

PREPROCESADO DE IMÁGENES

A. Preprocesado fMRI:

Entrar como *Docència*

Trabajar en disco D:/

1) Del scanner al SPM

1.1) Paradigma experimental: Estudio de ToM por fMRI:

1.2) Parámetros de adquisición

- ESTRUCTURAL:
 - o Imagen estructural potenciada en T1. Tamaño del vóxel de 0.84 0.84 1.4. Matriz 256x256x100. Sin espacio entre cortes.
- FUNCIONAL:
 - o Se adquirieron volúmenes de todo el cerebro. Imágenes EPI (Echo Planar Imaging) basada en la respuesta BOLD.
 - o Cada volumen consta de 30 cortes. El tamaño del vóxel es de 3mm³ (64x64x30)
 - o TR (tiempo de repetición) = 3 segundos.

1.2) Paradigma experimental:

- Diseño de bloques: Bloques de activación (A) y bloques de control (C) alternados. (A-C-A-C-....).
- o Bloque activación: ToM
- o Bloque control: Género
- Cada bloque dura 37.5 segundos. Como el TR es de 3 segundos, tendremos un total de 12.5 scans por bloque
- Se realizan un total de 8 bloques (4 activación y 4 reposo).
- La adquisición total consta de 102 scans y duró 5 minutos y 6 segundos (306 seg)

1.3) Conversión de archivos DICOM a NIfTI

- Las imágenes nos llegan del scanner en un formato estándar llamado DICOM (Digital Imaging and Communication in Medicine). Para trabajar con ellas en el SPM tenemos que convertirlas a formato NIFTI (Neuroimaging Informatics Technology Initiative)
- Diferentes programas para la conversión:
 - o SPM5: (No permite cambiar el nombre de la imagen)
 - “Dicom import”
 - “Dicom files”. Selecciona las imágenes en formato DICOM.
 - “Output directory”. Selecciona el directorio en el que guardar las imágenes.
 - o MRICron
 - “DICOM 2 NIFTI”
 - “Output format” SPM5 (3D NIFTY img/hdr)
 - Arrastra las imágenes a la ventana para convertirlas.
 - o MRIconvert2:
 - “Add folder”. Selecciona las imágenes DICOM en **D:/Curso_SPM/imagenes/Funcional/Preprocesado/Sujeto/DICOM**
 - Especificar el formato al que queremos convertir las imágenes: “NIFTI” (.img y .hdr)
 - Rename. renombrar las imágenes como:
 - estructural3d (1 volumen)
 - funcional (102 volúmenes)
 - “Directory”: Ir a **D:/Curso_SPM/imagenes/Funcional/Preprocesado/Sujeto/NIFTI**
 - - Crear una nueva carpeta llamada preprocesado fMRI.
 - “Convert all”
- Comprobar que las imágenes se han convertido correctamente.

1.4) Entrar en el SPM

- Entra en Matlab
 - o “Set path”/ “Add with subfolders”: Localiza el programa SPM y selecciónalo “Save”.
 - o Teclea [spm fmri] en Matlab para abrir SPM

2) Pre-procesado de las imágenes

¿Qué es el preprocesado? La preparación de las imágenes para el posterior análisis estadístico. El objetivo es eliminar la variabilidad de los datos producida por el ruido y preservar la producida por la señal.

- Antes de empezar con el preprocesado de las imágenes hay que eliminar los primeros scans funcionales (dummy) para asegurar la homogeneización de la señal. En este caso eliminamos los 6 primeros segundos que corresponden a los dos primeros scans. Algunas máquinas de RM automáticamente descartan estos scans.

- Cambia el directorio de trabajo mediante “Utils”/ “CD”:

D:/Curso_SPM/imagenes/Funcional/Preprocesado/Sujeto/NIFTI

2.0) Orientar las imágenes

- ¿Qué es? ¿Para qué?
 - o Orientar las imágenes de acuerdo al eje AC-PC de tal manera que la comisura anterior (AC) corresponda a las coordenadas [0 0 0]. Este paso, aunque no es imprescindible, sirve como ayuda a la normalización. Si la imágenes se adquieren en coronal o sagital, y están en formato ANALYZE sí es imprescindible reorientarlas (en el caso de que el formato sea NIFTI, la información acerca del corte de adquisición ya está contenida en la imagen)
- ¿Cómo?
 - o “Display”. Selecciona la imagen 3d del sujeto (*estructural3d.img*).
 - o Mueve el eje de coordenadas hasta situarlo en el eje AC-PC.
 - o Corrige la posición de la imagen manipulando los ejes Pitch, Roll, Yaw.
 - o Aplica los parámetros de movimiento a las imágenes. Es decir copia los parámetros que aparecen en la casilla “mm” (indican los movimientos en el eje de coordenadas) e introducelos en las casillas “right”, “foward” y “up” pero cambiándoles el signo.
 - o Por ejemplo si “mm” [-0.7 8.8 37.4], entonces right [0.7]; foward [-8.8]; up [-37.4]
 - o SPM5 siempre neurológica. Si orientación correcta en espacio mm la izq valores menores que la derecha y en espacio vx derecha valores menores que izquierda.
 - o Antes de reorientar las imágenes asegurate de que tienes seleccionada la opción “World Space”
 - o “Reorient images”. Selecciona todas las imágenes que quieras reorientar utilizando estos parámetros.
 - o Selecciona la imagen estructural (*estructural3d.img*) y las funcionales (de *funcional_003.img* a *funcional_102.img*).
- Resultado:
 - o Las imágenes están reorientadas, es decir en todas ellas coinciden aproximadamente con las coordenadas [0 0 0] corresponden a la comisura anterior.
 - o Las transformaciones se guardan en el *.hdr* de las imágenes. No se crea ninguna imagen adicional.

2.1) Realinear:

- ¿Qué es? ¿Para qué?
 - o Registro intrasujeto.
 - o Corrección de movimiento.
 - o Realinear las imágenes funcionales de un mismo sujeto para que una coordenada determinada corresponda a un mismo vóxel a lo largo de toda la serie temporal. Corrige los movimientos de cabeza durante el paradigma funcional.
 - o Normalmente toma como referencia el primer scan, aunque no tiene por que ser el primero, sino el más representativo.
- ¿Cómo?
 - o “Realign”
 - o “New realign”: “Estimate and reslice”
 - o “Data”, “New session”; “Session”

- “Specify files”: Seleccionar las imágenes funcionales de 003 a 102 ambas incluidas (de *funcional_003.img* a *funcional_102.img*). “Select all”.
- “Reslice Options”: “Resliced images” deja la opción por defecto que crea “All images + Mean image”. Como alternativa podríamos seleccionar la opción crear “Mean image only”. En ese caso únicamente crearía la imagen promedio, es decir, los parámetros de realineamiento se guardarían en el hdr. de la imagen original, ahorrándonos así la creación de nuevas imágenes (prefijo *r*).
- Guardar como “realign.mat” apretando el botón “Save”
- Ejecuta el comando apretando el botón “Run”
- Resultado
 - Se crean nuevas imágenes que llevan el prefijo *r*.
 - Se crea una imagen promedio *meanfuncional.img*
 - Se crea un documento de texto (*rp_funcional.txt*) con los parámetros que describen como se ha movido el sujeto durante el paradigma funcional en los tres ejes (x,y,z) de traslación y de rotación. Posteriormente estos parámetros podrán ser incluidos como regresores en el modelo lineal general (GLM).

2.2) Corregistrar:

- ¿Qué? ¿Para qué?
 - Registro intrasujeto, intermodalidad (diferente TR, diferente TE)
 - Emparejar/corregistrar imágenes. Pueden ser de diferentes modalidades (estructural y funcional) pero necesariamente han de ser del mismo sujeto.
- ¿Cómo?
 - “Coregister”
 - “Coregister: Estimate”
 - “Reference image”. Imagen de referencia que no cambiará tras el corregistro. Selecciona *meanfuncional.img*
 - “Source image”: Imagen que se “modificará” para corregistrarse con la imagen de referencia. Selección *estructural3d.img*
 - Guardar como “coregister.mat” (“Save”)
 - Ejecutar (“Run”)
- Resultado
 - Las imágenes están corregistradas. Un punto determinado en la imagen A corresponde al mismo punto en la imagen B.
 - Comprueba el corregistro mediante el botón “checkreg” (selecciona *meanfuncional.img* y *estructural3d.img*)
 - No se crean ningunas imágenes. Los parámetros de registro se almacenan en el hdr de la imagen que hemos seleccionado como “source”, es decir, en nuestro caso la imagen *estructural3d.img*.

2.3) Segmentar:

- ¿Qué? ¿Para qué?
 - En principio esta función se utilizaba para separar sustancia gris (SG), sustancia blanca (SB) y líquido cefalorraquídeo (LCR). En el SPM5 sirve no solo para segmentar la imagen en los diferentes tejidos cerebrales, sino también para corregir la falta de uniformidad en la intensidad de la imagen (bias correction) y para normalizarla.
- ¿Cómo?
 - “Segment”; “Data”
 - Selecciona *estructural3d.img*
 - “Output files”: Puedes especificar que tipo de imágenes que quieres que cree el programa (en el espacio nativo, normalizadas, moduladas...). Por defecto únicamente crea los segmentos de SG y SB en el espacio nativo y la imagen corregida por la falta de uniformidad. Deja los valores por defecto.
 - “Save” como “segment.mat”
 - “Run”
- Resultado
 - Crea una imagen para sustancia gris (*c1estructural3d.img*) y otra para sustancia blanca (*c2estructural3d.img*). Si lo creemos conveniente podemos crear una imagen para líquidocefaloraquídeo (*c3estructural3d.img*) aunque esta no se crea por defecto.

- Crea un nuevo 3d, llamado *mestructural3d.img* que está corregido para la falta de uniformidad en la intensidad de la imagen.
- Para la creación de estas imágenes segmentadas, los originales han tenido que deformarse para ajustarse a los a priori (imágenes referencia de SG, SB y LCR localizadas en el espacio MNI) y, una vez segmentados, volverse a deformar para volver a su espacio original. Durante este proceso se han creado dos archivos (*estructural3d_seg_sn.mat.img* y *estructural3d_seg_inv_sn.mat.img*) denominados parámetros de deformación. El primero describe como se ha deformado la sustancia gris del sujeto para adaptarse a la sustancia gris de un cerebro estándar. El segundo es la inversa de esta deformación, es decir como debería modificarse la sustancia gris del cerebro estándar para adaptarse a la sustancia gris del cerebro del sujeto.
- Comprueba la segmentación mediante el botón “Checkreg”.

2.4) Normalizar:

- ¿Qué? ¿Para qué?
 - Registro intersujeto.
 - Deforma las imágenes para adaptarlas a un cerebro estándar. El objetivo es situar el cerebro de un sujeto individual dentro de las coordenadas estándar MNI. Gracias a las coordenadas podemos: a) Localizar estructuras; b) comparar activaciones entre diferentes sujetos; y c) comparar activaciones entre diferentes estudios. Nota: si únicamente queremos hacer estudios de caso único es recomendable no normalizar las imágenes.
- ¿Cómo?
 - Utilizaremos un tipo de normalización optimizada para la sustancia gris que es en la que esperamos observar activación.
 - **NORMALIZACIÓN DEL FUNCIONAL**
 - “Normalise”
 - “Normalise”: “Write”. Ya has estimado los parámetros durante la segmentación.
 - “Data”; “new subject”
 - “Subject”:
 - “Parameters”: Selecciona *estructural3d_seg_sn.mat.img*
 - “Images to write”: todas las imágenes funcionales que lleven como prefijo la r, es decir que estén realineadas (de *rfuncional003.img* a *rfuncional102.img*)
 - Abre “Writing options”
 - “Voxel sizes” cambia [2 2 2] por [3 3 3] que es el tamaño real de los vóxel en los scans funcionales.
 - **NORMALIZACIÓN DEL ESTRUCTURAL**
 - “Normalise”
 - “Normalise”: “Write”. Ya has estimado los parámetros durante la segmentación.
 - “Data”; “new subject”
 - “Subject”:
 - “Parameters”: Selecciona *estructural3d_seg_sn.mat.img*
 - “Images to write”: la imagen estructural corregida por la falta de uniformidad (*mestructural3d.img*)
 - Abre “Writing options”
 - “Voxel sizes” cambia [2 2 2] por [0.84 0.84 1.4] que es el tamaño real de los vóxel en los scans funcionales.
 - “Save”
 - “Run”
- Resultado
 - La normalización crea unas nuevas imágenes que llevan como prefijo la “w” (*wrfuncional...img* y *wmestructural.img*). Estas imágenes están situadas dentro del espacio estereotáxico estándar MNI.
 - Comprueba la normalización mediante el botón “checkreg”

2.5) Suavizar:

- ¿Qué? ¿Para qué?
 - o Convoluciona las imágenes utilizando un kernel Gaussiano isotrópico (campana de Gauss en 3 dimensiones).
 - o Es necesaria para realizar el análisis estadístico de los datos basado en campos Gaussianos. Se basa en los principios de intercorrelación entre vóxeles contiguos, tanto para la señal como para el ruido (no estamos comparando medidas completamente independientes) así como en las comparaciones entre diferentes sujetos (la anatomía cerebral queda más difuminada). A mayor FWHM menor número de comparaciones múltiples, y por tanto menos restrictiva será la corrección para estas, pero por otro lado, más difuminada quedará la señal y por tanto menor intensidad de esta.
- ¿Cómo?
 - o “Smooth”
 - o Selecciona las todas imágenes funcionales que lleven el prefijo “wr”
“wrfuncional003.img a wrfuncional102.img”
 - o FWHM: (Full width at half maximum)= [8 8 8]. Normalmente se usa entre 6 (análisis intrasujeto) y 12 (análisis intersujetos). Se recomienda que sea el doble del tamaño de adquisición del vóxel, sin embargo lo más apropiado sería utilizar un FWHM que se ajuste al tamaño de la región en la que esperamos encontrar activación.
- Resultado
 - o Se han creado unas nuevas imágenes que llevan como prefijo la letra *s* (*swrfuncional.img*) que indican que las imágenes están suavizadas con un kernel Gaussiano.
 - o Estas imágenes son las que entraremos en el modelo lineal general.
 - o Comprueba la imagen mediante el botón “checkreg”

* Todos estos pasos forman parte de lo que se denomina “preprocesado espacial” ya que trabajan con las imágenes únicamente en el plano espacial. En los diseños Event-related, en los que es muy importante ser preciso con momento temporal en el que se presentan los estímulos, también será necesario trabajar con las imágenes en el plano temporal corrigiendo para el tiempo de adquisición del escaner mediante la opción “Slice time correction”. Se recomienda que cuando las adquisiciones sean “interleaved” la corrección por el tiempo de adquisición se realice antes que el realineamiento, sin embargo si la adquisición es secuencial se recomienda que se realice después del realineamiento. Siempre es necesario corregir por el tiempo de adquisición antes de la normalización.

B. Preprocesado para Voxel-Based Morphometry

1) Presentación de la técnica:

- La técnica de la voxel-based morphometry (VBM) nos permite utilizar las rutinas del SPM para el análisis de imágenes estructurales. Gracias a esta técnica podremos investigar las diferencias de concentración o volumen en diferentes tejidos cerebrales de manera automática. Muy útil como análisis exploratorio, aunque es aconsejable combinarla con otras técnicas manuales como el análisis de regiones de interés (ROI).

2) Presentación del estudio:

- Estudio sobre esquizofrenia y trastornos de ansiedad.
- Adquisición de imágenes axiales potenciadas en T1 (SPGR). Matriz (256x256x104) tamaño del voxel 1.02x1.02x2.
- Hipótesis:
 - o Existen diferencias estructurales entre los pacientes con esquizofrénicos con ansiedad y los pacientes esquizofrénicos sin ansiedad.
 - o Las alteraciones estructurales en pacientes con esquizofrenia-ansiedad no pueden explicarse únicamente por la presencia de ansiedad más la presencia de esquizofrenia (existe interacción entre las dos variables)
- Cuatro grupos de pacientes:
 - o Pacientes con esquizofrenia y ansiedad
 - o Pacientes con esquizofrenia sin ansiedad
 - o Pacientes con ansiedad
 - o Pacientes controles.
- Diseño factorial 2x2.

3) Preprocesado:

3.0) Cambiar directorio a D:/Curso_SPM/imagenes/VBM/Sujeto

3.1) Orientar las imágenes:

3.2) Segmentar las imágenes

- ¿Qué? ¿Para qué? (Ver apartado anterior 2.3)
- ¿Cómo?
 - “Segment”, “Data”
 - Selecciona *estructuralVBM3d.img*
 - Grey matter:
 - “Native + Modulated + Normalized”. Nos permite guardar la imagen en el espacio original, así como la imagen normalizada y modulada. Las imágenes moduladas nos permiten hacer inferencias de volumen, las no moduladas de concentración o densidad. En nuestro caso necesitamos las imágenes normalizadas y moduladas para calcular el posteriormente el volumen total intracraneal.
 - “Clean up any partitions”, en lugar de “don’t do clean up” que es la opción por defecto cambiaremos a “light clean up”. Esta opción suele mejorar la segmentación ya que en ocasiones se clasifican como sustancia gris voxels que no lo son (especialmente aquellos que se encuentran en el borde entre la sustancia gris y el líquido cefalo-raquídeo)
 - White matter: (ver segmentación GM previa)
 - “Save” como “segment.mat”
 - “Run”
- Resultado:
 - Crea una imagen para cada tipo de tejido: SG (*c1estructuralVBM3d.img*), SB (*c2estructuralVBM3d.img*) y, si queremos LCR (*c3estructuralVBM3d.img*). Estas imágenes están en el espacio nativo (no normalizadas). A parte de estas

tres imágenes se han creado otras tres que llevan el prefijo “mw” (seguido de *c1* o *c2* o *c3*) indicando que se tratan de imágenes normalizadas y moduladas.

- La imágenes normalizadas tienen la misma resolución que las otras. En el caso de que quisiéramos cambiar la resolución de la imagen deberíamos normalizar tal y como lo hemos hecho durante el preprocesado del funcional (ver apartado 2.4)
- Comprueba la segmentación mediante el botón “Checkreg”

3.3) Suavizar imágenes

- ¿Qué? ¿Para qué? (Ver apartado anterior 2.5)
- ¿Cómo?
 - “Smooth”
 - Selecciona la imagen de sustancia gris normalizada y modulada, es decir *mwc1estructuralVBM3d*
 - FWHM: (Full width at half maximum)= [8 8 8].
- Resultado
 - Se han creado una nueva imagen suavizada con un kernel Gaussiano que se denominan *smwc1estructuralVBM3d.img*
 - Estas imágenes son las que entraremos en el modelo lineal general.
 - Comprueba la imagen mediante el botón “checkreg”