura 2-12 se explica como se calcula la SMT en la práctica. Cada color en la Figura representa un shell diferente y cada esfera la señal de resonancia magnética en una orientación diferente. Para obtener la SMT se deben promediar las intensidades de la señal de resonancia magnética con respecto a los shells. La palabra shell se refiere al conjunto de señales con diferentes orientaciones adquiridas con un mismo *b-valor*.



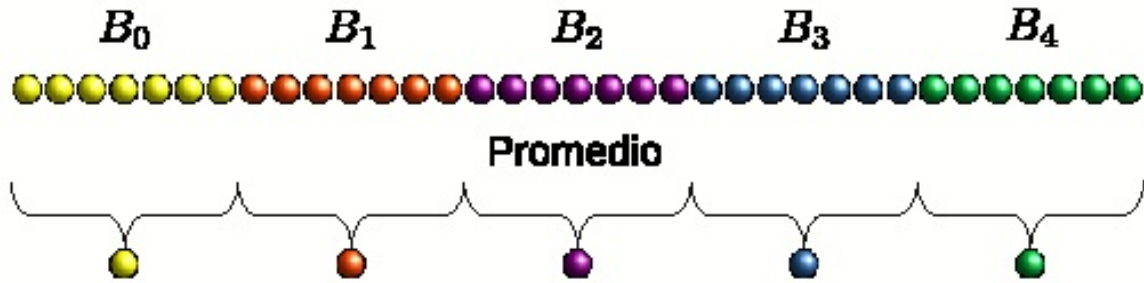


Figura 2-12: Representación del cálculo de la SMT en un voxel de las DW-MRI, cada color representa un shell diferente y cada esfera una orientación del protocolo. Se observa que se cuenta con 7 orientaciones por shell, al aplicar la SMT y promediar los valores de intensidad de cada shell nos quedamos con una señal de tamaño del número de shells.

## 2.8. Aprendizaje Supervisado y No Supervisado

En el campo del Machine Learning hay 2 paradigmas importantes de aprendizaje, el supervisado y el no supervisado. La principal diferencia es que el aprendizaje supervisado necesita conocimiento previo o una etiqueta que indique el valor de salida que debería tener nuestra muestra, a esta etiqueta se le conoce como ground truth (GT). Por lo tanto, la meta del aprendizaje supervisado es encontrar una función que, dada una muestra de datos de entrenamiento y sus respectivas etiquetas GT, mejor aproxime la relación entre las variables de entrada y salida observadas en los datos. El aprendizaje no supervisado, por otro lado, no depende de etiquetas de salida, la meta es encontrar la estructura “intrínseca” presente en el conjunto de datos.

El aprendizaje supervisado se suele utilizar para problemas de clasificación y regresión. Algunos de los algoritmos más comunes son: regresión logística, máquinas de soporte vectorial, bosques aleatorios y redes neuronales artificiales. El aprendizaje no supervisado se suele utilizar para agrupamiento, segmentación y reducción de dimensionalidad, algunos de los algoritmos más comunes son: k-medias, análisis de componentes principales (PCA) y factorización no negativa de matrices (NMF).

### 2.8.1. Redes Neuronales Artificiales (ANN)

Las redes neuronales artificiales (ANN) son un método de machine learning inspirado en la idea de simular la forma en la que trabaja el cerebro humano. El cerebro está compuesto de un número muy grande de neuronas interconectadas, cada neurona es una célula que realiza una tarea simple, sin embargo una red interconectada de neuronas es capaz de realizar tareas complejas, como hablar o reconocer patrones en imágenes.

El modelo básico de una neurona en una ANN se muestra en la Figura 2-13. Cada neurona recibe múltiples entradas de otros nodos por medio de conexiones que tienen un peso asociado. Cuando la suma de los pesos de las entradas excede el umbral del nodo, se activa y la señal pasa al siguiente nodo a través de una función de activación. Este proceso se puede expresar como:

$$y = f \left( \sum_{i=0}^n w_i x_i - T \right). \quad (2.52)$$

En donde  $y$  es la salida del nodo,  $f$  la función de activación,  $w_i$  el peso de la entrada  $x_i$  y  $T$  el valor del umbral. Las ANN aprenden mediante un proceso de entrenamiento en donde los pesos son ajustados para minimizar el error entre la salida de la red y la etiqueta GT, todo esto se realiza utilizando un algoritmo conocido como “propagación hacia atrás” [20].

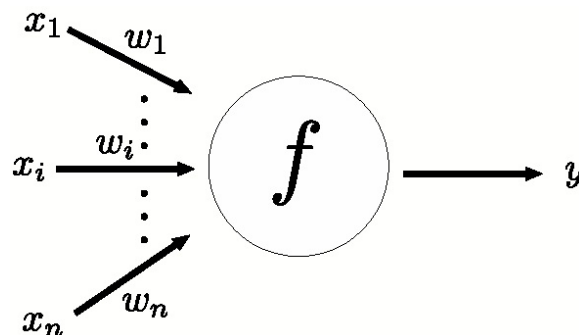


Figura 2-13: Modelo básico para una sola neurona.

## Overfitting

Se llama overfitting cuando la ANN no generaliza bien a partir de los datos de entrenamiento. Esto quiere decir que la red tiene un desempeño excelente durante el entrenamiento y un mal desempeño en la etapa de prueba. Los modelos con overfitting tienden a memorizar los datos de entrenamiento, incluyendo el ruido, en lugar de aprender los patrones intrínsecos de los datos [37].

Algunas de las técnicas más utilizadas para reducir el overfitting son el dropout y las regularizaciones L1 y L2. El dropout probabilísticamente apaga ciertas neuronas durante la fase de entrenamiento, mientras las regularizaciones añaden un término de regularización con respecto a los pesos en la función de pérdida, intuitivamente hablando, al tener pesos pequeños se reduce el impacto de las neuronas, dichas neuronas se vuelven despreciables y la complejidad total del modelo se reduce.

### 2.8.2. Factorización No Negativa de Matrices (NMF)

La factorización no negativa de matrices factoriza una matriz de datos no negativa  $V \in \mathbb{R}^{M \times N}$  en dos matrices no negativas: La matriz de bases  $W \in \mathbb{R}^{M \times K}$  y la matriz de pesos  $H \in \mathbb{R}^{K \times N}$ .

$$V \approx W \times H. \quad (2.53)$$

Cada columna de  $W$  es un vector base que representa cierto tipo de tejido y su correspondiente renglón en  $H$  contiene el peso (también denominado fracción de volumen cuando se normaliza para que su suma sea 1) del voxel en relación al tipo de tejido.

El parámetro  $K$  de la factorización usualmente es menor que  $M$  y  $N$ . De forma general la NMF se obtiene de resolver el siguiente problema de minimización:

$$\min_{W,H} \|V - WH\|_F^2, \quad w_{i,j} \geq 0, \quad h_{i,j} \geq 0. \quad (2.54)$$

NMF puede tener distintas soluciones, esto se controla penalizando la rareza:

$$\min_{W,H} \|V - WH\|_F^2 + \lambda_1 \sum_j \|h_j\|_1 + \lambda_2 \sum_j \|h_j\|_2^2, \quad w_{i,j} \geq 0, \quad h_{i,j} \geq 0, \quad (2.55)$$

en donde  $h_j$  es la  $j$ -ésima columna del vector  $H$ . La solución a la ecuación (2.55) puede obtenerse al resolver alternadamente dos subproblemas, uno de mínimos cuadrados no negativos:

$$\min_W \|V - WH\|_F^2, \quad w_{i,j} \geq 0, \quad (2.56)$$

cuando  $H$  es fijo y el segundo un problema de red elástica

$$\min_H \|V - WH\|_F^2 + \lambda_1 \sum_j \|h_j\|_1 + \lambda_2 \sum_j \|h_j\|_2^2, \quad h_{i,j} \geq 0, \quad (2.57)$$

cuando  $W$  es fija.

Este método ha sido utilizado para segmentar imágenes del cerebro, Jeurissen et al. [19] aplicaron NMF directamente sobre DWMRI del cerebro. Su matriz de datos  $V$  se forma haciendo que cada renglón corresponda a una imagen de difusión diferente y cada columna a un voxel. Fijaron el parámetro  $K$  en 3 para recuperar los tres tipos principales de tejidos en el cerebro (WM, GM y CSF). Sin embargo esta representación deja algunas dudas, es incierto como la WM, que puede venir en una gran variedad de orientaciones y configuraciones, puede ser suficientemente bien representada utilizando un solo vector base.

Es por eso que Sun et al. [33] aplicaron la NMF sobre los datos de SMT en lugar de las DW-MRI originales, esperando quitar el efecto de la dispersión y segmentar el tejido basado únicamente en las propiedades de microestructura. En este caso cada renglón de la matriz  $V$  corresponde a un shell asociado con un  $b$ -valor y cada columna a la SMT de un voxel diferente. De igual forma el parámetro  $K$  fue fijado en 3 para obtener WM, GM y CSF.

## 2.9. Diccionarios

Los modelos basados en diccionarios plantean un problema de solución a un sistema de ecuaciones lineales ( $S = \Phi\alpha$ ) en el que se busca una combinación lineal de los elementos no negativos para recrear la señal original. Los elementos de los diccionarios utilizados para DW-MRI son señales individuales con ciertas características variables como parámetros de un modelo u orientación espacial.

En la literatura se encuentran algoritmos como Diffusion Basis Functions (DBF) en el que sus átomos o elementos del diccionario son señales con un valor fijo de  $\lambda_{\parallel}$  y el resultado consiste en identificar las orientaciones principales que corresponden a la reconstrucción de la señal [30].

Este modelo se basa en suponer que el contenido de un voxel se puede modelar como una suma de distribuciones Gaussianas que representan señales de resonancia magnética de diferentes micro-ambientes:

$$S(q_k, \tau) = \sum_{j=1}^N \alpha_j \phi_j(q_k, \tau) + \eta_{q_k} + \epsilon_k \quad (2.58)$$

con  $\alpha_j \geq 0$ ; en donde el  $j$ -ésimo DBF se define como:

$$\phi_j(q_k, \tau) = S_0 e^{q_k^T \bar{T}_j q_k \tau}, \quad (2.59)$$

en donde  $\phi_j(q_k, \tau)$  se entiende como el coeficiente de la señal pesada por difusión para el vector de difusión  $q_k$  debido a una sola fibra modelada por el tensor de bases  $\bar{T}_j$ .  $\alpha_j$  denota la contribución del  $j$ -ésimo DBF  $\{\phi_j(q_k, \tau)\}_{k=1, \dots, M}$ . La base  $\{\Phi\}$  está incompleta porque el espacio disponible de orientaciones es una discretización del espacio 3-D, por lo tanto tenemos un residual  $\eta_{q_k}$ .

El método Empirical Diffusion-and-Direction Distributions (ED<sup>3</sup>) genera un diccionario a partir de señales intracelulares y extracelulares, todas en  $N$  orientaciones que cubren la media esfera equiespaciadamente [18] [17]. Las señales intracelulares se generan con el modelo de sticks y las extracelulares con zepellins utilizando el modelo de tortuosidad de la ecuación (2.45). La matriz que conforma el diccionario

$\{\Phi\}$  contiene  $N$  señales intracelulares y extracelulares como columnas y el número de renglones corresponde a la longitud de la señal dada por el protocolo de adquisición.

Para ajustar el modelo de diccionarios a una señal se utiliza un método de regularización que resuelve un problema de mínimos cuadrados no negativos:

$$\min \|\phi\alpha - S\|_2^2 + \lambda \|\alpha\|_1. \quad (2.60)$$

La idea es encontrar estos coeficientes  $\alpha$  y las orientaciones a las que se encuentran las señales  $\phi(q_k, \tau)$  para calcular parámetros de la microestructura como el ICSF e índices que describan la dispersión de las fibras axonales.

# Capítulo 3

## Datos ex-vivo de DW-MR

### 3.1. Descripción de los Datos

Se cuenta con imágenes crudas de resonancia magnética pesadas por difusión de cerebros de 8 ratas control y 7 ratas dañadas con isquemia retinal unilateral en el nervio óptico, la severidad del daño inducido en el nervio depende de la duración de la isquemia y el tiempo de adquisición de los datos con respecto al procedimiento anterior. Los datos descritos aquí corresponden a cambios ocasionados por 30 días después del procedimiento de isquemia.

La isquemia retinal unilateral fue inducida en el INB UNAM en 7 ratas Wistar hembras con edades entre 16 - 18 semanas y peso de  $354 \pm 59$  g. 8 ratas adicionales sirvieron como control. Los animales fueron anestesiados con una solución de Ketamina/xilacina (70/4 mg/ml) administrada intraperitonealmente a 0.1 ml / 100 g, posteriormente fueron puestos en una placa estereotáctica para reducir el movimiento durante el experimento[9].

Se inyectó una aguja calibre 32 unilateralmente por la cámara anterior del ojo, la aguja se conectó por un tubo a un reservorio con solución salina, el reservorio fue elevado hasta que la presión (medida con un manómetro en línea) alcanzó 120 mm/Hg; se mantuvo está presión durante 90 minutos. Se extrajo cuidadosamente la aguja y se administraron antibióticos tópicos.

Después del procedimiento los animales se recuperaron de la anestesia y fueron

puestos en sus jaulas con libre acceso a agua y comida. 30 días después del procedimiento para inducir isquemia las ratas fueron anestesiadas profundamente con pentobarbital sódico y perfundidas intracardialmente con 4% de paraformaldehído y 2.5% de glutaraldehído con gadobutrol. Los cerebros fueron extraídos y guardados en paraformaldehído al 4% a 4 C° hasta que fueron escaneados mediante resonancia magnética.

## 3.2. Adquisición de las MRI

Los cerebros fueron escaneados por el Instituto de Neurobiología de la UNAM utilizando un resonador Bruker Pharmascan 70/16 de 7 T con una amplitud máxima de gradiente de 760 mT/m usando una combinación de una bobina de radiofrecuencia polarizada circularmente de 72 mm de diámetro interno (para transmisión) y un arreglo de bobinas superficial de 2x2 para cabeza de rata (solo recepción). Los cerebros fueron sacados de refrigeración 2 horas antes de la adquisición, puestos en un tubo de plástico e inmersos en perfluoropoliéter. Los cerebros fueron orientados tal que el quiasma y los nervios ópticos estuvieran próximos a la bobina receptora. El escaneo se realizó a temperatura ambiente (21 C°) con fluctuaciones menores a 1.5 C°. Un mapa  $S_0$  fue obtenido y usado para calibrar automáticamente los imanes antes de la adquisición de resonancia magnética por difusión.

Las imágenes fueron adquiridas con una resolución de voxel de  $80 \times 80 \times 80 \text{ mm}^3$  usando una adquisición eco-planar 3-dimensional con 8 segmentos. El tiempo de repetición (TR) fue de  $x$  ms y el tiempo eco (TE) de  $x$  ms; NEX = 1. Las imágenes de resonancia magnética pesadas por difusión se adquirieron en 180 orientaciones diferentes con *b-valores* de 0, 1000, 3000, 5000 y 7000  $s/mm^2$ . La duración ( $\delta$ ) y separación ( $\Delta$ ) del gradiente de difusión fueron de 4.9 y 10.84 ms respectivamente. En la Tabla 3.1 se muestran los *b-valor* con sus respectivos números de orientaciones.



<i>b-valor</i>	<i>Orientaciones</i>
0	20
1000	20
3000	34
5000	52
7000	54

Tabla 3.1: *b-valores* del protocolo con su número de orientaciones

### 3.3. Histología

Después de la adquisición de las DW-MRI los nervios ópticos fueron separados del cerebro, teñidos con tetróxido de osmio, lavados con una solución de fosfato salino (0.1 M) y deshidratado con acetona. Posteriormente, el tejido fue colocado en una solución 2:1 de resina epóxica/acetona por aproximadamente 18 horas. Para la polimerización, las muestras se colocaron en un molde con resina epóxica a 60° C. Los nervios ópticos fueron seccionados (500 nm de grosor) perpendicularmente al eje más largo. Cada segmento se tiñó con una solución de azul de toluidina y borato de sodio (ambos al 0.5 %) para el registro de imágenes usando microfotografía con un microscopio óptico.

En el análisis cuantitativo realizado por G. Rojas - Vite et al. [23] sobre estos datos, utilizando el software *AxonSeg*, obtuvieron la cuenta total de axones, el diámetro axonal y el diámetro de la mielina más el axón. Con estas métricas pudieron calcular la densidad axonal, la fracción de volumen del área intra-axonal (ICVF), el grosor de la mielina y la fracción de volumen de la mielina.

La información proveniente de histología mide el ICVF tomando en cuenta la mielina, pero debido a que la mielina es invisible en las DW-MRI se debe quitar su contribución para obtener el ICSF. Se utilizaron los datos de histología para calcular el ICSF de cada rata como se indica en la Figura 3-1 y posteriormente se promedió el valor para las 8 ratas control, obteniendo un ICSF promedio de histología  $\overline{icsf}_{hist} = 0.674$ .

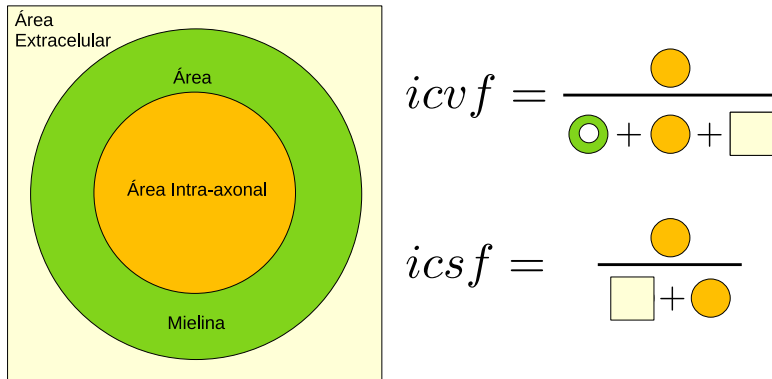


Figura 3-1: Cálculo del ICSF a partir de los datos de histología de [23].

### 3.4. Pre-Procesamiento

Todas las imágenes obtenidas fueron recortadas para remover espacio innecesario sin tejido y posteriormente se les aplicó el siguiente pipeline de pre-procesamiento:

- Denoising
- Corrección de Gibbs
- Corrección del sesgo de campo
- Registro
- Escalamiento
- Corrección de Manjón del sesgo Riciano

En esta Sección se explica cada uno de los pasos en el pre-procesamiento de las imágenes.

#### 3.4.1. Denoising

Se utilizó el comando `dwidenoise` de `MRtrix`, el cual estima el nivel del ruido basado en la teoría de matrices aleatorias. El método explota la redundancia en el dominio

de PCA, se utiliza el conocimiento previo que el eigen-espectro de las matrices de covarianza aleatorias se describe mediante la distribución universal de Marchenko-Pastur (MP) [14, 2].

El denoising de las imágenes debe aplicarse como el primer paso de la cadena del pre-procesamiento, ya que el registro y las correcciones de distorsión pueden alterar las características del ruido y por lo tanto violar los supuestos en los que MP-PCA está basado. Más información acerca del comando `dwidenoise` puede encontrarse en: [https://mrtrix.readthedocs.io/en/latest/dwi\\_preprocessing/denoising.html](https://mrtrix.readthedocs.io/en/latest/dwi_preprocessing/denoising.html).

En la Figura 3-2 se observa el efecto del denoising en una imagen de resonancia magnética. En la parte izquierda de la Figura se muestra la imagen antes del denoise, en medio el resultado del comando `dwidenoise` y en la parte derecha el ruido estimado.

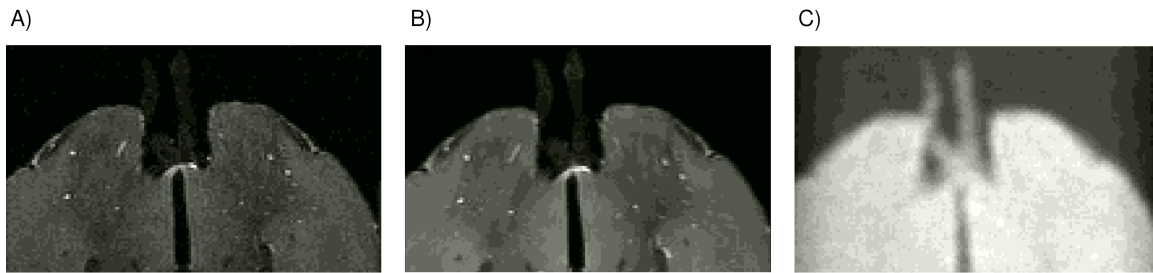


Figura 3-2: Efecto del comando `dwidenoise` sobre una DW-MRI. En A) se observa la imagen cruda, En B) la imagen después de aplicar el denoise y en C) la desviación estándar del ruido que fue estimada.

### 3.4.2. Corrección de Gibbs

El artefacto de Gibbs aparece típicamente como múltiples líneas finas paralelas adyacentes a interfaces de alto contraste. Estos artefactos ocurren como consecuencia de usar la transformada de Fourier para reconstruir la señal de resonancia magnética en imágenes. En teoría, cualquier señal puede ser representada como una suma infinita de ondas senoidales de diferentes amplitudes, fases y frecuencias pero en la práctica estamos limitados a muestrear un número finito de frecuencias y por lo tanto la imagen de resonancia magnética se aproxima con un número relativamente pequeño

de armónicos y la serie de Fourier se ve truncada.

Si la intensidad de un objeto cambia gradualmente en el espacio solo se necesitarán pocos términos de Fourier para representarla y los errores no serán tan evidentes, pero en interfases de alto contraste el truncamiento de la serie de Fourier resulta en artefactos grandes.

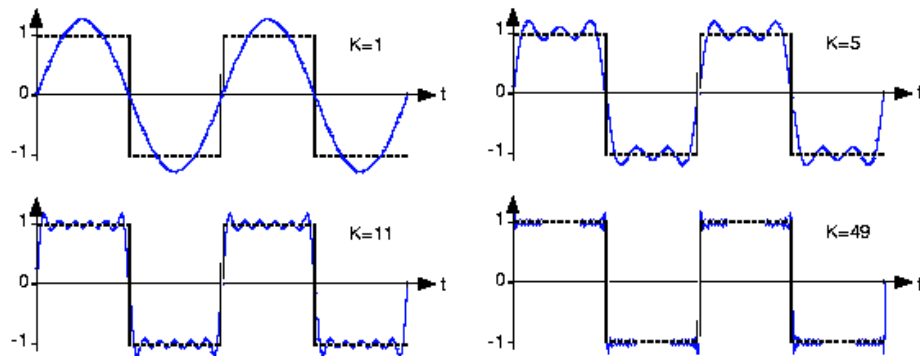


Figura 3-3: Aproximación en series de Fourier de una onda cuadrada. El número de terminos de Fourier se indica en cada gráfica. La aproximación de la onda cuadrada mejora al incrementar el número de terminos de Fourier. Figura obtenida de [https://cnx.org/contents/z\\_7ItX-D@17/Fourier-Series-Approximation-of-a-Square-Wave](https://cnx.org/contents/z_7ItX-D@17/Fourier-Series-Approximation-of-a-Square-Wave)

Esto se puede observar en la Figura 3-3, al intentar aproximar mediante series de Fourier la señal de un cuadrado (interfaz de alto contraste) se observa que el truncamiento en un número pequeño de términos de Fourier conlleva a artefactos grandes.

Para eliminar este artefacto se utilizó el comando `mrdegibbs` de `MRtrix` el cual está basado en el método de cambios locales de subvoxeles propuesto por Kellner et al [36]. Más información acerca del comando `mrdegibbs` puede encontrarse en <https://mrtrix.readthedocs.io/en/latest/reference/commands/mrdegibbs.html>.

### 3.4.3. Corrección del Sesgo de Campo

El sesgo de campo es una señal suave y de baja frecuencia que corrompe las imágenes de resonancia magnética debido a las inhomogeneidades del campo magnético de la máquina de MRI. El sesgo de campo difumina las imágenes y por lo tanto reduce el contenido de altas frecuencias como bordes, contornos y además cambia los valores de intensidad de los voxels de la imagen de tal forma que el mismo tejido tiene diferentes distribuciones de niveles de gris a través de la imagen. Una variación de bajo nivel no tendrá mucho impacto en un diagnóstico clínico. Sin embargo puede resultar en un peor desempeño de los algoritmos de procesamiento de imágenes [12].

En la Figura 3-4 se muestra un ejemplo del sesgo de campo en una MRI. Se observa que en la parte izquierda de la Figura la intensidad de la imagen se ve afectada debido a las inhomogeneidades del campo magnético.

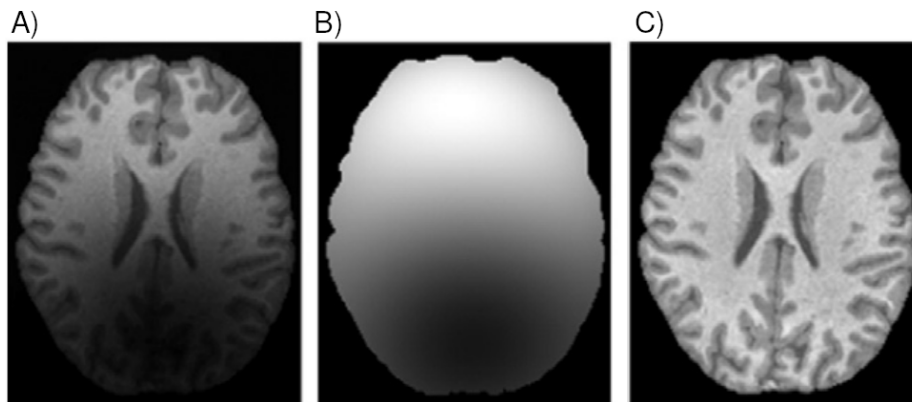


Figura 3-4: Sesgo de campo en una imagen de resonancia magnética. En A) se observa la imagen corrompida con el sesgo de campo, en B) el sesgo de campo estimado por el método y en C) la imagen corregida. Figura tomada de [7].

Para hacer la corrección del sesgo de campo se empleó el comando `dwibiascorrect` de `MRtrix` el cual utiliza el algoritmo N4 [31]. Más información de este comando puede encontrarse en <https://mrtrix.readthedocs.io/en/latest/reference/commands/dwibiascorrect.html>.

### 3.4.4. Registro

El registro de una imagen es el proceso de transformación geométrica que pone dos imágenes en la mejor correspondencia posible tal que las características comunes se traslapen y las diferencias, si es que hay, se enfatizan y se vuelvan visibles al ojo humano [21].

Suponga que tenemos 2 imágenes de resonancia magnética del cerebro del mismo sujeto tomadas en periodos distintos, hace seis meses y ayer. Necesitamos alinear la imagen de hace seis meses (imagen origen) con la que se adquirió ayer (imagen objetivo). Un tumor fue previamente identificado y el radiólogo quisiera determinar cuanto ha crecido el tumor en 6 meses. En lugar de intentar determinar esto simplemente con la vista, el registro de las imágenes permitirá una estimación cuantitativa del crecimiento del tumor. Existen diversas preguntas que se originan ¿Asumimos que una transformación rígida será suficiente? ¿Queremos realizar un alineamiento global o local? ¿El método de registro necesitará participación activa del radiólogo para “guiar” el proceso?, o por el contrario ¿Queremos que el método sea completamente automático y libre de intervención humana?

Esta cantidad de retos inherentes al registro pueden ser abordados dividiendo el problema en cuatro componentes distintos:

- **Espacio de características.** Antes de registrar dos imágenes debemos definir exactamente *qué* es lo que se va a registrar. El algoritmo de registro depende fuertemente de las características escogidas, las cuales pueden ser: La intensidad de los píxeles, los bordes y contornos. En volúmenes 3D se puede utilizar la superficie que define el volumen, etc.
- **Espacio de búsqueda.** Las dos imágenes que se quieren alinear pueden ser vistas como muestras de dos funciones reales (desconocidas),  $f(x)$ ,  $g(x)$  definidas en  $\mathbb{R}^n$ . Alinear las imágenes significa encontrar una transformación  $T(x)$  tal que  $f(x) = g(T(x))$  para todo  $x$ . El espacio de búsqueda se refiere al tipo de transformaciones que estamos dispuestos a considerar. Por ejemplo: Transformaciones rígidas (rotaciones, traslaciones), o una transformación afín que tome

en cuenta escalado y cizallamiento.

- **Estrategia de búsqueda.** Después de definir nuestro espacio de búsqueda, seleccionamos una transformación  $T_0(x)$  y la probamos. Basado en los resultados de  $T_0(x)$  ¿Cómo escogemos la siguiente transformación  $T_1(x)$ ?, hay muchas formas: Programación lineal, métodos de relajación o algún método de minimización de energía.
- **Métrica de similitud.** Se necesita cuantificar las diferencias entre la imagen transformada con la imagen objetivo, para observar que tan bien  $f(x)$  se compara con  $g(T(x))$ . Normalmente se utilizan métricas como el error cuadrático medio, la correlación o la información mutua.

En este trabajo se utilizó el comando `antsRegistration` para realizar el registro de las imágenes de resonancia magnéticas pesadas por difusión. Se utilizaron las imágenes B0 como objetivo y se permitieron transformaciones afines con rotaciones, traslaciones, escalado y cizallamiento. Como métrica de similitud se utilizó la información mutua. Más información acerca del comando puede encontrarse en <https://github.com/ANTsX/ANTs/wiki/Anatomy-of-an-antsRegistration-call>.

### 3.4.5. Escalamiento

Se descubrió que las imágenes tenían un escalamiento en algunos shells, por lo que los datos tuvieron que ser reescalados para poder trabajar adecuadamente con ellos.

Se tomó una región de interés (ROI) en el fondo de las DW-MRI justo por encima de los nervios, ya que el ruido de fondo no debe tener ninguna estructura, se calculó el promedio del ruido de fondo con respecto a las orientaciones y se encontró que el ruido tenía un escalamiento en algunos shells. Se tomó la media de intensidad por shell y se escalaron todos los shells que se encontraban por debajo del valor más alto. El ruido de fondo antes y después del escalamiento se observa en la Figura 3-5.

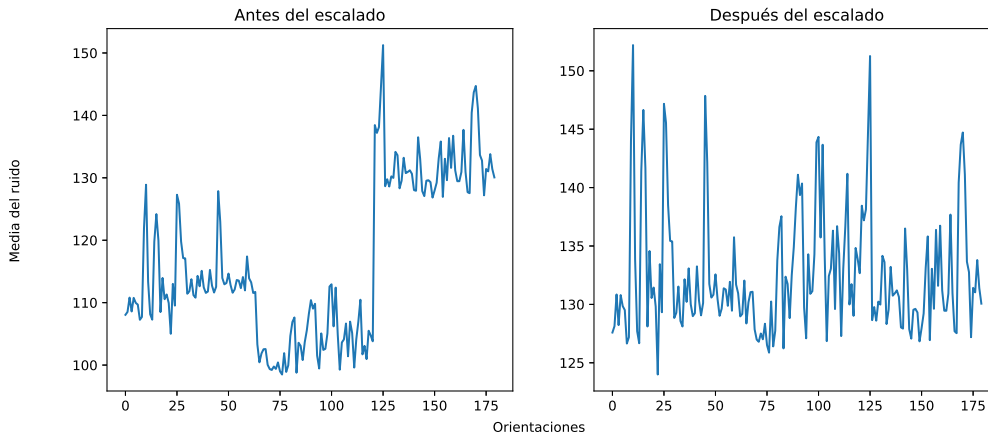


Figura 3-5: Media del ruido de fondo antes y después del escalado

### 3.4.6. Corrección del Sesgo Riciano

Para intentar disminuir la contribución del sesgo Riciano en las DW-MRI se utilizó el método de Manjón [26]. Para la estimación del valor del ruido se tomó una región de interés (ROI) en los nervios de las ratas de la sigma del ruido estimado por el comando `dwidenoise` de `MRtrix` y se calculó un promedio.

### 3.4.7. Mapa de Errores

En las DW-MRI hay artefactos inherentes al proceso de adquisición, la SMT ayuda a eliminar algunos artefactos debido a que es un promedio de las señales, pero esto no es suficiente. Para seleccionar voxeles de las SMT con la mayor calidad posible se creó una métrica basada en el conocimiento previo de que las SMT deben de presentar una caída exponencial, cómo se observa en las ecuaciones 4.16 y 4.12. La métrica consiste en calcular que tan bien se ajustan las SMT a una exponencial, conforme a la siguiente ecuación:

$$f_{exp} = \alpha e^{-b\beta} + c, \quad (3.1)$$



en donde  $b$  son los  $b$ -valores. En este trabajo solo se tomaron voxels que tuvieran un error de ajuste menor a 0.1. En donde el error de ajuste está dado por:

$$error_{ajuste} = SMT(E_{voxel}) - f_{exp}. \quad (3.2)$$

$SMT(E_{voxel})$  es la SMT de la señal de resonancia magnética en un voxel.



# Capítulo 4

## Métodos

En este Capítulo se presenta la metodología propuesta, así como los enfoques utilizados en el desarrollo de esta tesis. Se detalla la forma en que se generaron las señales sintéticas para hacer la validación de los métodos y se explican paso a paso los algoritmos utilizados. Además, debido a la naturaleza secuencial de nuestra metodología se presentan algunos resultados para hacer más entendible el proceso.

### 4.1. Señales Sintéticas

En esta Sección se explica como fueron generadas las señales sintéticas de este trabajo, así como el procesamiento al cual fueron sometidas para hacerlas lo más comparable posible a los datos reales.

#### 4.1.1. Relación Señal a Ruido (SNR)

En primer lugar se calculó la relación señal a ruido de las 8 ratas control. Para esto se tomó la misma ROI de los nervios en el ruido estimado por el comando `dwidenoise` 3.4.6. La SNR se calculó como:

$$SNR = \frac{\bar{S}_0}{Noise_{ROI}}. \quad (4.1)$$

En donde  $\bar{S}_0$  es una imagen que se obtiene al promediar las DW-MRI con un  $b$ -valor igual a cero y  $\overline{Noise_{ROI}}$  es el valor promedio de la desviación estándar del ruido estimado por MRtrix en la ROI. Los valores obtenidos para cada una de las ratas control se muestra en la Figura 4-1.

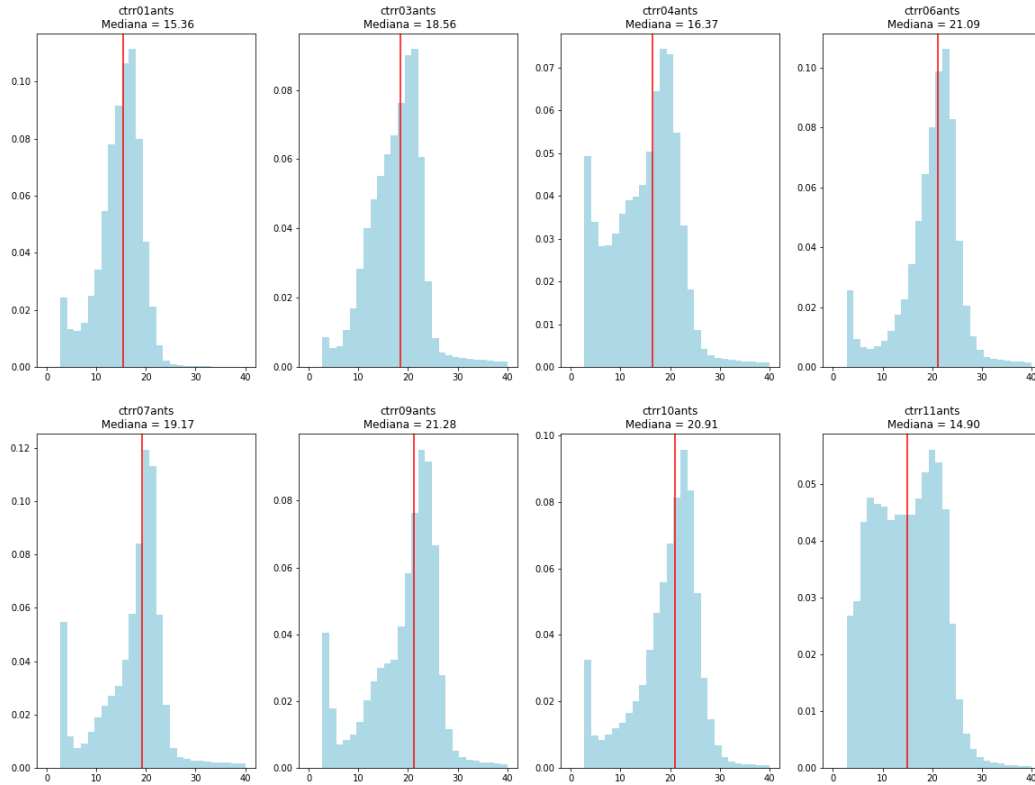


Figura 4-1: Histogramas de los valores de SNR para cada una de las ratas control, los valores de  $SNR < 3$  no se tomaron en cuenta, ya que corresponden a zonas de la imagen en donde no hay tejido. La línea roja representa la mediana de los datos y dicho valor se presenta en la parte superior de cada Figura.

Posteriormente se calculó el promedio de las medianas de cada rata. La SNR resultante es igual a:

$$\overline{SNR} = 18.45. \quad (4.2)$$

Por simplicidad se decidió que los datos sintéticos tuvieran una  $SNR = 18$ .

### 4.1.2. Fantasma Sintético

A la generación de un volumen de señales sintéticas también se le conoce como fantasma. Para este trabajo se utilizó un fantasma sintético 3D que consta de 5 tajadas y hasta 3 manojos de fibras diferentes.

Las dimensiones del volumen son:  $16 \times 16 \times 5 \times 180$  en donde 180 son el número de orientaciones del gradiente magnético en el protocolo de adquisición 3.1. Se utilizó este fantasma porque cuenta con suavidad espacial lo que nos permite aplicar el mismo pre-procesamiento que las DW-MRI de las ratas. Más detalles acerca del fantasma pueden encontrarse en [http://hardi.epfl.ch/static/events/2012\\_ISBI/download.html](http://hardi.epfl.ch/static/events/2012_ISBI/download.html).

En la Figura 4-2 se observa la suavidad espacial en una de las tajadas del fantasma, así como los cruces de hasta 3 manojos de fibras.

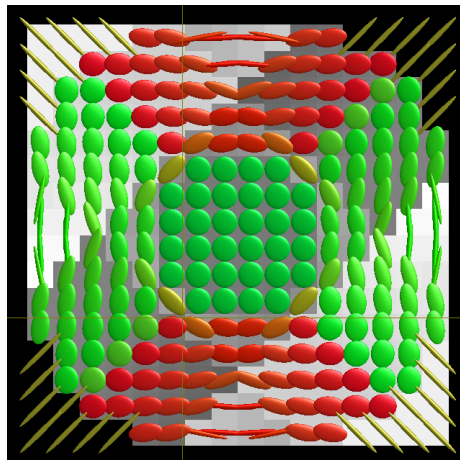


Figura 4-2: Fantasma sintético utilizado en este trabajo, al analizar los tensores de difusión ajustados se puede apreciar la suavidad espacial y los cruces de los manojos de fibras.

En esta tesis se trabajó utilizando 2 modelos de señales sintéticas, uno con 4 compartimientos que representa el tejido esperado en los nervios ópticos y otro de 5 compartimientos que agrega el compartimiento de GM al modelo anterior.

## Modelo de 4 Compartimientos

Se construyó este fantasma utilizando 4 compartimientos: un microambiente de neuritas (MAN), tejido conectivo (CON), CSF y Dot. El Dot es una esfera de radio cero en donde no hay difusión, este compartimiento se suele encontrar en datos ex-vivo con *b-valores* grandes, se ha teorizado que su aparición surge de la ubicuidad de pequeños espacios isotrópicos [28]. El MAN en este fantasma cuenta con parte intracelular y extracelular conforme a la siguiente ecuación:

$$S_{man} = icsf S_{intra_{man}} + (1 - icsf) S_{extra_{man}} \quad , \quad (4.3)$$

$$(4.4)$$

En donde *icsf* es la fracción intracelular de señal,  $S_{intra_{man}}$  y  $S_{extra_{man}}$  son las señales de resonancia de la parte intracelular y extracelular. Para la parte intracelular se utilizó un stick con una difusión paralela igual a  $\lambda_{\parallel}$ . Por lo que la diagonal del tensor de la parte intracelular está dada por:

$$D_{intra} = \begin{bmatrix} \lambda_{\parallel} \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (4.5)$$

La parte extracelular se realizó con un zeppelin utilizando el modelo de tortuosidad de la ecuación (2.45). Por lo que la diagonal del tensor de la parte extracelular está dada por:

$$D_{extra} = \begin{bmatrix} \lambda_{\parallel} \\ \lambda_{\perp} \\ \lambda_{\perp} \end{bmatrix} \quad (4.6)$$

Los cruces de los manojos del MAN se modelaron como:  $\sum_{i=0}^N f s_i S_{man}^i$  en donde  $\sum_{i=0}^N f s_i = 1$ ,  $N$  es el número de manojos y  $f s_i$  la fracción de volumen que ocupa cada manajo en el voxel.

El compartimiento de tejido conectivo se modeló como una bola lenta con coeficiente de difusión  $\lambda_{con}$  por lo que la diagonal del tensor está dada por:

$$D_{con} = \begin{bmatrix} \lambda_{con} \\ \lambda_{con} \\ \lambda_{con} \end{bmatrix} \quad (4.7)$$

El compartimiento de CSF se modeló como una bola rápida con un coeficiente de difusión  $\lambda_{csf}$  por lo que la diagonal del tensor está dada por:

$$D_{csf} = \begin{bmatrix} \lambda_{csf} \\ \lambda_{csf} \\ \lambda_{csf} \end{bmatrix} \quad (4.8)$$

y por último el compartimiento de Dot es una constante de unos porque el agua se encuentra atrapada y la señal no decae. Por lo que la diagonal del tensor se puede ver como:

$$D_{dot} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (4.9)$$

La forma analítica de la señal de un voxel está dada por:

$$E_{4voxel} = H_{man} \sum_{i=0}^N f s_i S_{man_i} + H_{con} S_{con} + H_{csf} S_{csf} + H_{dot} \quad (4.10)$$

En donde las  $H$  corresponden a los tamaños de compartimiento y  $H_{man} + H_{con} + H_{csf} + H_{dot} = 1$ . Las  $S$  corresponden a las señales de resonancia de los compartimientos. Las señales  $S_{intra_{man}}$  y  $S_{extra_{man}}$  así como  $S_{con}$  y  $S_{csf}$  están dadas por:

$$S = e^{-bg^T DRg}. \quad (4.11)$$

En donde  $b$  es el  $b$ -valor,  $g$  la orientación del gradiente magnético,  $D$  el tensor de

difusión y  $R$  es una matriz de transformación que define la orientación del tensor.  $S_{dot}$  es una señal constante de unos.

## Modelo de 5 Compartimientos

Este modelo es idéntico al anterior, la única diferencia es que se agrega un compartimiento de GM. Por lo tanto, la forma analítica de la señal de un voxel está dada por:

$$E_{5voxel} = H_{man} \sum_{i=0}^N f s_i S_{man_i} + H_{gm} S_{gm} + H_{con} S_{con} + H_{csf} S_{csf} + H_{dot}. \quad (4.12)$$

En donde  $S_{gm}$  representa la señal de GM:

$$S_{gm} = icsf_{gm} * S_{intra_{gm}} + (1 - icsf_{gm}) S_{extra_{gm}}, \quad (4.13)$$

$icsf_{gm}$  es el ICSF de la GM.  $S_{intra_{gm}}$  es la señal intracelular que se obtuvo mediante el modelo de stick y promediando 500 señales, con la misma  $\lambda_{\parallel}$  que el MAN, en 500 orientaciones distintas y  $S_{extra_{gm}}$  es la señal extracelular que se modeló como una bola lenta con coeficiente de difusión igual a  $0.2646 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/s$ .

### 4.1.3. Pre-Procesamiento de los Fantasmas Sintéticos

Para hacer los datos sintéticos lo más comparable posible a los datos reales y aprovechando la suavidad espacial del fantasma se aplicó el mismo pre-procesamiento que a las DWI, que consiste en:

- Denoise basado en PCA
- Corrección de Manjón

Para la corrección de Manjón del sesgo Riciano se utilizó el promedio de la desviación estándar del ruido estimado por `MRtrix` como factor de corrección.



## 4.2. Estimación de la Difusión Paralela

Para estimar  $\lambda_{\parallel}$  se calculó la SMT de los datos pre-procesados en una ROI en los nervios ópticos. Si suponemos el modelo de 4 compartimientos que se describe en la ecuación (4.10) la SMT teórica se calcula como:

$$SMT(E_{Avoxel}) = \sum_g \frac{1}{G} \{ H_{man} [\sum_{i=0}^M f s_i (icsf) e^{-bgD_{intra}g^T} + (1 - icsf) e^{-bgD_{extra}g^T}] + H_{con} e^{-bgD_{con}g^T} + H_{csf} e^{-bgD_{csf}g^T} + H_{dot} \} \quad (4.14)$$

Distribuyendo la suma en cada término, tenemos:

$$SMT(E_{Avoxel}) = H_{man} [icsf \sum_g \frac{1}{G} \sum_{i=0}^M f s_i e^{-bgD_{intra}g^T} + (1 - icsf) \sum_g \frac{1}{G} e^{-bgD_{extra}g^T}] + H_{con} [\sum_g \frac{1}{G} e^{-bgD_{con}g^T}] + H_{csf} [\sum_g \frac{1}{G} e^{-bgD_{csf}g^T}] + H_{dot}. \quad (4.15)$$

Reescribiendo:

$$SMT(E_{Avoxel}) = H_{man} [icsf SMT_{intra}(b, D_{intra}) + (1 - icsf) SMT_{extra}(b, D_{intra}, icsf)] + H_{con} SMT_{Con}(b, D_{con}) + H_{csf} SMT_{csf}(b, D_{csf}) + H_{dot}. \quad (4.16)$$

En este trabajo se está suponiendo que  $\lambda_{\parallel}$  y  $\lambda_{con}$  son prácticamente iguales para todos los voxeles de todas las ratas. Es por esto que después de calcular las SMT de todos los voxeles de la ROI, se promediaron para obtener una sola SMT que represente el comportamiento del tejido en los nervios ópticos y así poder estimar la difusión paralela, el cálculo teórico de este promedio para todos los voxeles  $i$  se muestra a continuación:

$$\overline{SMT}_{voxel} = \frac{1}{N} \sum_i^N \{ H_{man}^i [icsf^i SMT_{intra}(b, D_{intra}) + (1 - icsf^i) SMT_{extra}(b, D_{intra}, icsf^i)] + H_{con}^i SMT_{Con}(b, D_{con}) + H_{csf}^i SMT_{csf}(b, D_{csf}) + H_{dot}^i \}. \quad (4.17)$$

De la ecuación (4.17) se observa que  $SMT_{intra}(b, D_{intra})$ ,  $SMT_{con}$  y  $SMT_{csf}$  son constantes con respecto al promedio, por lo que podríamos sacarlos de la suma sin problema, por el contrario esto no sucede para la  $SMT_{extra}(b, D_{intra}, icsf^i)$ , ya que depende de un  $icsf$  diferente para cada  $i$  por lo que no es posible simplificar. Para hacer más fácil el proceso de estimar la  $\lambda_{||}$  a partir de la SMT promedio se propone la siguiente simplificación que experimentalmente demostró ser lo suficientemente buena:

$$\overline{SMT}_{voxel} \approx \bar{H}_{man} \left[ \overline{icsf} SMT_{intra}(b, D_{intra}) + (1 - \overline{icsf}) SMT_{extra}(b, D_{intra}, \overline{icsf}) \right] + \bar{H}_{con} SMT_{Con}(b, D_{con}) + \bar{H}_{csf} SMT_{csf}(b, D_{csf}) + \bar{H}_{dot}. \quad (4.18)$$

En donde  $\overline{icsf}$  es el promedio del ICSF, que en el caso de las DW-MRI fue obtenido mediante histología ( $\overline{icsf}_{hist}$ ). Utilizando el modelo de la ecuación (4.18) se realizó una búsqueda para encontrar los parámetros  $\bar{H}_{man}$ ,  $\lambda_{||}$ ,  $\lambda_{con}$  que mejor se aproximaran a la SMT promedio de los nervios ópticos de las 8 ratas control. El  $\overline{icsf}_{hist}$  se fijó en 0.674,  $\bar{H}_{csf}$  se obtuvo de una red neuronal entrenada con SMT's con un rango de parámetros amplio (Tabla 4.1) y se exploró alrededor de este valor ( $\pm 0.03$ ), La arquitectura de la red se detalla en 4.3.  $H_{dot}$  se fijó en 0.01, ya que Tax et al. [28] reportan que el tamaño del compartimiento de Dot es de aproximadamente 2%.

Debido a que la metodología de este trabajo es secuencial, es decir que se necesitan conocer resultados de etapas previas para continuar con el proceso, se mostrarán algunos resultados en esta Sección para que la descripción del proceso sea más fluida y entendible.

El valor del coeficiente de difusión del agua ( $\lambda_{csf}$ ) se obtuvo tomando un promedio de la MD en el shell  $b = 1000$  en los ventrículos de las 8 ratas control. Finalmente se promedió el valor de todas las ratas y se obtuvo un  $\lambda_{csf} = 1.44 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/s$ . En la Figura 4-3 se muestra los valores de MD para las ratas control en los diferentes shells, cada punto rojo representa el promedio sobre los ventrículos de una rata.

Valores
$0.3 \times 10^{-3} \leq \lambda_{\parallel} \leq 0.85 \times 10^{-3}$
$0.01 \times 10^{-6} \leq D_{con} \leq 0.1 \times 10^{-3}$
$D_{csf} = 1.44 \times 10^{-3}$
$0.3 \leq icsf \leq 0.85$
$0 \leq H_{man}, H_{con}, H_{csf} \leq 1$
$0 \leq H_{dot} \leq 0.02$

Tabla 4.1: Parámetros de los datos de entrenamiento de la red que calcula el tamaño de compartimiento del CSF, los valores de los coeficientes de difusión se encuentran en  $mm^2/s$ . Todos los parámetros fueron muestreados de distribuciones uniformes. El coeficiente de difusión del agua se obtuvo de la MD.

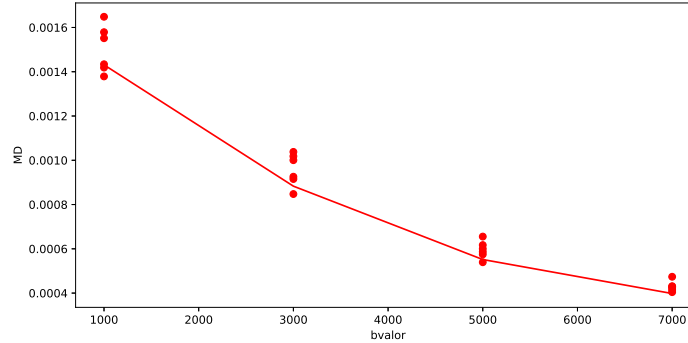


Figura 4-3: MD promedio en los ventrículos de las ratas control en los diferentes shells, cada punto rojo representa una rata. Se calculó el promedio para todas las ratas.

El algoritmo de la búsqueda para encontrar  $\lambda_{\parallel}$  y  $\lambda_{con}$  fijando el  $\overline{icsf}_{hist} = 0.674$ , el  $H_{dot} = 0.01$  y explorando alrededor de la media de  $H_{csf}$  estimada por la red, se presenta a continuación:

La  $SMT_{man}$  que se observa en el algoritmo representa la base de SMT del MAN y se obtuvo mediante [11]:

$$SMT_{man} = icsf SMT_{intra} + (1 - icsf) SMT_{extra}, \quad (4.19)$$

---

**Algoritmo 1** Algoritmo de búsqueda para estimar  $\lambda_{\parallel}$  y  $\lambda_{con}$ 


---

```

1:  $icsf = 0.674$ ,  $H_{csf} = mean(red_{csf}(DWMRI)) \pm 0.03$ ,  $H_{dot} = 0.1$ 
2:  $base_{csf} = e^{-b1.44 \times 10^{-3}}$ 
3: for  $h_{man}$  in  $H_{man}$  do
4:   for  $h_{csf}$  in  $H_{csf}$  do
5:     for  $\lambda_{\parallel}$  in  $\Lambda_{\parallel}$  do
6:       for  $\lambda_{con}$  in  $\Lambda_{con}$  do
7:          $h_{con} = 1 - h_{man} - h_{csf} - h_{dot}$ 
8:          $error = SMT_{prom} - [h_{man}SMT(icsf, \lambda_{\parallel}) + h_{con}e^{-b\lambda_{con}} +$ 
9:            $h_{csf}base_{csf} + h_{dot}]$   $\triangleright$  Quedarse con parámetros que den el mínimo
10:        end for
11:      end for
12:    end for
13:  end for
14: return  $\lambda_{\parallel}$ ,  $\lambda_{con}$ 

```

---

en donde:

$$SMT_{intra} = \sqrt{\pi} erf\left(\sqrt{b\lambda_{\parallel}}\right), \quad (4.20)$$

y

$$SMT_{extra} = e^{-b\lambda_{\perp}} \frac{\sqrt{\pi} erf\left(\sqrt{b[\lambda_{\parallel} - \lambda_{\perp}]}\right)}{2\sqrt{b[\lambda_{\parallel} - \lambda_{\perp}]}} , \quad (4.21)$$

$$\lambda_{\perp} = (1 - icsf)\lambda_{\parallel} . \quad (4.22)$$

Buscar  $\lambda_{\parallel}$  utilizando el promedio de las SMT en lugar de ir voxel a voxel proporciona algunas ventajas. En primer lugar, es más rápido y permite una búsqueda con una mayor resolución en los parámetros. Ayuda a eliminar artefactos en la señal, el promedio de las SMT con ruido es muy similar al promedio de las mismas SMT sin ruido (GT), esto se puede apreciar en la Figura 4-4 además la aproximación de la ecuación (4.18) permite que la búsqueda de parámetros sea muy sencilla y los resultados obtenidos son suficientemente buenos como se observa en la Tabla 4.2.

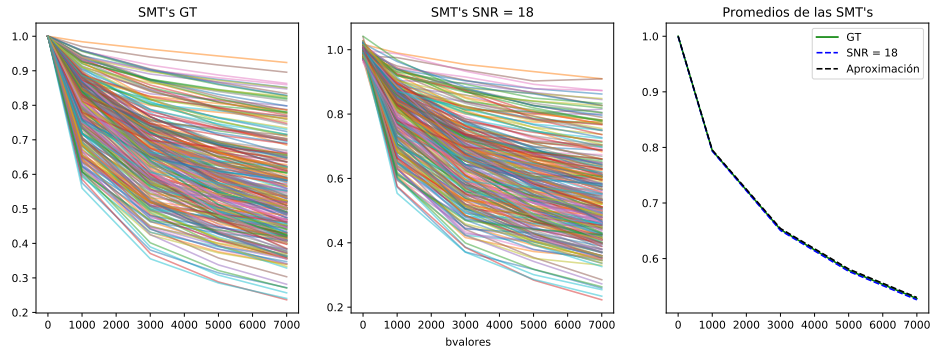


Figura 4-4: SMT de la señal de un fantasma sintético de 4 compartimentos, a la izquierda se observan las SMT GT, en medio las mismas señales con  $SNR = 18$  después del denoise y de la corrección del sesgo Riciano [26] en donde cada línea es un voxel diferente. A la derecha se muestra el promedio de las SMT, en verde el promedio de las SMT GT, en azul el promedio de las SMT con  $SNR = 18$  y en negro la SMT que resulta de la aproximación propuesta en la ecuación (4.18).

$\lambda_{\parallel}^{GT}$	$\hat{\lambda}_{\parallel}$	% Error	$\lambda_{con}^{GT}$	$\hat{\lambda}_{con}$	% Error
0.000350	0.000325	7.142857	$1 \times 10^{-5}$	0.0	100.0
0.000350	0.000375	7.142857	$3 \times 10^{-6}$	$5 \times 10^{-6}$	66.66666
0.000350	0.000300	14.28571	$2.5 \times 10^{-5}$	$5 \times 10^{-6}$	80.0
0.000350	0.000400	14.28571	$3.5 \times 10^{-5}$	$4 \times 10^{-5}$	14.28571
0.000350	0.000350	0.0	$5 \times 10^{-5}$	$5 \times 10^{-5}$	0.0
0.000350	0.000375	7.14285	$6.5 \times 10^{-5}$	$6.5 \times 10^{-5}$	0.0
0.000550	0.000550	0.0	$1 \times 10^{-5}$	$7.5 \times 10^{-6}$	25.0
0.000550	0.000550	0.0	$3 \times 10^{-6}$	$2.5 \times 10^{-6}$	16.66666
0.000550	0.000550	0.0	$2.5 \times 10^{-5}$	$2.25 \times 10^{-5}$	10.0
0.000550	0.000475	13.63636	$3.5 \times 10^{-5}$	$1.5 \times 10^{-5}$	57.14285
0.000550	0.000475	13.63636	$5 \times 10^{-5}$	$4 \times 10^{-5}$	20.0
0.000550	0.000425	22.72727	$6.5 \times 10^{-5}$	$4.5 \times 10^{-5}$	30.76923
0.000650	0.000625	3.846153	$1 \times 10^{-5}$	$5 \times 10^{-6}$	50.0
0.000650	0.000650	0.0	$3 \times 10^{-6}$	$2.5 \times 10^{-6}$	16.66666
0.000650	0.000650	0.0	$2.5 \times 10^{-5}$	$2.25 \times 10^{-5}$	10.0
0.000650	0.000775	19.23076	$3.5 \times 10^{-5}$	$4.25 \times 10^{-5}$	21.42857
0.000650	0.000575	11.53846	$5 \times 10^{-5}$	$4 \times 10^{-5}$	20.0
0.000650	0.000525	19.23076	$6.5 \times 10^{-5}$	$5 \times 10^{-5}$	23.07692
0.000750	0.000750	0.0	$1 \times 10^{-5}$	$7.5 \times 10^{-6}$	25.0
0.000750	0.000750	0.0	$3 \times 10^{-6}$	$2.5 \times 10^{-6}$	16.66666
0.000750	0.000700	6.666666	$2.5 \times 10^{-5}$	$1.75 \times 10^{-5}$	29.99999
0.000750	0.000650	13.33333	$3.5 \times 10^{-5}$	$2.5 \times 10^{-5}$	28.57142
0.000750	0.000700	6.666666	$5 \times 10^{-5}$	$4.25 \times 10^{-5}$	14.99999
0.000750	0.000675	9.999999	$6.5 \times 10^{-5}$	$5.75 \times 10^{-5}$	11.53846

Tabla 4.2: Estimación de  $\lambda_{\parallel}$  y  $\lambda_{con}$  a la SMT promedio de diferentes volúmenes sintéticos con  $SNR = 18$ . Los errores se calcularon como  $\frac{|GT-estimado|}{GT} \times 100$ . Los coeficientes de difusión se encuentran en  $mm^2/s$

Los errores correspondientes a la estimación de  $\lambda_{con}$  parecen muy grandes, pero a nivel de SMT no hay mucha diferencia entre las bases GT y las estimadas. Ya con  $\lambda_{||}$  y  $\lambda_{con}$  estimadas en las 8 ratas control, se promediaron los valores ya que no hay ninguna razón para creer que  $\lambda_{||}$  y  $\lambda_{con}$  son diferentes en ratas sanas. Se utilizaron estos valores para entrenar una red neuronal que calculara los tamaños de compartimientos de MAN, CON y CSF.

### 4.3. Estimación de los Compartimientos de MAN, CON y CSF

Con  $\lambda_{||}$  y  $\lambda_{con}$  estimados con los promedios de las 8 ratas control, se construyó una ANN para estimar los tamaños de compartimiento tanto en las ratas control como en las ratas con isquemia a partir de la SMT. En esta Sección se describe la arquitectura utilizada así como detalles de los datos de entrenamiento, así mismo se detalla la red con rango de parámetros amplio utilizada para calcular el tamaño de compartimiento de CSF que se utilizó en la búsqueda de  $\lambda_{||}$  y  $\lambda_{con}$ .

#### 4.3.1. Arquitectura

Ambas redes tienen la misma arquitectura, el diseño está basado en la arquitectura propuesta por Rafael Patino J. et al [13], quienes utilizaron una ANN sobre las DW-MRI y sobre algunos vectores de características para estimar diámetros axonales e ICSF. En este trabajo se utiliza la SMT de las DRI para estimar los tamaños de compartimiento de MAN, CON y CSF.

La red tiene 3 capas ocultas totalmente conectadas con 129, 32 y 16 neuronas cada una. Se utilizó una función Relu como activación para todas las capas, con un dropout después de la primera y segunda capa con probabilidad 0.01. La tercera capa se regularizó usando regularización L2 y regularización para el sesgo con un coeficiente de 0.01. Como función de costo se utilizó el error cuadrático medio (MSE) y por último ADAM como optimizador [3]. Para el entrenamiento se emplearon 100

épocas con un tamaño de lote de 32. La arquitectura de la ANN se resume en la Figura 4-5.

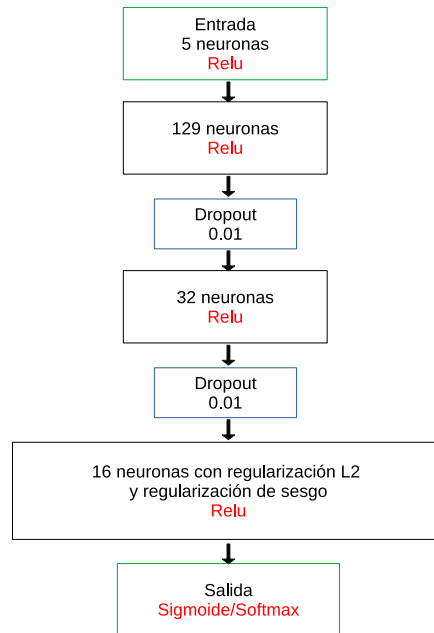


Figura 4-5: Arquitectura de la ANN, en rojo se observan las funciones de activación empleadas en cada capa. Tanto el número de neuronas de salida como su función de activación depende del número de compartimientos a estimar. Cuando se estimó un solo compartimiento se utilizó la función sigmoide y cuando se estimaron los tres compartimientos se utilizó la función softmax para que la suma de los compartimientos fuera igual a uno.

Para entrenar las redes se generaron 130 fantasmas sintéticos, utilizando el modelo de cuatro compartimientos ya que trabajamos sobre los nervios ópticos, como se describe en 4.1, cada uno de tamaño  $16 \times 16 \times 5 \times 180$ . Posteriormente se calculó la SMT de los fantasmas sintéticos, resultando en volúmenes de tamaño  $16 \times 16 \times 5 \times 5$ , por lo que cada red contó con 166,400 datos de entrenamiento, el test se realizó con la SMT de un fantasma no visto por la red.

Las descripciones de los parámetros utilizados para generar los datos, las gráficas de la pérdida y el test, tanto en el caso de la red con rango de parámetros amplio que estima el tamaño de compartimiento de CSF así como la red que estima los 3



compartimientos con una  $\lambda_{\parallel}$  y  $\lambda_{con}$  fijas se muestran en las secciones siguientes.

### 4.3.2. Red con Rango de Parámetros Amplio que Estima el Tamaño de Compartimiento de CSF

Los parámetros con los que se generaron los datos de entrenamiento y test para esta red se muestran en la Tabla 4.1. Todos los datos se muestrearon de distribuciones uniformes. Para el caso de los tamaños de compartimiento  $H$  al ser un simplex se muestrearon de una distribución Dirichlet. Esta red tiene una sola neurona de salida y activación sigmoide. En la Figura 4-6 se presentan las pérdidas tanto en entrenamiento como en validación a lo largo de las 100 épocas.

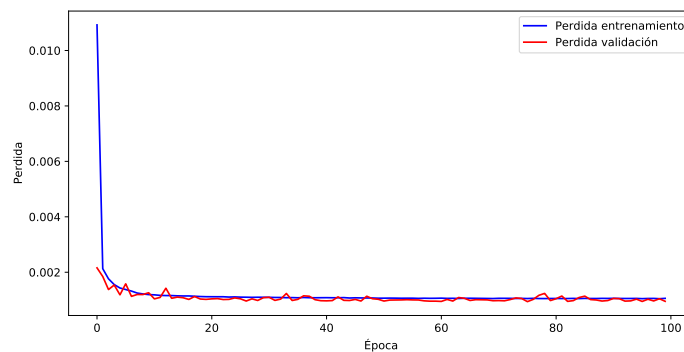


Figura 4-6: Pérdida de la red que estima el tamaño de compartimiento del CSF, se utilizó el 20 % de los datos de entrenamiento para la validación. Se observa que la red converge rápidamente.

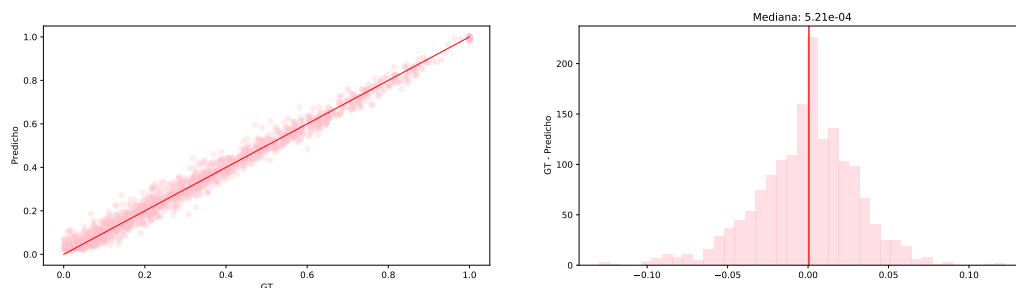


Figura 4-7: A la izquierda se presenta el valor GT vs valor predicho, el resultado se encuentra montado sobre la línea roja a  $45^\circ$ . Del lado derecho se muestran los errores,  $error = GT - predicho$ .

En la Figura 4-7 se muestra el resultado del test de la ANN, se observa que el valor GT vs el predicho están sobre la línea roja de  $45^\circ$  y los errores en general se encuentran por debajo de 0.05. Se observa que el histograma de errores está centrado lo que indica que en promedio la predicción es buena, por lo que es buena idea utilizar este promedio para estimar la  $\lambda_{||}$  y  $\lambda_{con}$  de la Sección 4.2.

### 4.3.3. Red con $\lambda_{||}$ y $\lambda_{con}$ Fijos que Estima los Tamaños de Compartimientos de MAN, CON y CSF

Después de estimar  $\lambda_{||}$  y  $\lambda_{con}$  como se especifica en la Sección 4.2, se calculó el promedio de las ratas control y el resultado se utilizó para entrenar una red que estime los tamaños de compartimiento de MAN, CON y CSF. Esta ANN tiene 3 neuronas de salida y softmax como función de activación. En la Tabla 4.3 se muestran los parámetros utilizados para generar los datos de entrenamiento. Todos los datos se muestrearon de la misma forma que en la ANN anterior. En la Figura 4-8 se presentan las pérdidas tanto en entrenamiento como en validación a lo largo de las 100 épocas.

Valores
$\lambda_{\parallel} = 0.6557 \times 10^{-3}$
$D_{con} = 4.99 \times 10^{-6}$
$D_{csf} = 1.44 \times 10^{-3}$
$0.3 \leq icsf \leq 0.85$
$0 \leq H_{man}, H_{con}, H_{csf} \leq 1$
$0 \leq H_{dot} \leq 0.02$

Tabla 4.3: Parámetros de los datos de entrenamiento de la red que calcula el tamaño de compartimiento de MAN, CON y CSF. Todos los parámetros fueron muestreados de distribuciones uniformes. El coeficiente de difusión del agua se obtuvo de la MD.

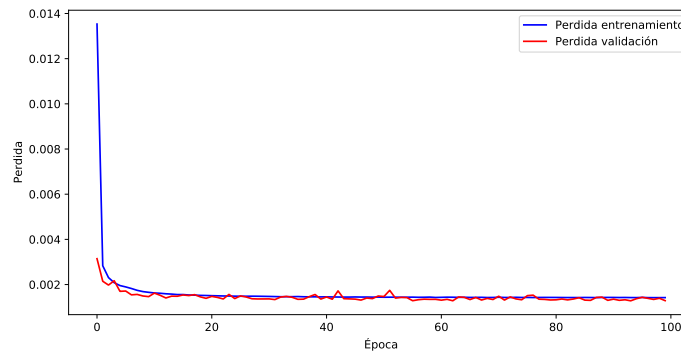


Figura 4-8: Pérdida de la red que estima el tamaño de compartimiento de MAN, CON y CSF, se utilizó el 20% de los datos de entrenamiento para la validación. Se observa que la red converge rápidamente.

En la Figura 4-9 se muestra el resultado del test de la ANN, se observa que el valor GT vs el predicho están sobre la línea roja de 45° y los errores en general se encuentran por debajo de 0.05.

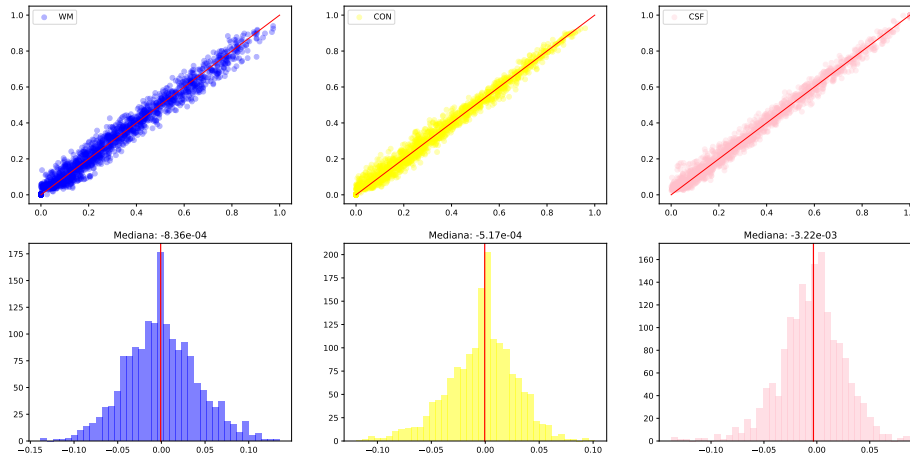


Figura 4-9: En la parte superior se presenta el valor GT vs valor predicho, el resultado se encuentra montado sobre la línea roja a  $45^\circ$ . En la parte inferior se muestran los errores en la predicción,  $error = GT - predicho$ . MAN (azul), CON (amarillo), CSF(rosa).

Ambas redes estiman tamaños de compartimiento voxel a voxel, lo que permite crear mapas de la cantidad de tejido que hay en cada voxel. Estos mapas se utilizaron para eliminar la contribución de compartimientos ajenos al MAN y de esta forma poder estimar con mayor precisión parámetros de la microestructura de la materia blanca como el *icsf*.

#### 4.4. Estimación del ICSF voxel a voxel

En primer lugar se intentó calcular el ICSF voxel a voxel a partir de la SMT utilizando una ANN, pero los resultados bajo este esquema de aprendizaje supervisado no fueron buenos, probablemente porque al utilizar la SMT se trabaja con mucha menos información que en el espacio original de los datos, lo que propicia que el problema esté degenerado. Así que el ICSF voxel a voxel fue estimado mediante el método basado en diccionarios, una modificación sobre  $ED^3$  desarrollado en CIMAT [18], con 500 orientaciones equidistribuidas en la media esfera. Se utilizaron los tamaños de

compartimiento estimados en la Sección anterior para quitar su contribución de la señal de resonancia magnética:

$$S_f = E - (H_{con}S_{con} + H_{csf}S_{csf}). \quad (4.23)$$

En donde  $E$  es la DW-MRI y  $S_f$  la señal a la que se le ajustó el diccionario.

La suma de los coeficientes  $\alpha$  del diccionario debe ser cercana a 1. Dado que el diccionario está separado en la parte intracelular y extracelular, la suma de los coeficientes correspondientes a la parte intracelular dan como resultado el ICSF.

$$icsf = \sum_{i=1}^N \alpha_{intra}^i \quad (4.24)$$

## 4.5. Estimación de la Dispersión

Otra propiedad importante de la microestructura de los axones es su dispersión [5]. Este parámetro no puede ser calculado mediante la SMT, ya que como se mencionó en la Sección 2.7 esta técnica se utiliza para quitar los efectos de la dispersión de los manojos de axones.

Los cambios sutiles observados en los resultados del ICSF entre ratas sanas y con isquemia indican que explorar la dispersión es buena idea. Los métodos basados en diccionarios permiten obtener una medida de dispersión utilizando las orientaciones estimadas.

### 4.5.1. Dispersión Individual por Manajo

Como se explica en la Sección 4.4, la solución del método ED<sup>3</sup> estima la microestructura intracelular en el conjunto de coeficientes  $\alpha_{intra}^i$ , con  $i = 1, \dots, N$ , donde cada átomo  $i$  corresponde a una señal **stick** paralela a la orientación  $\mathbf{v}_i$ . Entonces, del conjunto anterior, es posible clusterizar los conjuntos de orientaciones activas en el voxel, es decir solo las orientaciones tal que  $\alpha_{intra}^i \neq 0$ . El clusterizado anterior separa las orientaciones por manojos de axones, y se lleva a cabo usando el método de Mean-

Shit [15]. Como resultado de lo anterior, se obtienen  $K$  clusters  $\{\mathbf{C}_1, \dots, \mathbf{C}_K\}$ , que contienen subconjuntos  $\{\alpha_{intra}^j, \mathbf{v}^j\}$  con  $j \in \mathbf{C}_k$ . Para cada cluster se puede calcular el centroide como la suma de orientaciones pesadas  $\mathbf{o}_k = \sum_j \alpha_{intra}^j \mathbf{v}^j$ .

A partir de  $\mathbf{o}_k$  se puede calcular la dispersión para ese manajo  $k$  como la diferencia angular promedio entre las orientaciones  $\mathbf{v}^j$  y el centroide (DCEN). También se puede comparar la distribución discreta, ya sea por manajo o para todos los  $N$   $\alpha_{intra}$  (TUN) con respecto a una distribución uniforme discreta  $P(i) = 1/N$  [11].

También se puede medir la multimodalidad (MUMOD) normalizando los  $\alpha_{intra}$  activos, de esta manera cada manajo tendrá un peso  $\beta_j$  entre 0 y 1. El índice MUMOD se calcula como  $1 - \beta_j^{max}$  en donde  $\beta_j^{max}$  es el peso más grande de los  $K$  clusters.

#### 4.5.2. FOD

Como otra medida de dispersión se calculó la integral de la FOD dividida entre el pico de amplitud (IFOD), el valor será pequeño para FOD agudas (poca dispersión) y grande para FOD anchas (mucho dispersión).

Para estimar este valor se utilizó `MRtrix`, en primer lugar se calculó la función de respuesta en los nervios de una rata control utilizando el comando `dwi2response`. Posteriormente se realizó la deconvolución esférica en todas las ratas utilizando el comando `dwi2fod` para obtener la FOD. Se integró la FOD y se dividió entre el pico de amplitud mediante el comando `fod2fixel -disp`.

### 4.6. Estimación de las firmas SMT de los tejidos con aprendizaje no supervisado

En este trabajo se utilizó la NMF sobre las SMT de las DW-MRI para calcular los tamaños de compartimiento de MAN, GM y CSF. La NMF se realizó mediante el comando `Snmf` del toolbox `Nimfa` en `Python`. Este comando cuenta con dos parámetros que controlan la rareza de las soluciones  $\eta$  y  $\beta$ , mediante múltiples pruebas con datos sintéticos se determinó que los valores apropiados para este trabajo son  $\eta = 17$ ,

$\beta = 0$ .

En las SMT de las DW-MRI se realizó la NMF tomando ROI's en los tres principales tipos de tejido. Para la WM se seleccionaron voxels de los nervios ópticos en donde la FA fuera mayor a 0.65 en los nervios sin isquemia y mayor a 0.45 en los nervios con isquemia, para la GM se seleccionaron voxels del centro del cerebro en donde la FA fuera baja y para el CSF se tomaron voxels de los ventrículos en donde la MD fuera alta. En todos los casos se seleccionaron únicamente aquellos voxels que cumplieran la métrica de calidad expuesta en la Sección 3.4.7. Además, los datos de las 3 clases fueron balanceados para tener aproximadamente el mismo número de voxels que los nervios ópticos, en caso de tener menor número los datos se quedan igual, en caso de tener más se balancean.

Para tener una idea de la interpretación de las bases obtenidas por la NMF se realizaron experimentos de validación con datos sintéticos utilizando el modelo de 5 compartimientos. Se generaron dos tipos de fantasmas sintéticos uno con voxels puros del compartimiento de MAN y otro sin voxels puros. Un voxel puro es aquel en el que los pesos  $H$  para un compartimiento son 1 y para el resto 0.

- 5 compartimientos sin voxels puros de CON: Los parámetros utilizados para generar este volumen sintético con 5 compartimientos se muestran en la Tabla 4.4, se observa que no hay voxels puros del compartimiento CON.
- 5 compartimientos con voxels puros de CON: El fantasma utilizado en este experimento es el mismo que el de la Tabla 4.4. La diferencia es que el rango de pesos del compartimiento de CON va de  $[0,1]$  lo que incluye voxels puros.

Parámetros	Valores
$\lambda_{\parallel}$	0.65e-3
$\lambda_{con}$	0.5e-6
$\lambda_{csf}$	1.44e-3
$H_{man}$	[0,1]
$H_{gm}$	[0,1]
$H_{con}$	[0,0.25]
$H_{csf}$	[0, 0.25], 1
$H_{dot}$	[0 , 0.02]
$icsf$	[0.35 , 0.85]
$icsf_{gm}$	[0.2 , 0.5]

Tabla 4.4: Parámetros utilizados para generar el fantasma sintético. Los pesos del compartimiento de CSF están en el rango de 0 a 0.25 pero hay 50 voxeles puros en el fantasma.

La asignación de las bases estimadas  $\hat{W}$  a las bases de los diferentes tejidos  $W$  se hizo mediante una búsqueda, nos quedamos con la configuración que minimice el error global. En el caso de los datos de DW-MRI, se tomaron algunos voxeles de la SMT sobre las ROI de los diferentes tipos de tejido, se promediaron y de esta manera se obtuvo una matriz de 3 bases que servirá para realizar la asignación.



# Capítulo 5

## Discusión y Resultados

En este Capítulo se presentan y discuten los resultados de los experimentos más relevantes en este trabajo. En primer lugar se muestran los resultados de la NMF, posteriormente los tamaños de compartimientos estimados por la ANN y el ICSF obtenido mediante diccionarios. Por último se presentan los índices que caracterizan la dispersión en los microambientes axonales.

### 5.1. Tamaños de Compartimiento con NMF

En la Sección 5.1.1 se presentan los resultados de los experimentos de validación en los datos sintéticos, se muestran primero para tener una idea intuitiva de que es lo que ocurre en las DW-MRI al realizar la NMF.

#### 5.1.1. Datos Sintéticos

##### **Estimar 4 bases sin voxeles puros de CON**

Los resultados de aplicar la NMF con  $k = 4$  sobre la SMT del fantasma sintético sin voxeles puros de CON se observan en la Figura 5-1.

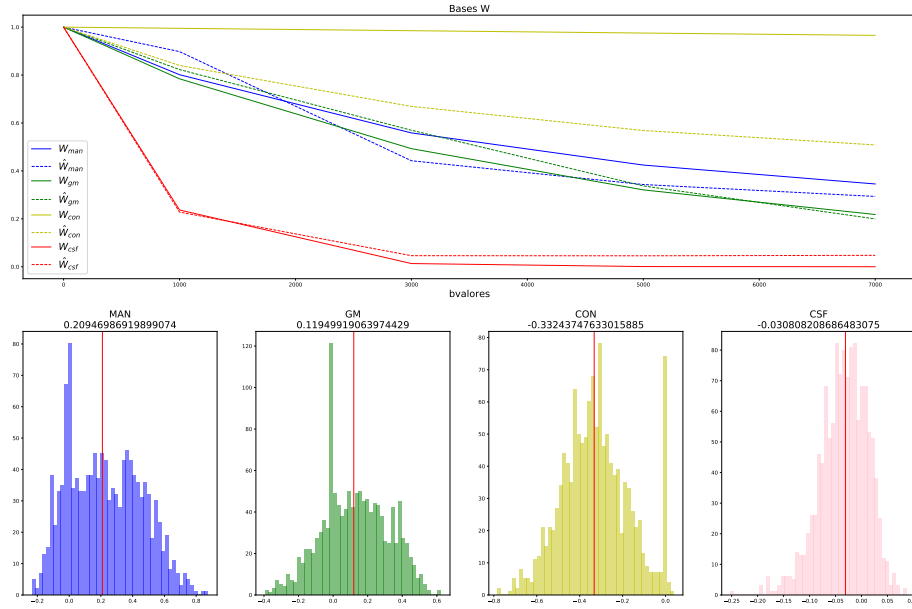


Figura 5-1: En la parte superior, bases GT ( $W$ , línea continua) y bases estimadas ( $\hat{W}$ , línea punteada) de los compartimentos de MAN (azul), GM (verde), CON (amarillo), CSF (rojo). En la parte inferior, los errores en los pesos  $H - \hat{H}$ .

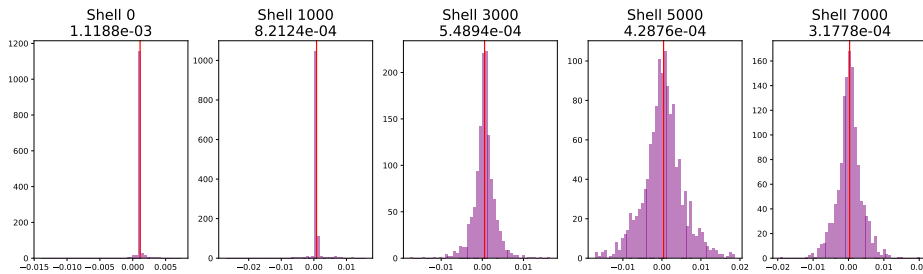


Figura 5-2: Errores de reconstrucción  $SMT_{GT} - \hat{W}\hat{H}$  por shell.

La idea de aplicar la NMF con  $k = 4$  es recuperar las bases de MAN, GM, CON y CSF, ya que los valores de Dot son muy pequeños para ser estimados. Se observa que las bases estimadas no corresponden a las bases GT, esto es porque la NMF necesita de voxels puros para aprender correctamente, los errores grandes en los pesos surgen como consecuencia de tener unas bases mal estimadas.

En los errores de reconstrucción de la Figura 5-2, se puede ver el mal planteamiento del problema, ya que a pesar de tener errores grandes en las bases y pesos los errores de reconstrucción son pequeños.

### Estimar 4 Bases con Voxeles Puros de CON

Los resultados de realizar la NMF con  $k = 4$  sobre el fantasma sintético con voxeles puros de CON se presentan en la Figura 5-3. Se observa que las bases estimadas, al contar con voxeles puros, mejoran significativamente. Lamentablemente en los datos de DW-MRI no hay voxeles puros del compartimiento de CON, por lo que estimar 4 bases de forma correcta no parece ser factible. En caso de tener alguna información a priori del coeficiente de difusión del compartimiento de CON se podría intentar agregar voxeles puros sintéticos de este compartimiento a las DW-MRI y realizar la NMF.

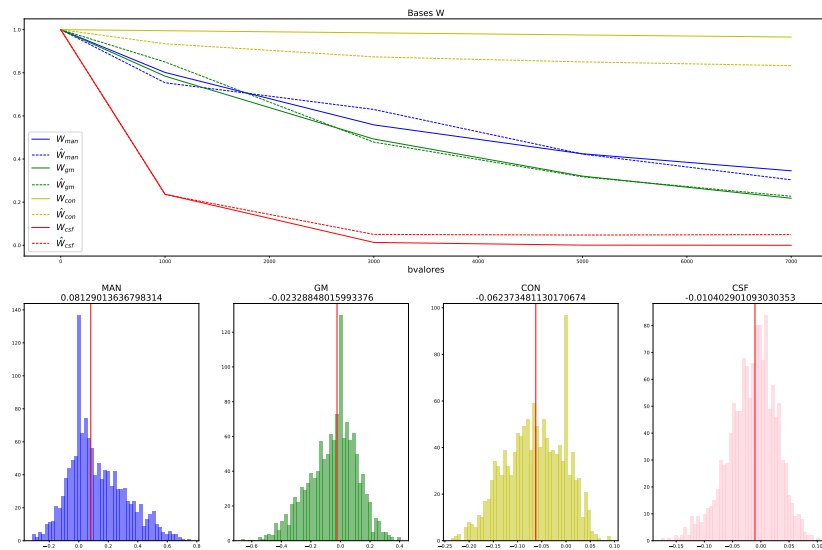


Figura 5-3: En la parte superior, bases GT ( $W$ , línea continua) y bases estimadas ( $\hat{W}$ , línea punteada) de los compartimientos de MAN (azul), GM (verde), CON (amarillo), CSF (rojo). En la parte inferior, los errores en los pesos  $H - \hat{H}$ .

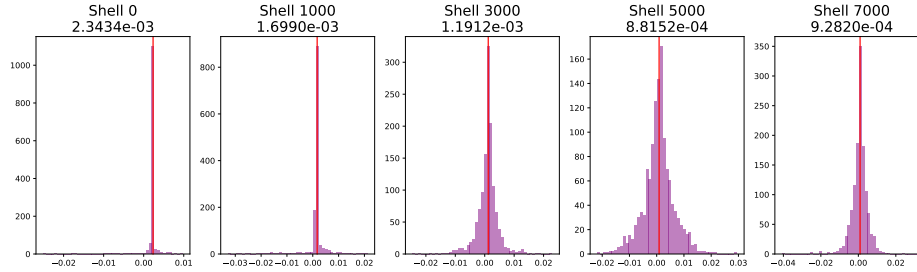


Figura 5-4: Errores de reconstrucción  $SMT_{GT} - \hat{W}\hat{H}$  por shell.

De igual forma, se observa que los errores de reconstrucción en la Figura 5-4 son pequeños para todos los shells de todos los voxeles de la SMT.

### Estimar 3 Bases sin Voxeles Puros de CON

Debido a que en los datos de DW-MRI no hay voxeles puros del compartimiento de CON, se estimarán únicamente 3 bases. Los resultados de realizar la NMF con  $k = 3$  sobre el fantasma sintético sin voxeles puros de CON se muestra en la Figura 5-5.

Se observa que la base asignada al compartimiento de MAN en realidad es una base intermedia entre CON y MAN, la base estimada de GM es una base intermedia entre MAN y GM. Los errores de los pesos, al no estimar el compartimiento de MAN, son grandes y al igual que las bases, son combinaciones entre compartimientos.

Al ajustar el modelo de la ecuación 4.19 a la base de  $\hat{W}_{man}$  se obtienen los parámetros de la Tabla 5.1.

Parámetros	Valores
$\lambda_{\parallel}$	0.51e-3
$icsf$	0.985

Tabla 5.1: Parámetros de  $\hat{W}_{man}$

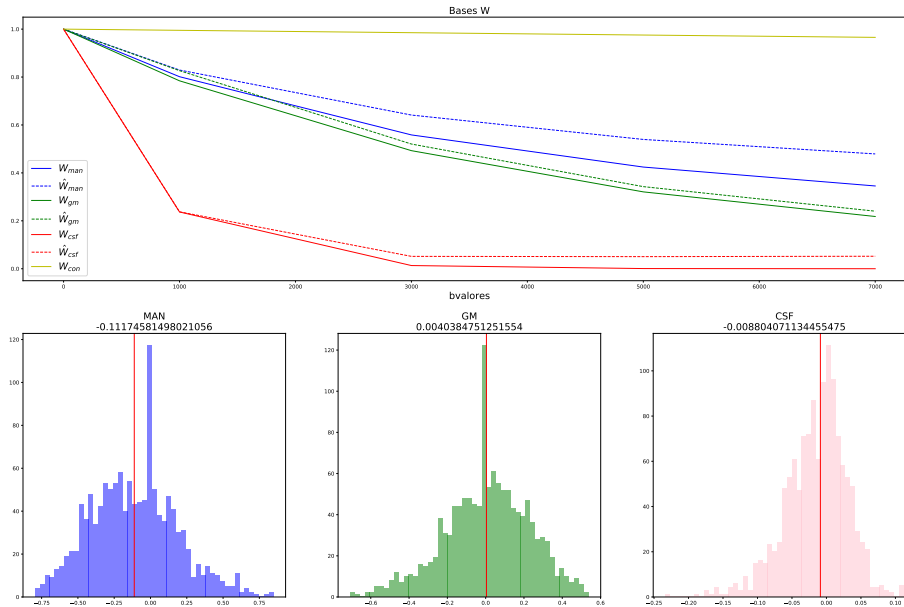


Figura 5-5: En la parte superior, bases GT ( $W$ , línea continua) y bases estimadas ( $\hat{W}$ , línea punteada) de los compartimentos de MAN (azul), GM(verde), CSF (rojo). En la parte inferior, los errores en los pesos  $H - \hat{H}$ .

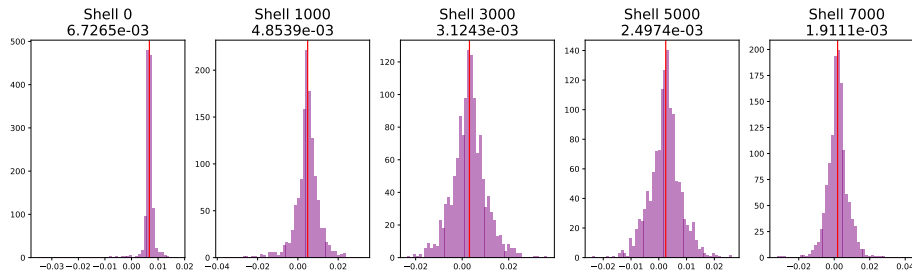


Figura 5-6: Errores de reconstrucción  $SMT_{GT} - \hat{W}\hat{H}$  por shell.

De la Figura 5-5 se puede apreciar un offset de la base estimada de MAN con respecto a la base GT. Este offset, como se mencionó anteriormente, es porque la base de MAN en realidad es una base intermedia debido a la falta de voxels puros de CON. Al intentar estimar el ICSF de la base de MAN se observa que el valor es

cercano a 1, lo que no tiene sentido fisiológicamente. Por lo tanto, no es posible estimar el icsh a partir de las bases de SMT, de igual forma se aprecia una subestimación del valor de  $\lambda_{||}$ , ver Tabla 4.4.

### 5.1.2. NMF en DW-MRI

Al no contar con voxels puros del compartimento de CON en los datos de DW-MRI de las ratas, se realizó la NMF con  $k = 3$  sobre las SMT. De la Sección anterior sabemos que las bases estimadas por la NMF serán bases intermedias entre las bases verdaderas que componen los tejidos, así que para evitar confusiones de hablar de GM en los nervios ópticos se renombrará esta base como CELL, la cuál será una base asociada con la celularidad.

En la Figura 5-7 se presentan los boxplots de los tamaños de compartimento estimados por la NMF sobre la ROI de los nervios ópticos en las ratas. Cada punto del boxplot es el promedio sobre la ROI, en verde se muestran las ratas control, en azul el nervio intacto y en rojo el nervio dañado de las ratas con isquemia.

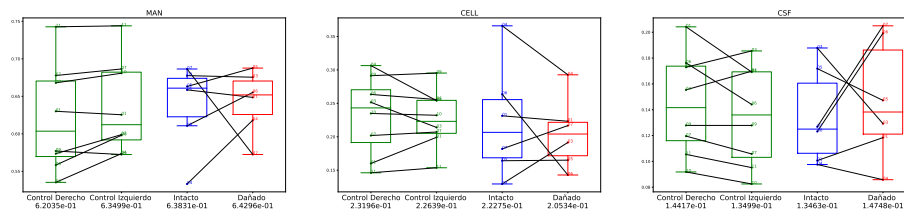


Figura 5-7: Boxplots de los pesos estimados por la NMF sobre la ROI de los nervios ópticos. Control (verde), nervio intacto de la rata con isquemia (azul), nervio dañado de la rata con isquemia (rojo). En el eje x de la figura se indican los promedios de todas las ratas.

La media de los pesos para el compartimento de MAN del nervio dañado con isquemia es ligeramente mayor, la interpretación es complicada, ya que como se vio anteriormente la base correspondiente a MAN en realidad es una base intermedia que explica tanto CON como MAN. Por otra parte, los pesos asignados al compartimento de CELL, son menores en el nervio dañado con isquemia. La base de CELL en realidad

es una base intermedia entre GM y MAN. Además, la base del compartimiento de MAN está formada por una parte intracelular y extracelular y la base de CELL estimada se parece a la base extracelular.

Tenemos la teoría de que el CSF que se detecta en los nervios ópticos proviene del proceso de preparación de las imágenes ex-vivo de DW-MR, ya que los vasos sanguíneos dentro de los nervios se vacían y se llenan de líquido, por lo que a nuestros tiempos de difusión podrían actuar como agua libre.

Las diferencias entre los tamaños de compartimiento no son tan notorias, ya que a nivel de SMT no hay mucha discrepancia entre los nervios dañados, intactos y control. En la Figura 5-8 se presentan las medias de las SMT sobre los nervios de las ratas.

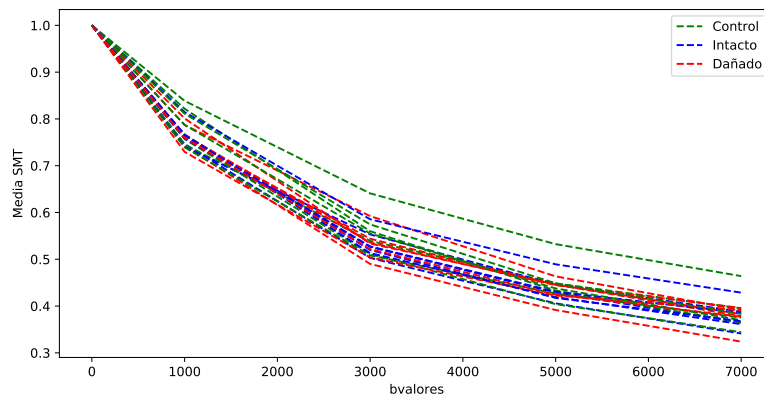


Figura 5-8: Media de las SMT sobre la ROI de los nervios ópticos. Control (verde), nervio intacto de la rata con isquemia (azul), nervio dañado de la rata con isquemia (rojo).

Al realizar una NMF para cada nervio es posible estimar el ICSF y la difusión paralela a partir de la base de MAN. La Figura 5-9 presenta el ICSF y la difusión paralela estimadas en las ratas control (verde), en el nervio intacto (azul) y en el nervio dañado (rojo).

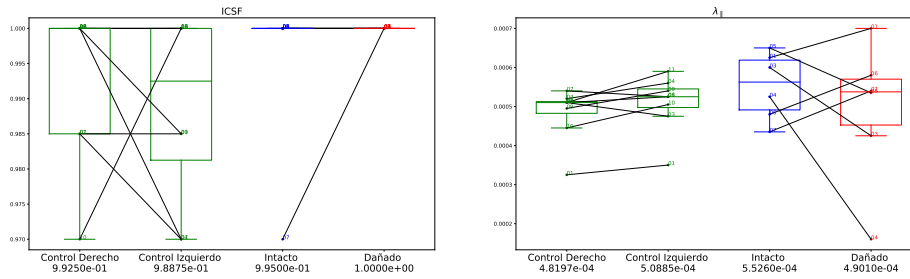


Figura 5-9: Boxplots del ICSF y  $\lambda_{||}$  estimados por la NMF sobre la ROI de los nervios ópticos, Control (verde), Nervio intacto de la rata con isquemia (azúl), Nervio dañado de la rata con isquemia (rojo). En el eje x de la figura se indican los promedios de todas las ratas

El ICSF se encuentra saturado en valores cercanos a 1, lo que es consistente con lo presentado en los resultados de la NMF sobre los datos sintéticos estimando 3 bases. El ICSF no podrá ser estimado a partir de la base de MAN. En cuanto a la  $\lambda_{||}$  se sabe que los valores están subestimados, aun así parece no haber diferencia clara entre las ratas sanas y con isquemia. Por lo que se decidió estimar la difusión paralela sobre los nervios de las ratas control, ya que se cuenta con datos de histología que nos permiten fijar algunos valores y así disminuir el mal planteamiento del problema.

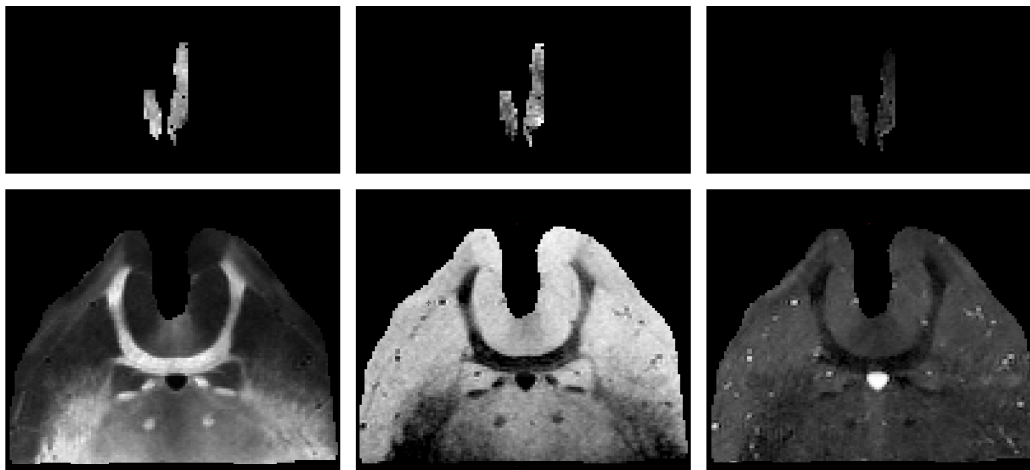


Figura 5-10: NMF en los nervios ópticos (parte superior) y en la comisura del cuerpo calloso (parte inferior), de izquierda a derecha se muestran los tamaños de compartiendo de MAN, CELL y CSF.



En la Figura 5-10 se presenta un ejemplo de los mapas de tamaño de compartimiento que se obtienen al realizar la NMF sobre la rata sana Ctrr04ants. En la parte superior se observan los nervios ópticos y en la parte inferior la comisura del cuerpo caloso. Los nervios ópticos y la comisura están hiperintensos en el compartimiento de MAN, el compartimiento de CELL también tiene mucha intensidad en los nervios. La comisura del cuerpo caloso es hipointensa en el compartimiento de CELL y todo el tejido alrededor correspondiente a materia gris se ve hiperintenso. Por último, los pequeños puntos blancos en el compartimiento de CSF en la comisura del cuerpo caloso corresponden a vasos sanguíneos.

## 5.2. Estimación de $\lambda_{\parallel}$ y $\lambda_{con}$

Se estimaron  $\lambda_{\parallel}$  y  $\lambda_{con}$  como se indica en la Sección 4.2. Se utilizaron solo las ratas control porque no hay ninguna razón para pensar que la isquemia afecte los coeficientes de difusión de estos compartimientos. Los resultados de las 8 ratas control se muestran en la Tabla 5.2.

	$\lambda_{\parallel} \text{ mm}^2/s$	$\lambda_{con} \text{ mm}^2/s$
Ctr01ants	0.000425	$2 \times 10^{-6}$
Ctr03ants	0.00065	$1 \times 10^{-6}$
Ctr04ants	0.000675	$4 \times 10^{-6}$
Ctr06ants	0.000725	0.0
Ctr07ants	0.00055	$10 \times 10^{-6}$
Ctr09ants	0.00055	$4 \times 10^{-6}$
Ctr10ants	0.000525	0.0
Ctr11ants	0.000700	0.0
<b>Promedio</b>	<b>0.0006557</b>	<b>4.99e-6</b>

Tabla 5.2:  $\lambda_{\parallel}$  y  $\lambda_{con}$  estimados mediante la búsqueda. El promedio se obtuvo sin tomar en cuenta los valores de la rata Ctr01ants.

La comparación entre el valor de  $\lambda_{\parallel}$  obtenido mediante esta búsqueda, la AD y la

difusión paralela de Kaden [11]. Se presenta en la Figura 5-11.

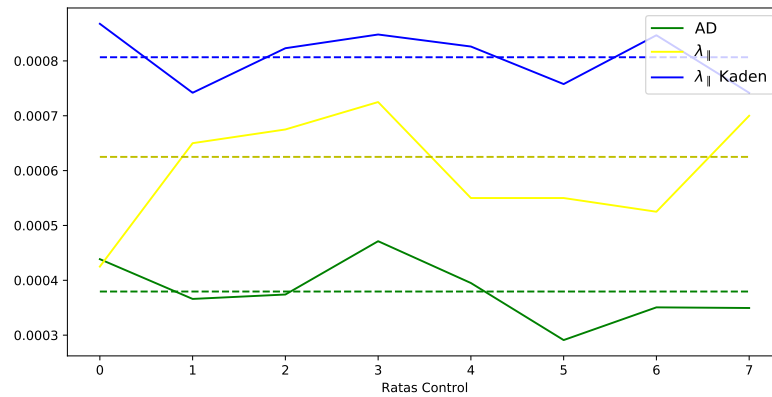


Figura 5-11: Difusión axial (verde),  $\lambda_{\parallel}$  estimada mediante la búsqueda (amarillo) y difusión paralela de Kaden (azul) [11].

Se observa que la  $\lambda_{\parallel}$  estimada mediante la búsqueda se encuentra en medio de la obtenida utilizando la AD y la paralela de Kaden, lo cual es plausible dados los modelos de TENSOR y SMT [11].

Ya con  $\lambda_{\parallel}$  y  $\lambda_{con}$  estimadas, se entrenó una red neuronal para predecir los tamaños de compartimiento de MAN, CON y CSF en los nervios ópticos, ya que como se vio anteriormente, el compartimiento de CON no se puede obtener mediante NMF debido a la falta de voxels puros.

### 5.3. ANN que Estima MAN, CON, CSF

Utilizar la ANN tiene algunas ventajas sobre la NMF, en primer lugar, no dependemos de que en las DW-MRI haya voxels puros, lo que nos permite estimar el compartimiento de CON. Además, en las pruebas sintéticas presentadas en las Figuras 4-9 y 5-5 se observa que la ANN es un mejor estimador del compartimiento de CSF.

En la Figura 5-12 se muestran los boxplots de los tamaños de compartimiento de MAN, CON y CSF sobre los nervios ópticos, cada punto representa la media sobre

la ROI de una rata.

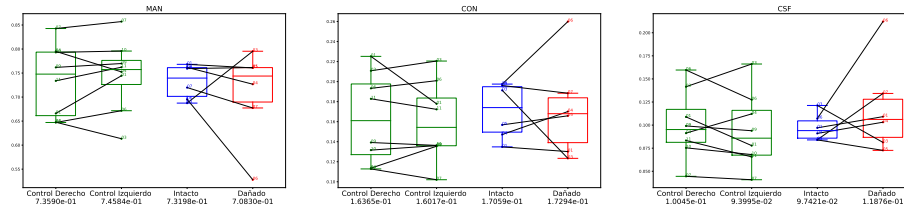


Figura 5-12: Boxplots de los pesos estimados por la ANN sobre la ROI de los nervios ópticos. Control (verde), nervio intacto de la rata con isquemia (azul), nervio dañado de la rata con isquemia (rojo). En el eje x de la figura se indican los promedios de todas las ratas.

No se observa un patrón claro en el comportamiento de los pesos, hay una muy ligera disminución en la media del tamaño de compartimento de MAN, en general, todas las ratas presentan esta disminución a excepción de la rata 03. También se observa un muy pequeño incremento en CON y CSF en el nervio dañado. La disminución en MAN puede estar relacionada con la muerte axonal ocasionada por la isquemia y el incremento en CSF debido a la respuesta inflamatoria del sistema inmune. La varianza de los pesos del nervio dañado con isquemia es mayor que en los nervios sanos.

Al igual que los pesos obtenidos por NMF, no existen diferencias claras entre los compartimientos debido al parecido de las SMT de los nervios dañados, intactos y control. Se utilizaron los pesos estimados por la ANN para eliminar la contribución de los compartimientos de CON y CSF en las DW-MRI y mediante diccionarios estimar el ICSF de las ratas.

## 5.4. ICSF por Diccionarios

El resultado de aplicar diccionarios sobre las DW-MRI sin los compartimientos de CON y CSF para estimar el ICSF se presenta en la Figura 5-13.

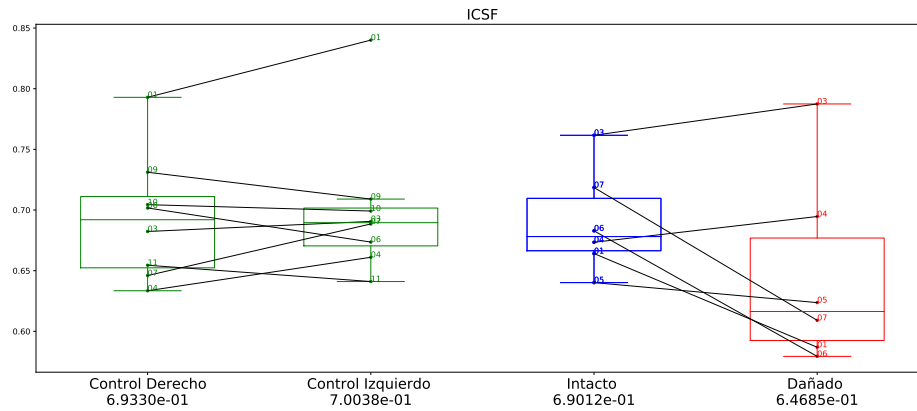


Figura 5-13: Boxplots del ICSF estimado por diccionarios sobre la ROI de los nervios ópticos. Control (verde), nervio intacto de la rata con isquemia (azul), nervio dañado de la rata con isquemia (rojo). En el eje x de la figura se indican los promedios de todas las ratas.

Como es de esperarse el ICSF en el nervio dañado es menor que en los nervios sanos debido a la muerte axonal. Estos resultados son congruentes por los presentados por Rojas-Vite et al [23]. Quienes reportan con histología una reducción de la densidad axonal de alrededor del 50% en los nervios con isquemia. Como se observó en la Sección anterior, las SMT de los nervios dañados, intactos y control son muy similares. La SMT elimina los efectos de la dispersión y cruces axonales en el tejido, después de observar lo parecido de las SMT entre poblaciones y las pequeñas variaciones detectadas en el ICSF se consideró importante analizar la dispersión, para esto se utilizaron las orientaciones del método basado en diccionarios explicado en la Sección 4.5 para calcular diversos índices que caractericen esta propiedad de los manojos en los nervios ópticos.

## 5.5. Dispersión

Para cuantificar la dispersión se utilizaron 4 métricas como se describe en la metodología: DCEN, TUN, MUMOD y IFOD. Las primeras tres utilizan las orientaciones de los modelos intracelulares y/o extracelulares del diccionario y la tercera es la inte-

gral sobre la FOD dividida entre el pico de amplitud.

En la Figura 5-14 se presentan los resultados de calcular la diferencia angular promedio entre las orientaciones del diccionario y el centroide obtenido a partir de los clusters de las orientaciones del método Mean-shift (DCEN).

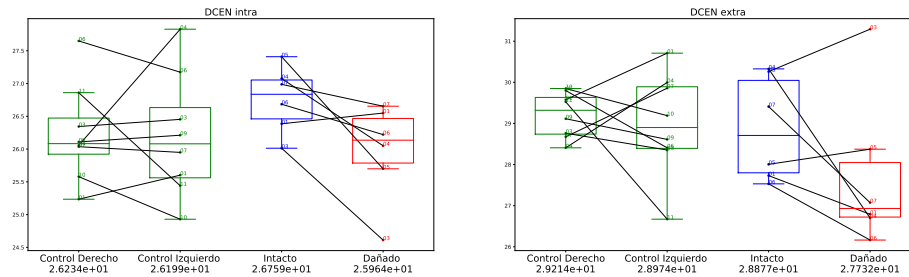


Figura 5-14: Boxplots del DCEN de la parte intracelular y extracelular estimado por diccionarios sobre la ROI de los nervios ópticos. Control (verde), nervio intacto de la rata con isquemia (azul), nervio dañado de la rata con isquemia (rojo). En el eje x de la figura se indican los promedios de todas las ratas.

Se observa una ligera disminución en DCEN en la parte intracelular con respecto al nervio intacto, pero al compararlo con la media de los nervios control se observan valores similares. Un valor grande de DCEN significa que hay una mayor diferencia entre la distancia angular promedio y el centro del cluster y por lo tanto mayor dispersión. En la parte extracelular los valores de DCEN son menores que los nervios control y el nervio intacto, lo que sugiere una menor dispersión en este microambiente.

En la Figura 5-15 se presenta el resultado de comparar las orientaciones de todos los  $N \alpha_{intra}$  con una distribución uniforme discreta, se puede notar una clara disminución del índice TUN en la parte intracelular con respecto a los nervios sanos y al nervio intacto, un TUN bajo significa que la distribución es más parecida a una uniforme, por lo tanto este resultado sugiere un incremento en la dispersión en la parte intracelular de la señal.

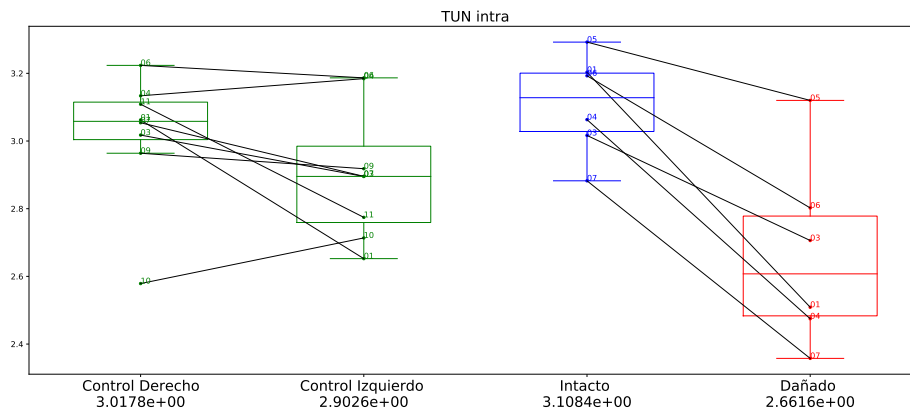


Figura 5-15: Boxplots del TUN de la parte intracelular estimado por diccionarios sobre la ROI de los nervios ópticos. Control (verde), nervio intacto de la rata con isquemia (azul), nervio dañado de la rata con isquemia (rojo). En el eje x de la figura se indican los promedios de todas las ratas.

El MUMOD de la parte intracelular y extracelular es el índice que proporciona las diferencias más notables entre los nervios sanos y el nervio dañado con isquemia. En la Figura 5-16 se observa un incremento en el valor de MUMOD para la parte intracelular en el nervio dañado con isquemia, mientras que en la parte extracelular se ve una ligera disminución.

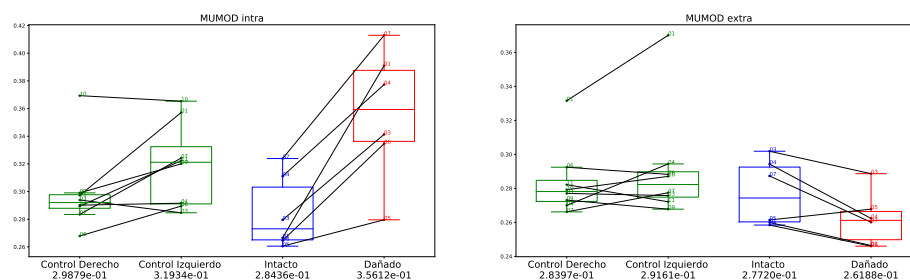


Figura 5-16: Boxplots de MUMOD de la parte intracelular y extracelular estimado por diccionarios sobre la ROI de los nervios ópticos. Control (verde), nervio intacto de la rata con isquemia (azul), nervio dañado de la rata con isquemia (rojo). En el eje x de la figura se indican los promedios de todas las ratas.

El MUMOD, como se comentó en la metodología, es una forma de medir la multimodalidad de la señal, es decir, cuantos manojos de axones están presentes en la ROI. Mayor número de cruces axonales harán que la señal sea más multimodal. Un valor alto de MUMOD está relacionado con un incremento en la dispersión. Por lo tanto, la Figura 5-16 sugiere una mayor dispersión de la parte intracelular y una menor dispersión para la parte extracelular del nervio dañado con isquemia. Estos resultados coinciden con lo expuesto anteriormente para TUN y para la parte extracelular de DCEN.

La última métrica utilizada para cuantificar la dispersión fue la integral de la FOD dividida entre el pico de amplitud. Manojos con poca dispersión tendrán una FOD aguda y por lo tanto un valor de IFOD pequeño. Los resultados de calcular IFOD sobre los nervios ópticos de las ratas se muestran en la Figura 5-17.

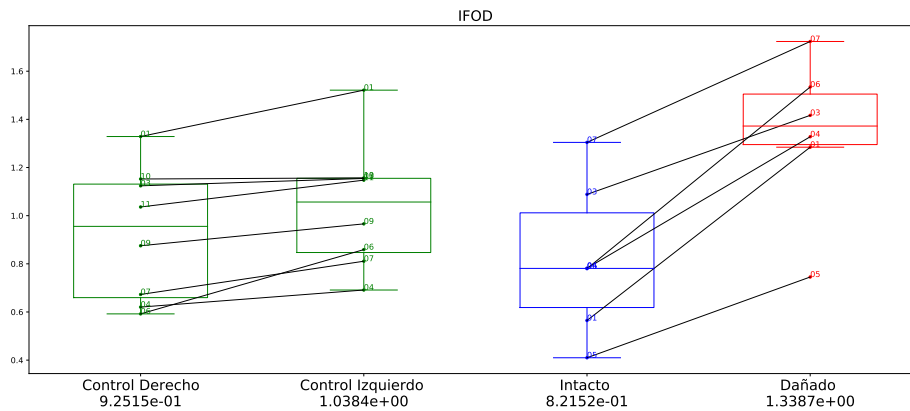


Figura 5-17: Boxplots de IFOD sobre la ROI de los nervios ópticos. Control (verde), nervio intacto de la rata con isquemia (azul), nervio dañado de la rata con isquemia (rojo). En el eje x de la figura se indican los promedios de todas las ratas.

Los resultados de IFOD concuerdan con todo lo visto anteriormente. Es difícil de explicar por qué los nervios dañados tienen más dispersión que los sanos, pero en el trabajo de Ricardo Coronado et al [29] llegaron a un resultado similar al trabajar con estos datos. No queda claro si la isquemia en realidad provoca un aumento en la dispersión en los manojos de axones o si la enfermedad ocasiona que el problema esté

mal modelado y el daño se refleje en la dispersión.

Viendo estos resultados se decidió analizar la FA, ya que la anisotropía en MAN, está asociada con cambios en el ICSF y a la organización del tejido en fibras y fascículos.

## 5.6. FA

En la Figura 5-18 se observa que el valor de FA es menor para los nervios dañados, esto puede interpretarse como una reducción en la cantidad de fibras axonales o como un aumento en la desorganización del tejido. Ambas explicaciones coinciden con lo expuesto en los resultados de dispersión y de los tamaños de compartimiento.

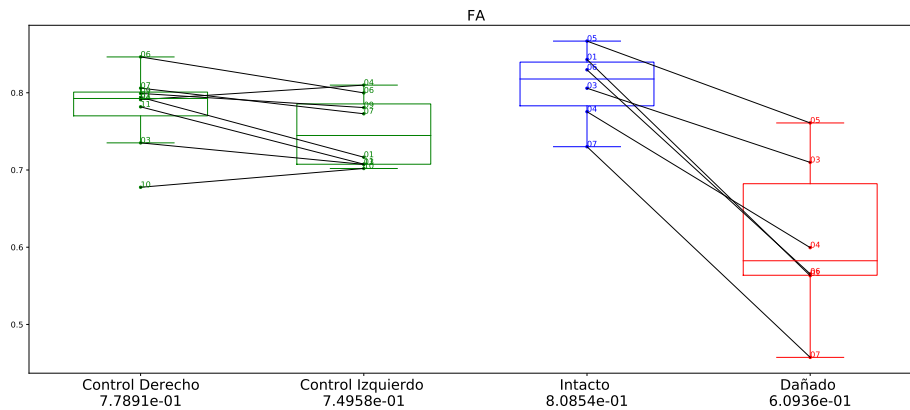


Figura 5-18: Boxplots de la FA sobre la ROI de los nervios ópticos. Control (verde), nervio intacto de la rata con isquemia (azul), nervio dañado de la rata con isquemia (rojo). En el eje x de la figura se indican los promedios de todas las ratas.

Un ejemplo del mapa de FA sobre los nervios ópticos de 2 ratas control y 2 ratas con isquemia se presenta en la Figura 5-19



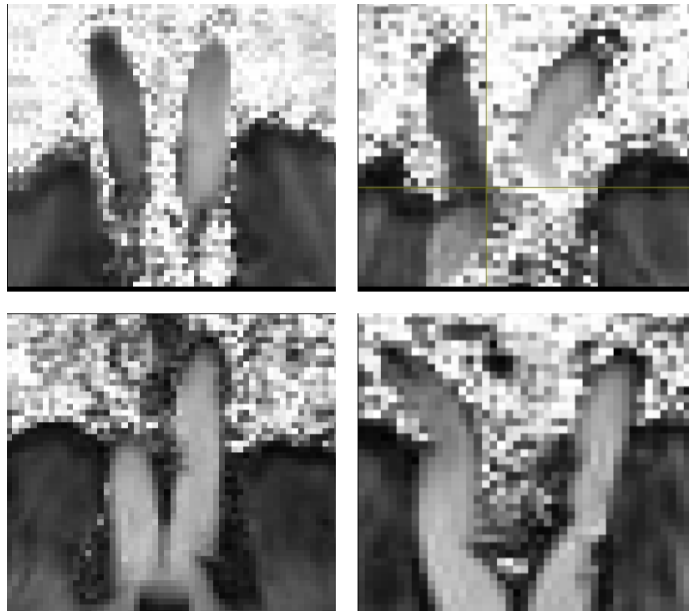


Figura 5-19: FA en los nervios ópticos de 2 ratas con isquemia (parte superior) y dos ratas control (parte inferior).

Se observa lo que previamente se expuso en el boxplot. Los nervios dañados de las ratas con isquemia tienen un menor valor de FA, mientras que los nervios intactos tienen valores muy similares a los control.



# Capítulo 6

## Conclusiones y Trabajo Futuro

En este trabajo se analizaron ex-vivo DW-MRI provenientes de ratas sanas y con isquemia utilizando la SMT. Se aplicaron técnicas de aprendizaje supervisado y no supervisado para intentar estimar los tamaños de compartimiento de los principales tejidos en el cerebro. De igual forma, se utilizaron métodos basados en diccionarios, previamente desarrollados en CIMAT, para calcular el ICSF y la dispersión en los nervios ópticos. Otra métrica de dispersión utilizada fue la integral dividida entre el pico de amplitud de la FOD que se obtuvo mediante deconvolución esférica, todo esto para intentar caracterizar el daño provocado por la isquemia. Los datos fueron proporcionadas por el Instituto de Neurobiología de la UNAM.

La NMF demostró ser un método que funciona correctamente cuando se trabaja con voxeles puros, al intentar aplicar **la NMF en voxeles con volumen parcial de diferentes compartimientos (como en el cerebro) el método no es tan efectivo, ya que las bases encontradas son combinaciones de otras bases.** Aun así, los mapas de pesos encontrados son informativos.

**No se encontraron diferencias entre los pesos estimados por NMF y por la ANN de los nervios dañados, intactos y control. Esto se debe a que a nivel de SMT las señales entre los diferentes tipos de nervios son muy similares,** es importante recordar que la SMT elimina la contribución de la dispersión y los cruces de los axones en el tejido, este es un primer indicio de que el daño provocado por la isquemia efectivamente se refleja en la dispersión de las fibras

axonales.

**La base de CSF estimada por NMF en todos los experimentos sintéticos resultó bien estimada, y en las pruebas con las SMT de los datos de las ratas coincidió con la MD. Esto se debe a que en las pruebas sintéticas siempre se contó con voxels puros y en los datos reales siempre se pueden obtener voxels puros de agua en los ventrículos del cerebro, por lo que la NMF sobre las SMT podría ser utilizada para estimar el coeficiente de difusión libre en el cerebro. Es notable el desempeño de la SMT y la ANN para estimar correctamente el compartimiento de CSF. Además, calcular mapas de CSF de todo el volumen es relativamente rápido, ya que solo hay que evaluar la ANN.**

Es complicado estimar el ICSF a partir de la base de MAN obtenida mediante NMF. En primer lugar, porque es solo una base que representa a todo el tejido, por lo que el ICSF estimado es una especie de promedio sobre todos los voxels de la ROI y en segundo lugar como se vio en los resultados, la base de MAN se ve afectada por la falta de voxels puros del compartimiento de CON.

Si se intenta hacer una estimación del ICSF voxel a voxel a partir de la SMT, utilizando el modelo de la ecuación (4.16), los resultados no son buenos debido al mal planteamiento del problema. Los  $H_{man}$  y el ICSF pueden tener distintas combinaciones de valores que dan una SMT parecida.

En cambio, **el método propuesto para estimar la difusión paralela a partir del promedio de las SMT demostró ser confiable en datos sintéticos y en los datos reales su valor estuvo entre la AD y la paralela de Kaden, esto es bueno porque la AD subestima el valor real y el estimador de la difusión paralela del método propuesto por Kaden et al. [11] lo sobreestima. El hecho de fijar información proveniente de histología ayuda a reducir el mal planteamiento del problema y permite estimar la difusión paralela. La ventaja de esta metodología es que es relativamente rápida y el hecho de buscar sobre una sola base de SMT permite tener mayor resolución en los parámetros sin sacrificar tanto tiempo de cómputo. Al utilizar el promedio de la SMT se está suponiendo que la difusión paralela es la misma o suficientemente parecida para todos los voxels.**

Otro aporte de esta tesis es la utilización de la SMT como medida de calidad de los datos, se aprovecha el hecho de que la SMT debería tener una caída exponencial para detectar posibles artefactos en la señal.

La SMT demostró ser buena para estimar los tamaños de compartimiento de CSF y CON, pero no tan buena para estimar ICSF. Es por eso que el cálculo de este índice se realizó mediante diccionarios eliminando la contribución de estos compartimientos estimados por la ANN. Recordemos que al trabajar con la SMT reducimos considerablemente la dimensión de los datos, esto podría ser un factor importante de por qué los diccionarios, que trabajan con todas las orientaciones del protocolo, son mejores estimando el ICSF.

El ICSF estimado fue menor en el nervio dañado, lo que refleja el daño axonal ocasionado por la isquemia. Sin embargo, las diferencias más notables entre poblaciones se dieron en los índices que caracterizan la dispersión.

DCEN no mostró diferencias en la parte intracelular, en la parte extracelular se presenta una disminución en el valor de este índice para los nervios dañados, lo que indica una menor dispersión. Otro índice que mide la dispersión en la parte intracelular es TUN, que fue considerablemente mayor en los nervios dañados, indicando una mayor dispersión. MUMOD coincide con estos resultados, una **mayor dispersión en la parte intracelular y menor dispersión en la parte extracelular en los nervios dañados**. De igual forma que los índices anteriores, obtenidos mediante diccionarios, la IFOD encuentra mayor dispersión en los nervios dañados.

Es difícil interpretar porqué el daño ocasionado por la isquemia se ve reflejado en la dispersión, queda la duda si el daño es tan grande que viola algunos supuestos del modelo, ocasionando que el modelado sea deficiente y el daño se vaya hacia la dispersión o si en verdad la isquemia ocasiona mayor dispersión en los nervios dañados.

El no encontrar diferencias en los pesos de la NMF y de ANN obtenidos a partir de la SMT apoya la hipótesis de que el daño se ve reflejado en la dispersión, ya que la SMT no se ve afectada por las orientaciones ni cruces en los axones. **Por último,**

la FA también coincide con esto, ya que es menor en los nervios dañados, recordemos que este valor es alto cuando hay difusión en una sola dirección, es decir, fibras axonales organizadas.

Los resultados en este trabajo proporcionan una nueva forma de estimar la difusión paralela a través de la SMT, muestran que la SMT es útil al estimar tamaños de compartimientos pero no tan buena al estimar el ICSF debido al mal planteamiento del problema. También se encontró que el daño de la isquemia se ve reflejado principalmente en la dispersión de las fibras axonales de los nervios ópticos.

## 6.1. Trabajo Futuro

Como perspectivas y trabajo a futuro sería bueno aumentar el tamaño de la base de datos, probar esta metodología en ratas con distinto grado de daño por isquemia (bajo, medio y alto), también se pretende incluir poblaciones de ratas con diversos tipos de enfermedades para ver si el método propuesto es capaz de caracterizar otras patologías.

Adicionalmente, sería interesante probar la NMF en datos in-vivo para ver si el compartimiento de difusión lenta, al que nombramos CON, sigue presente. Y por último, explorar más a fondo el uso de la SMT como métrica de calidad.

# Bibliografía

- [1] Sanders J. A. *Magnetic Resonance Imaging*. Mosby, Albuquerque, second edition, 1995.
- [2] J. Veraart D.S. Novikov D. Christiaens B. Ades aron J. Sijbers and E. Fieremans. Denoising of diffusion mri using random matrix theory. *NeuroImage* 142:394–406, 2016.
- [3] Diederik P. Kingma Jimmy Ba. Adam: A method for stochastic optimization. *ICLR 2015*, 2015.
- [4] Richard B. Buxton. *Introduction to Functional Magnetic Resonance Imaging*. Cambridge University Press, New York, second edition, 2009.
- [5] Zhang H. Schneider T. Wheeler-Kingshott CA. and Alexander DC. Noddi: practical in vivo neurite orientation dispersion and density imaging of the human brain. *Neuroimage* 61(4):1000-16, 2012.
- [6] Steren Chabert and Paola Scifo. Diffusion signal in magnetic resonance imaging: Origin and interpretation in neurosciences. *Biol Res* 40: 385-400, 2007.
- [7] Chunming Lia John C. Goreb Christos Davatzikosa. Multiplicative intrinsic component optimization (mico) for mri biasfield estimation and tissue segmentation. *Magnetic Resonance Imaging* 32: 913 - 923, 2014.
- [8] Ferizi U Schneider T Panagiotaki E Nedjati-Gilani G Zhang H Wheeler-Kingshott C. A Alexander D.C. A ranking of diffusion mri compartment models with in vivo human brain data. *Magn Reson Med*, 72(6):1785-1792 , 2014.
- [9] Omar Narváez Delgado. *Evaluación de la degeneración axonal en quiasma óptico en un modelo por isquemia retiniana*. MD tesis, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Neurobiología, 2019.
- [10] Peter J. Basser Derek K. Jones. “squashing peanuts and smashing pumpkins”: How noise distorts diffusion-weighted mr data. *Magnetic Resonance in Medicine*, 52:979-993, 2004.
- [11] Enrico Kaden Nathaniel D. Kelm Robert P. Carson Mark D. Does and Daniel C. Alexander. Quantitative mapping of the per-axon diffusion coefficients in brain white matter. *NeuroImage* 139:346-359, 2016.

- [12] Jaber Juntu Jan Sijbers Dirk Van Dyck and Jan Gielen. Bias field correction for mri images. *Computer Recognition Systems 30: 543 - 551*, 2005.
- [13] Rafael Patino J. et al. Dwi simulation-assisted machine learning models for microstructure estimation. *Computational Diffusion MRI. Mathematics and Visualization 125-134*, 2020.
- [14] J. Veraart E. Fieremans and D.S. Novikov. Diffusion mri noise mapping using random matrix theory. *Magnetic Resonance in Medicine 76(5):1582-1593*, 2016.
- [15] Keinosuke Larry D. Hostetler Fukunaga. The estimation of the gradient of a density function, with applications in pattern recognition. *IEEE Transactions on Information Theory 21 (1): 32-40*, 1975.
- [16] Gudbjartsson H and Patz S. The rician distribution of noisy mri data. *Magnetic Resonance in Medicine,34(6): 910 - 914*, 1996.
- [17] Favia Patricia Avilés Hernández. *Estimación no Paramétrica de Descriptores de Microestructura Axonal en Datos Clínicos*. MD tesis, Centro de Investigación en Matemáticas, Departamento de Ciencias de la Computación, 2019.
- [18] Ferizi U. Scherrer B. Schneider T. Alipoor M. Eufrazio O. Fick R. H. J. and Alexander D. C. Diffusion mri microstructure models with in vivo human brain connectome data: results from a multi-group comparison. *NMR in Biomedicine 30(9): e3734*, 2017.
- [19] Jeurissen B. Tournier J.D. Sijbers J. Tissue-type segmentation using non-negative matrix factorization of multi-shell diffusion-weighted mri images. *The Annual Meeting of the Internal Society for Magnetic Resonance in Medicine 25: 0349*, 2015.
- [20] Yi Han Jinming Zou and Sung-Sau So. Overview of artificial neural networks. *Artificial Neural Networks. Methods in Molecular Biology 15-23*, 2008.
- [21] Peter . Kostelec and Senthil Periaswamy. Image registration for mri. *Modern Signal Processing 46: 161-184*, 2003.
- [22] Enrico Kaden Frithjof Kruggel and Daniel C. Alexander. Quantitative mapping of the per-axon diffusion coefficients in brain white matter. *Magnetic Resonance in Medicine 75:1752-1763*, 2016.
- [23] Gilberto Rojas-Vite Ricardo Coronado-Leija Omar Narvaez-Delgado Alonso Ramírez-Manzanares José Luis Marroquín Ramsés Noguez-Imm Marcos L. Aranda Benoit Scherrer Jorge Larriva-Sahd and Luis Concha. Histological validation of per-bundle water diffusion metrics within a region of fiber crossing following axonal degeneration. *NeuroImage 201: 116013*, 2019.



- [24] Alexander Leemans. *Modeling and Processing of Diffusion Tensor Magnetic Resonance Images for Improved Analysis of Brain Connectivity*. PhD dissertation, Universiteit Antwerpen, Departement Fysica, 2006.
- [25] Eleftheria Panagiotaki Torben Schneider Bernard Siow Matt G. Hall Mark F. Lythgoe and Daniel C. Alexander. Compartment models of the diffusion mr signal in brain white matter: A taxonomy and comparison. *NeuroImage*, 59(3):2241 -2254, 2012.
- [26] Manjón J.V. Carbonell-Caballero J. Lull J.J. García-Martí G. Martí-Bonmatí L. Robles M. Mri denoising using non local means. *Medical Image Analysis*12(4):514-23, 2008.
- [27] Peter J. Basser James Mattiello and Denis LeBihan. Mr diffusion tensor spectroscopy and imaging. *Biophysical Journal* 66: 259-267, 1994.
- [28] Chantal M.W. Tax Filip Szczepankiewicz Markus Nilsson and Derek K. Jones. The dot-compartment revealed? diffusion mri with ultra-strong gradients and spherical tensor encoding in the living human brain. *NeuroImage* 210: 116534, 2020.
- [29] Ricardo Coronado Leija Santiago Coelho Omar Narvaez Jorge Larriva-Sahd Alonso Ramirez Manzanares Luis Concha Dmitry S. Novikov and Els Fieremans. Biophysical modeling of ex vivo diffusion mri for the longitudinal characterization of axonal degeneration in the optic nerve. *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.* 29 (2021) 29 (2039), 2021.
- [30] A. Ramirez Manzanares M. Rivera Vemuri B.C. Carney P. and T. Mareci. Diffusion basis functions decomposition for estimating white matter intravoxel fiber geometry. *IEEE Transactions on Medical Imaging* 26(8):1091–1102, 2007.
- [31] Tustison N. Avants B. Cook P. Zheng Y. Egan A. Yushkevich P. and Gee J. N4itk: Improved n3 bias correction. *IEEE Transactions on Medical Imaging* 29: 1310-1320, 2010.
- [32] William S. Price. Pulsed-field gradient nuclear magnetic resonance as a tool for studying translational diffusion: Part 1. basic theory. *Concepts Magn Reson*,9: 299 - 336, 1997.
- [33] Peng Sun Ye Wu Geng Chen Jun Wu Dinggang Shen and Pew-Thian Yap. Tissue segmentation using sparse non-negative matrix factorization of spherical mean diffusion mri data. *Computational Diffusion MRI. MICCAI 2019. Mathematics and Visualization* 69-76, 2016.
- [34] Gore JC Szafer A, Zhong J. Theoretical model for water diffusion in tissues. *Magnetic Resonance in Medicine* 33: 697-712, 1995.

- [35] Pawel J. Winklewski Agnieszka Sabisz Patrycja Naumczyk Krzysztof Jodzio Edyta Szurowska and Arkadiusz Szarmach. Understanding the physiology behind axial and radial diffusivity changes - what do we know? *Frontiers in Neurology* 9: 92, 2018.
- [36] Kellner E. Dhital B. Kiselev V.G. and Reiser M. gibbs-ringing artifact removal based on local subvoxel-shifts. *Magnetic Resonance in Medicine* 76: 1574 - 1581, 2016.
- [37] Xue Ying. An overview of overfitting and its solutions. *Journal of Physics: Conference Series* 1168:022022, 2008.
- [38] Daniel C. Alexander Tim B. Dyrby Markus Nilsson Hui Zhang. Imaging brain microstructure with diffusion mri: practicality and applications. *NMR in Biomedicine* 32(4): e3841, 2017.