

TESIS DOCTORAL

Valoración mediante RM de la morfometría, espesor cortical y hierro local como biomarcadores de imagen en la Esclerosis Lateral Amiotrófica

Presentada por:

Miguel Mazón Momparler

Licenciado en Medicina y Cirugía por la Universidad de Valencia



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA

PROGRAMA DE DOCTORADO DE MEDICINA 3139 (R.D. 99/2011)



VNIVERSITAT E VALÈNCIA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA

Valoración mediante RM de la morfometría, espesor cortical y hierro local como biomarcadores de imagen en la Esclerosis Lateral Amiotrófica

TESIS DOCTORAL

Autor:

Miguel Mazón Momparler

Licenciado en Medicina y Cirugía

Directores:

Teresa Sevilla Mantecón

Juan Francisco Vázquez Costa

Luis Martí Bonmatí

Tutora:

Teresa Sevilla Mantecón

PROGRAMA DE DOCTORADO DE MEDICINA 3139 (R.D. 99/2011)



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Doña Teresa Sevilla Mantecón, Doctora en Medicina y Cirugía por la Universidad de Valencia y Médica Adjunta del Servicio de Neurología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe.

CERTIFICA:

Que la presente Tesis Doctoral titulada “Valoración mediante RM de la morfometría, espesor cortical y hierro local como biomarcadores de imagen en la Esclerosis Lateral Amiotrófica” presentada por D. Miguel Mazón Momparler, ha sido realizada bajo mi dirección y cumple los requisitos para que su autor pueda obtener con ella el título de Doctor por la Universidad de València.

Para que conste, firmo el presente Certificado, en Valencia a 16 de mayo de 2023.

Fdo. Dña. Teresa Sevilla Mantecón



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Don Juan Francisco Vázquez Costa, Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Valencia y Médico Adjunto del Servicio de Neurología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe.

CERTIFICA:

Que la presente Tesis Doctoral titulada “Valoración mediante RM de la morfometría, espesor cortical y hierro local como biomarcadores de imagen en la Esclerosis Lateral Amiotrófica” presentada por D. Miguel Mazón Momparler, ha sido realizada bajo mi dirección y cumple los requisitos para que su autor pueda obtener con ella el título de Doctor por la Universidad de València.

Para que conste, firmo el presente Certificado, en Valencia a 16 de mayo de 2023.

Fdo. D. Juan Francisco Vázquez Costa



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Don Luis Martí Bonmatí, Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Valencia y Director del Área Clínica de Imagen Médica del Hospital Universitario y Politécnico La Fe.

CERTIFICA:

Que la presente Tesis Doctoral titulada “Valoración mediante RM de la morfometría, espesor cortical y hierro local como biomarcadores de imagen en la Esclerosis Lateral Amiotrófica” presentada por D. Miguel Mazón Momparler, ha sido realizada bajo mi dirección y cumple los requisitos para que su autor pueda obtener con ella el título de Doctor por la Universidad de València.

Para que conste, firmo el presente Certificado, en Valencia a 16 de mayo de 2023.

Fdo. D. Luis Martí Bonmatí

A Teresa Sevilla, Juan Francisco Vázquez y Luis Martí, mis directores, por su ejemplo de profesionalidad y guía en la realización de esta Tesis.

A Leonor Cerdá y José Miguel Carot, sin su desinteresada ayuda técnica, esta Tesis no habría sido posible.

A mis compañeros y amigos, por su colaboración.

A mi familia, por su ánimo y confianza.

ÍNDICE

ÍNDICE	1
ÍNDICE DE FIGURAS	6
ÍNDICE DE TABLAS	8
ABREVIATURAS	9
INTRODUCCIÓN	12
1. CONCEPTO DE LA ELA.....	12
2. EPIDEMIOLOGÍA	12
3. ETIOLOGÍA y BASES GENÉTICAS	13
4. MECANISMOS/FISIOPATOLOGÍA e HISTOLOGÍA.....	14
5. ELA y HIERRO	15
6. CLÍNICA, DIAGNÓSTICO y TRATAMIENTO	16
6.1 Clínica	16
6.2 Diagnóstico	17
6.3 Tratamiento	20
7. BIOMARCADORES.....	20
7.1 Concepto y clasificación.....	21
7.2 Valoración de MNI y MNS.....	22
7.2.1. Valoración MNI	22
7.2.2. Valoración MNS	22
7.2.2.2. Neuroimagen	24
7.2.2.2.1 Tomografía por emisión de positrones (PET).....	24
7.2.2.2.2 Resonancia Magnética (RM)	24
7.3 Biomarcadores de imagen de afectación de MNS: morfometría basada en vóxel, espesor cortical y secuencias sensibles al hierro.....	26
7.3.1. Morfometría basada en vóxel (VBM).....	26
7.3.2. Morfometría basada en superficie (SBM): espesor cortical.	27
7.3.3. Imagen del hierro	28
8. <i>MACHINE LEARNING</i> o APRENDIZAJE AUTOMÁTICO en la ELA.....	30
JUSTIFICACIÓN	34
HIPÓTESIS	37

1. HIPÓTESIS CONCEPTUAL	37
2. HIPÓTESIS OPERATIVA	38
OBJETIVOS	40
METODOLOGÍA	44
1. POBLACIÓN A ESTUDIO	44
1.1 Criterios de inclusión	44
1.2 Criterios de exclusión.....	44
1.3. Procedencia de los pacientes	45
1.4. Grupos.....	47
2. RECOGIDA DE VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS.....	48
3. CARACTERIZACIÓN CLÍNICA	49
3.1 Fenotipado	49
3.2 Supervivencia	50
3.3 Funcionalidad y tasa de progresión	51
4. CARACTERIZACIÓN GENÉTICA.....	53
5. REALIZACIÓN DE RM	53
6. PREPARACIÓN Y PROCESADO DE LAS IMÁGENES.....	56
6.1. PREPARACIÓN DE LAS IMÁGENES	58
6.1.1. Eliminación del ruido y corrección de inhomogeneidades	58
6.1.2. Registro de las imágenes.....	60
6.1.3. Eliminación de artefactos.....	62
6.1.4. Normalización espacial y segmentación	63
6.1.5. Suavizado y parcelación con Atlas	65
6.2. PROCESADO DE LAS IMÁGENES.....	68
6.2.1. Análisis volumétrico cerebral	68
6.2.2. Espesor cortical	70
6.2.3. Cuantificación de hierro	72
6.2.3.1. Mapas T2*/R2	72
6.2.3.2. Imagen de susceptibilidad	74
7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	76
7.1. MODELO DIAGNÓSTICO.....	77

7.1.1 Integración de datos.....	77
7.1.2 Material y recursos utilizados	78
7.1.3 Preprocesado y análisis exploratorio	78
7.1.3.1. Preprocesado	79
7.1.3.2. Análisis exploratorio	79
7.1.3.2.1. Análisis univariantes y bivariantes	79
7.1.3.2.2. Análisis de Componentes Principales (PCA).....	80
7.1.3.2.3. Hotelling T2	80
7.1.4 Modelado	80
7.2 MODELOS PRONÓSTICOS Y DE ESTRATIFICACIÓN	82
8. INFORME ESTRUCTURADO y PROTOTIPO DE APLICACIÓN DIAGNÓSTICA...	83
9. COMITÉ DE BIOÉTICA	84
RESULTADOS.....	86
1. MODELO DIAGNÓSTICO	86
1.1. ANÁLISIS EXPLORATORIO.....	86
1.1.1 Análisis univariantes y bivariantes	86
1.1.2. Análisis de Componentes principales	86
1.1.3. Hotelling T2	87
1.2. MODELADO	88
1.2.1 Modelo variables automatizables	88
1.2.2 Técnicas de mejora.....	91
1.2.2.1 Sobremuestreo	91
1.2.2.2 Doble filtrado de variables.....	95
1.2.3 Modelo incorporación variables análisis visual SWI	98
1.2.4 Clasificador compuesto: votación suave.....	101
2. MODELOS PRONÓSTICOS Y DE ESTRATIFICACIÓN.....	103
3. DESARROLLO E IMPLANTACIÓN DEL INFORME ESTRUCTURADO	104
3.1 INFORME ESTRUCTURADO	104
3.2 INFORME ESTRUCTURADO CUANTITATIVO	106
3.3 PROTOTIPO DE APLICACIÓN DIAGNÓSTICA	110
3.4 UNIFICACIÓN DEL INFORME	¡Error! Marcador no definido.
DISCUSIÓN	113

1. PROTOCOLO DE RM CABEZA PARA VALORACIÓN DE LA ELA	113
2. PREPARACIÓN Y PROCESADO DE IMÁGENES	116
3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	119
3.1 MODELO DIAGNÓSTICO.....	123
3.2 MODELOS PRONÓSTICOS Y DE ESTRATIFICACIÓN	134
4. INFORME ESTRUCTURADO.....	137
FORTALEZAS Y LIMITACIONES	141
1. FORTALEZAS	141
2. LIMITACIONES	141
CONCLUSIONES.....	145
BIBLIOGRAFÍA	149

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Proceso de clasificación de los pacientes con sospecha de ELA.

Figura 2: Proceso de clasificación de los familiares a riesgo en portadores y controles.

Figura 3: RM de alto campo 3 Tesla (*Signa HDxt, GE Healthcare, Milwaukee, USA*).

Figura 4: Flujo de trabajo para la extracción y análisis de biomarcadores de imagen en los sujetos del estudio a partir de las exploraciones de RM con protocolo ELA.

Figura 5: Ejemplo de corrección de inhomogeneidades de imagen.

Figura 6: Ejemplo de proceso de normalización de imagen.

Figura 7: Atlas utilizado, atlas de Harvard-Oxford modificado que muestra las regiones en las que se ha parcelado el encéfalo con diferentes colores.

Figura 8: Ejemplo de la segmentación de la circunvolución precentral.

Figura 9: Ejemplo de representación de la parcelación cerebral y su mapa de espesor cortical.

Figura 10: Ejemplo de mapa $R2^*$ en el córtex motor primario de un paciente.

Figura 11: Escala visual de la valoración de la hipointensidad de señal en la secuencia SWAN del córtex motor primario.

Figura 12: Diagrama de la arquitectura del modelo diagnóstico que incluye los hiperparámetros optimizados.

Figura 13: Proyecciones de los datos en las dos primeras componentes principales.

Figura 14: Gráfico del análisis Hotelling T2 del grupo control y del grupo ELA.

Figura 15: Matrices de confusión para el mejor clasificador, SVC con todas las variables automatizables.

Figura 16: Diagrama de la arquitectura a la que se ha añadido el sobremuestreo

Figura 17: Matrices de confusión para LogReg con ADASYN, el mejor clasificador encontrado con sobremuestreo.

Figura 18: Variables con mayor coeficiente del modelo LogReg con ADASYN.

Figura 19: Diagrama de la arquitectura a la que se ha añadido el filtrado por *feature importance*.

Figura 20: Matrices de confusión para SVC con todas las variables automatizables, el mejor clasificador encontrado con doble filtrado.

Figura 21: Matrices de confusión para SVC con doble filtrado habiendo integrado las variables de análisis visual.

Figura 22: Matrices de confusión para LogReg con las variables de análisis visual.

Figura 23: Matrices de confusión para el mejor clasificador compuesto por votación suave con todas las variables automatizables y las variables de análisis visual.

Figura 24: Informe estructurado de ELA.

Figura 25: Plantilla de informe cuantitativo de volumetría de todas las regiones.

Figura 26: Plantilla de informe cuantitativo de volumetría de la circunvolución precentral.

Figura 27: Interfaz del prototipo de aplicación diagnóstica.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Criterios de El Escorial revisados.

Tabla 2: Variables demográficas y clínicas recogidas.

Tabla 3: Escala clínica de afectación de MNS.

Tabla 4: Versión española de la escala revisada de valoración funcional de la ELA ALSFRS-R.

Tabla 5: Descripción de las 132 regiones del atlas probabilístico de parcelación, con 48 regiones corticales por hemisferio y 21 subcorticales. No todas las regiones presentan lateralidad (*right / left*).

Tabla 6: Descripción de las 12 regiones en las que se calcula R2*.

Tabla 7: Resumen del conjunto de datos inicial.

Tabla 8: Resumen del conjunto de datos final utilizado para el modelado.

Tabla 9: Resultados de los mejores modelos de la arquitectura inicial con las variables automatizables.

Tabla 10: Resultados de los mejores modelos que incluyen todas las variables después de añadir la técnica de sobremuestreo.

Tabla 11: Resultados de los mejores modelos una vez añadida la técnica de doble filtrado.

Tabla 12: Resultados de los mejores modelos incorporando las variables del análisis visual.

Tabla 13: Resultados de los clasificadores compuestos por votación suave.

Tabla 14: Resumen de los principales trabajos en los que se han aplicados técnicas de Aprendizaje Automático a variables radiómicas para el desarrollo de modelos diagnósticos.

ABREVIATURAS

ADASYN: *ADaptive SYNthetic*.

ALSFRS-R: escala revisada de valoración funcional de la Esclerosis Lateral Amiotrófica, del acrónimo inglés *Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale*.

ANTs: herramientas avanzadas de normalización, del acrónimo inglés *Advanced Normalization Tools*.

AUC: área bajo la curva ROC, del acrónimo inglés *area under the ROC curve*.

DTI: imagen con tensor difusión, del acrónimo inglés *diffusion tensor imaging*.

ELA: esclerosis lateral amiotrófica.

EMG: electromiografía con aguja.

KMN: K-vecinos más cercanos, del acrónimo inglés *k-nearest neighbors*.

LASSO: del acrónimo inglés *least absolute shrinkage and selection operator*.

LogReg: regresión logística.

MNI: motoneurona inferior.

MNS: motoneurona superior.

PACS: sistema de archivo y comunicación de imágenes, del acrónimo inglés *Picture Archiving and Communication System*.

PET: tomografía por emisión de positrones.

RM: resonancia magnética.

SMOTE: *Synthetic Minority Oversampling Technique*.

SBM: morfometría basada en superficie, del acrónimo inglés *surface based morphometry*.

SVC: clasificadores de vectores soporte, del acrónimo inglés *Support Vector Classifier*.

SVM: máquinas de vectores soporte, del acrónimo inglés *Support Vector Machines*.

SWAN: secuencia de susceptibilidad angiográfica, del acrónimo inglés *susceptibility weighted angiography*.

SWI: imagen de susceptibilidad, del acrónimo inglés *susceptibility weighted imaging*.

TC: tomografía computarizada

TDP-43: del acrónimo inglés *transactive response DNA binding protein 43*.

VBM: volumetría basada en vóxel, del acrónimo inglés *voxel based morphometry*.

VBR: relajometría basada en vóxel, del acrónimo inglés *voxel based relaxometry*.

INTRODUCCIÓN

1. CONCEPTO DE LA ELA

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA), también conocida como enfermedad de Lou Gehrig, fue descrita hace más de 140 años por Jean-Martin Charcot (1). Se trata de una entidad clínico-patológica que agrupa una serie de enfermedades neurodegenerativas heterogéneas de curso fatal caracterizadas clínicamente por la debilidad progresiva y patológicamente por la degeneración de la motoneurona superior (MNS) en la corteza motora primaria y/o de la motoneurona inferior (MNI) en el tronco de encéfalo y médula espinal, y la presencia de depósitos de proteínas mal plegadas (2). Aunque clásicamente se ha calificado la ELA como una enfermedad exclusiva de las motoneuronas, actualmente se le considera una enfermedad neurodegenerativa multisistémica; la afectación de las motoneuronas es selectiva y en mayor grado, pero también existe afectación de regiones extramotoras, particularmente en los lóbulos frontal y temporal (3–5).

2. EPIDEMIOLOGÍA

Los estudios epidemiológicos han estimado la incidencia anual mundial de la ELA entre el 0,6 y 3,8/100 000 personas (6). En Europa la incidencia anual es relativamente homogénea y se sitúa entre el 2,1 y 3,8/100 000 personas (7,8). Sin embargo, su incidencia parece ser algo menor en la cuenca mediterránea (9,10). Debido a su elevada y rápida mortalidad, su prevalencia es relativamente baja, de entre 4,1 y 8,4 por 100 000 personas (6), por lo que se considera una enfermedad rara.

La edad de presentación es variable, con un pico de incidencia que se encuentra entre los 51 y 66 años (6,11,12). Afecta más a los hombres, con una relación hombre mujer 3:2 (6).

La supervivencia media desde el inicio de los síntomas es solamente de unos 2 o 3 años. La causa de la muerte es normalmente la insuficiencia respiratoria debida a la debilidad muscular progresiva (13). La enfermedad es sin embargo variable en su curso, con grandes diferencias individuales. Como ejemplo, un pequeño porcentaje de pacientes presenta una supervivencia superior a los 10 años (14).

3. ETIOLOGÍA y BASES GENÉTICAS

La ELA ya no se considera como una enfermedad con una causa única, sino como un síndrome clínico-patológico causado por una compleja interacción de factores ambientales, factores genéticos y una pérdida de la homeostasis celular ligada a la edad (15).

La mayor parte de los casos (90%) no tienen una causa reconocida y se denominan ELA esporádica, el 10% de los casos restantes tienen una historia familiar de ELA o demencia frontotemporal, y se denominan ELA familiar (16). Se han descrito más de 30 genes potencialmente causales, siendo los más frecuentes SOD1, C9ORF72, FUS, and TARDBP (17). Estos genes causales se reconocen en aproximadamente el 50-70% de los casos familiares y en una pequeña proporción de los casos esporádicos (18). La mayor parte de estos genes se heredan de forma autosómico dominante, aunque la penetrancia suele ser incompleta y existe un número mayor de lo esperado con dos o más mutaciones (19). En este sentido se le considera como una enfermedad de base oligogénica, donde varias mutaciones pueden actuar de forma concomitante, y

en la que determinados factores no genéticos y en gran medida desconocidos modificarían el riesgo de padecerla (20,21).

4. MECANISMOS/FISIOPATOLOGÍA e HISTOLOGÍA

No se conoce con precisión la fisiopatología de la ELA. Los mecanismos que pueden contribuir a la aparición de la enfermedad son complejos y multifactoriales. Entre estos múltiples eventos se incluyen la alteración en el metabolismo del ARN, la alteración en la homeostasis de las proteínas, los defectos en el transporte nucleocitoplasmático, la alteración en la reparación del ADN, la excitotoxicidad, la disfunción mitocondrial, el estrés oxidativo, la disrupción en el transporte axonal, la neuroinflamación, la disfunción de los oligodendrocitos y los defectos en el transporte vesicular (22–24).

La ELA tiene una neuropatología particular. Su hallazgo histopatológico distintivo es la pérdida de motoneuronas (MNS y MNI) y la degeneración asociada de los tractos corticoespinales (25,26).

Los hallazgos macroscópicos son variables e incluyen: 1) la atrofia leve del córtex frontal y temporal, 2) la pérdida de volumen del tracto corticoespinal 3) la atrofia de la médula espinal con adelgazamiento de las raíces ventrales y 4) la atrofia muscular (23,25,27).

Entre los cambios microscópicos observados en el sistema nervioso central destacan: 1) la pérdida de motoneuronas en la médula y de neuronas piramidales en el córtex motor; 2) la astrogliosis reactiva alrededor de las neuronas degeneradas; 3) la activación microglial en las regiones afectas; 4) la presencia de cuerpos de inclusión ubiquitinados de morfología lineal, de madeja o compacta, en el citoplasma de las motoneuronas y ocasionalmente en de las células gliales; y 5) la presencia de hierro en forma de ferritina en la microglía activada de las capas media y profunda del córtex motor (23,25,28–30). La

proteína TDP-43 (acrónimo del inglés *transactive response DNA binding protein 43*) es el principal componente de los cuerpos de inclusión ubiquitinados, aunque no está presente de forma invariable en la enfermedad (25), ya que en los pacientes portadores de mutaciones en SOD1 y FUS, son estas proteínas las que se encuentran en los cuerpos de inclusión. Es de destacar que estos cuerpos de inclusión también se encuentran en otras enfermedades neurodegenerativas, como la demencia frontotemporal, con la que comparte características clínicas e histopatológicas, y por lo que actualmente se considera a ambas enfermedades como los dos extremos del mismo espectro nosológico (31,32).

5. ELA y HIERRO

En diversas enfermedades neurodegenerativas, tales como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson o la ELA, se ha demostrado la existencia de una alteración en la homeostasis del hierro con acúmulo de este material en las regiones cerebrales afectas por la neurodegeneración. Además, su concentración tisular se ha relacionado con la gravedad de la enfermedad (33). En la ELA se ha observado una alteración en la regulación del hierro, tanto en las formas esporádica como familiar, y en los modelos de ratón (34–37). Además, cada vez existe una mayor evidencia de la implicación del acúmulo de hierro en el inicio y la progresión de la enfermedad. Aunque el papel exacto de la alteración en el metabolismo del hierro en la enfermedad todavía no se conoce con precisión, parece que este metal participar al menos en el estrés oxidativo patológico y en la ferroptosis, un mecanismo de muerte celular dependiente del hierro descrito recientemente (38,39). Existe así pues cada vez mayor evidencia que el acúmulo de hierro patológico en el córtex motor primario y en la médula espinal es un hallazgo distintivo de la enfermedad. La microglía cataboliza los

detritus celulares lo que explica el alto nivel de ferritina en el interior de estas células en las regiones afectas (30,40).

Todavía no se conoce la etiología de esta alteración del metabolismo del hierro, su papel preciso en la fisiopatogenia, ni su potencial como marcador diagnóstico, pronóstico e incluso diana terapéutica (40). En esta Tesis Doctoral se reforzará su valor muy prometedor al menos en el diagnóstico y gradación de la ELA, debido a la excelente capacidad de la RM para su detección y cuantificación.

6. CLÍNICA, DIAGNÓSTICO y TRATAMIENTO

6.1 Clínica

Como hemos comentado la ELA comprende un amplio grupo de enfermedades que, pese a compartir una base clínico-patológica común, presentan una amplia heterogeneidad fenotípica que viene principalmente determinada por 5 características independientes (41–43):

1. La región del de inicio de los síntomas. La ELA típicamente comienza en una región corporal, las más frecuentes son las extremidades (superiores e inferiores) y región bulbar (lengua, mandíbula, cara y faringe), y en hemicuerpo. Es decir, normalmente la afectación inicial es focal y con la evolución se propaga a las regiones contiguas (44).
2. Afectación relativa de MNS y MNI. En la mayor parte de situaciones existe una afectación en grado variable de ambas motoneuronas, aunque en una pequeña proporción solo presentan clínica de afectación de la MNS (esclerosis lateral primaria) o de la MNI (atrofia muscular progresiva).

3. Tasa de progresión, que es la velocidad de desarrollo y propagación de los déficits de la enfermedad.
4. Presencia de déficits no motores. La ELA es una enfermedad multisistémica neurodegenerativa que incluye un amplio espectro de síntomas no motores que incluso pueden dominar el cuadro clínico y, como se ha descrito anteriormente, puede formar parte de un espectro continuo con la demencia frontotemporal (45). En este sentido, más del 50% de los pacientes presentan cierto grado de disfunción frontotemporal (46); por lo que la detección y tratamiento de estos síntomas de afectación cognitiva y del comportamiento son parte fundamental del cuidado de los pacientes con ELA (45). Además, también pueden presentar otros síntomas o signos sensitivos o disautonómicos como alteraciones de la tensión arterial, prolongación del intervalo QT en el electrocardiograma o disminución de la sensación vibratoria (47,48).
5. Edad de presentación. La edad de presentación es variable. El pico de incidencia se encuentra entre los 51 y 66 años (6,11), pero una pequeña proporción debuta antes de los 35 años e incluso después de los 80 (43).

6.2 Diagnóstico

El diagnóstico de la ELA es clínico (43). Los criterios diagnósticos actuales [criterios revisados El Escorial (Tabla 1) y criterios Awaji] se han diseñado principalmente para los ensayos clínicos y, aunque son muy específicos, muestran una limitada sensibilidad debido a la frecuente ausencia de signos de MNS o MNI en la presentación clínica, por lo que resultan poco útiles en la práctica asistencial (43,49).

Nivel de certeza diagnóstica	Características clínicas
ELA clínicamente definida	Signos clínicos de MNS y MNI en 3 regiones.
ELA clínicamente probable	Signos clínicos de MNS y MNI en 2 regiones y obligatoriamente algún signo de MNS rostral a signos de MNI
ELA clínicamente probable con apoyo de laboratorio	Signos de clínicos de MNS y MNI en una región o signos clínicos solo de MNS ≥ 1 región; y signos de afectación de MNI en EMG ≥ 2 regiones exclusión de otras causas en RM y con pruebas de laboratorio
ELA clínicamente posible	Signos clínicos de MNS y MNI en una región o signos clínicos de MNI en ≥ 2 regiones o signos clínicos de MNI rostrales a los de MNS y exclusión mediante EMG de otros diagnósticos pero sin criterios de afectación de MNI en 2 regiones exclusión de otras causas en RM y con pruebas de laboratorio

MNS: motoneurona superior
MNI: motoneurona inferior
Regiones: lumbar, cervical, torácica y lumbo-sacra

EMG: electromiografía
RM: resonancia magnética

Tabla 1. Criterios de El Escorial revisados (50)

Recientemente se han introducido unos nuevos criterios que permiten el diagnóstico de la enfermedad en ausencia de afectación clínica de MNS (51). Pese a mejorar su sensibilidad, ésta sigue siendo limitada (52), especialmente en fases iniciales de la enfermedad. Es más, el diagnóstico sigue dependiendo de cuatro pilares básicos:

1. La presencia de síntomas y signos de afectación de MNI y MNS. La afectación de MNI se manifiesta como atrofia, debilidad y fasciculaciones. Esta afectación se puede confirmar mediante electromiografía con aguja (EMG), que permite adelantarse varios meses a la afectación clínica manifiesta (53). La afectación de la MNS

se puede evidenciar por la existencia de reflejos exaltados y espasticidad. No obstante, la existencia de afectación concomitante de MNI puede enmascarar esta clínica, especialmente en las etapas precoces de la enfermedad, al reducir la fuerza muscular y los reflejos (54). Así, los signos de MNS pueden estar ausentes hasta en un 30% de los pacientes en fases iniciales (55), e incluso en algunos fenotipos de la enfermedad pueden no aparecer nunca. Para mejorar la evaluación de la MNS se ha utilizado también la estimulación magnética transcraneal, con unos resultados discretos que no han servido como indicadores sensibles de gravedad ni de pronóstico de la enfermedad (56).

2. La existencia de signos neurofisiológicos compatibles con afectación de MNI. Desafortunadamente la EMG tiene entre sus principales limitaciones la molestia que causa al paciente y la reducida sensibilidad que presenta para la detección de las fasciculaciones, especialmente en los grupos musculares en los que sea difícil conseguir el reposo muscular como la musculatura bulbar (57). Es por ello que se está imponiendo la utilización de la ecografía muscular para la detección precoz de las fasciculaciones en algunos casos (58).
3. La constatación de progresión clínica por anamnesis o seguimiento, algo que no siempre es posible en las fases iniciales de la enfermedad.
4. La exclusión de otras condiciones que pueden simular la enfermedad (ELA-*mimic*). Los ELA-*mimic* son una gran variedad de patologías, algunas de ellas muy frecuentes como la mielorradiculopatía compresiva o la enfermedad de pequeño vaso cerebral, que producen signos de MNS y/o MNI que pueden simular una ELA (59). Al ser tan prevalentes algunas de ellas, con frecuencia coexisten con la ELA, dificultando el diagnóstico en fases iniciales. Así, hasta un 10% de los pacientes con ELA llegan a ser operados de distintas patologías (túnel

carpiano, estenosis del conducto espinal, etc.) por un diagnóstico incorrecto (60).

Hasta el momento no se dispone de un biomarcador fiable de la enfermedad que permita diferenciar a los pacientes con ELA de los *mimics* y confirmar el diagnóstico. Esta limitación, sumada a la gran heterogeneidad fenotípica y a la limitada sensibilidad diagnóstica de los criterios actuales, tiene 2 principales consecuencias negativas (42):

1. Retraso en el diagnóstico de aproximadamente 12 meses, lo que supone aproximadamente un tercio de la expectativa de vida del paciente e impide instaurar un tratamiento neuroprotector precoz (61,62).
2. Entorpecimiento en el reclutamiento de pacientes e interpretación de los resultados de respuesta en los ensayos clínicos (42).

6.3 Tratamiento

El tratamiento se basa fundamentalmente en el manejo multidisciplinar de los síntomas, dando asistencia a familiares y pacientes para mantener su independencia y calidad de vida.

Los fármacos utilizados en su tratamiento, como el riluzol y edavarone, han mostrado una eficacia muy limitada, aumentando la supervivencia en pocos meses en un porcentaje variable de pacientes (61,62). Algunos autores han planteado que algunos ensayos no han mostrado eficacia por las limitaciones en las medidas de respuesta clínica y análisis utilizados (63).

7. BIOMARCADORES

7.1 Concepto y clasificación

Los biomarcadores son todas aquellas características medibles de forma objetiva que se comportan como indicadores subrogados de procesos biológicos normales, cambios patológicos o respuestas farmacéuticas. De ellos, los biomarcadores de imagen son los parámetros cuantitativos subrogados que se han extraído computacionalmente de las imágenes médicas (64). Se pueden extraer biomarcadores a partir de cualquier modalidad de imagen, aunque la Resonancia Magnética (RM) destaca por su gran versatilidad para estudiar y analizar distintos tejidos y diferentes procesos (65). Las características subrogadas obtenidas vóxel-a-vóxel se pueden representar como mapas paramétricos donde la distribución y la magnitud del cambio permiten el análisis de la localización y heterogeneidad espacial del evento subrogado. Además, se pueden analizar los cambios en los estudios longitudinales, considerándose que pueden estar resueltas también en el tiempo (64).

Los biomarcadores se pueden clasificar según su aplicabilidad en (64,66):

1. Biomarcadores diagnósticos: aquellos que detectan una enfermedad concreta e, idealmente, de forma precoz. En la ELA deben presentar una elevada sensibilidad y singularmente una alta especificidad por su devastador curso y las graves repercusiones de un diagnóstico de estas características.
2. Biomarcadores farmacodinámicos o de progresión: aquellos que permiten monitorizar la respuesta a un tratamiento o la evolución de la enfermedad.
3. Biomarcadores pronósticos o predictivos: aquellas características que determinan la probabilidad o el tiempo estimado a un evento clínico, y que deben ser capaces de predecir para un paciente dado la evolución de su enfermedad, su pronóstico y su supervivencia.

7.2 Valoración de MNI y MNS

En la ELA es una prioridad el desarrollo de biomarcadores debido a la limitada sensibilidad y el retraso en el diagnóstico con los criterios clínicos actuales, por la dificultad al caracterizar fenotípicamente la expresión en cada paciente, y por las limitaciones para monitorizar el tratamiento y la progresión de la enfermedad.

7.2.1. Valoración MNI

Para la valoración de la afectación de MNI, además de la evaluación de la clínica, consistente en el análisis de la atrofia, debilidad y fasciculaciones, se dispone de técnicas de electrodiagnóstico mediante estudios de conducción nerviosa y EMG. Estas técnicas se deben realizar en todos los pacientes con sospecha de enfermedad de motoneurona y se incluyen en los criterios diagnósticos actuales (67). La EMG es la técnica más importante para apoyar el diagnóstico de la ELA, ya que posibilita descartar otras neuropatías potencialmente tratables y permite adelantar el diagnóstico varios meses frente a la afectación clínica manifiesta (53,67). Las principales limitaciones de esta técnica son la gran variabilidad interobservador, la dificultad para realizarla en todas las regiones anatómicas, su baja aceptabilidad para estudios seriados por la molestia que causa, y la reducida sensibilidad para la detección de fasciculaciones, especialmente en grupos musculares en los que conseguir el reposo muscular es difícil (57). Por estos motivos se está utilizando como alternativa, e incluso de forma complementaria, la ecografía muscular, habiéndose demostrado su utilidad en la evaluación en tiempo real de las fasciculaciones y su relación final con variables clínicas (58).

7.2.2. Valoración MNS

La valoración de la afectación de MNS es esencialmente clínica y se puede evidenciar por la existencia de hiperreflexia con propagación patológica del reflejo, espasticidad, preservación de reflejos en miembros fatigados y por el signo de Babinski (50). La presencia de estos signos clínicos es de gran relevancia para apoyar el diagnóstico de ELA, pero pueden estar enmascarados por la afectación concurrente de la MNI al reducir la fuerza muscular y los reflejos, especialmente en las etapas precoces de la enfermedad (54). Es pues crítico el desarrollo de biomarcadores objetivos de afectación de MNS para el diagnóstico de la ELA ya que inicialmente sus signos clínicos están ausentes hasta en el 30% de los pacientes en el momento del diagnóstico (68,69) y los síndromes de afectación exclusiva de MNI pueden estar causados por otras enfermedades diferentes de la ELA como la atrofia muscular progresiva, otras neuropatía motoras, la enfermedad de Kennedy y la atrofia muscular espinal de inicio en el adulto (56,70,71). La gran heterogeneidad fenotípica de la enfermedad, sumado a esta ausencia de biomarcador de MNS y a la limitada sensibilidad de los criterios clínicos actuales, tiene las siguientes consecuencias negativas (42,56):

1. Mayor retraso diagnóstico, que oscila entre los 13 y los 18 meses, mayor en las formas de afectación exclusiva de MNI (69,72).
2. Retraso en la instauración de tratamientos neuroprotectores y al acceso a un manejo óptimo del paciente.
3. Imposibilidad de reclutar a los pacientes con fenotipos incompletos (afectación exclusiva de MNI) o que no cumplen estrictamente los criterios clínicos establecidos en los ensayos clínicos, interfiriendo en sus resultados (42,56).

Las principales técnicas para la valoración objetiva de la afectación de MNS son las electrofisiológicas y la neuroimagen.

7.2.2.1. Técnicas Electrofisiológicas

Entre las técnicas electrofisiológicas la que mayor potencial ha demostrado es la estimulación magnética transcraneal. Desafortunadamente, sus discretos resultados no han servido para situarlas como indicadores sensibles de gravedad ni de pronóstico de esta enfermedad (56). Además se han utilizado mayoritariamente en el campo de la investigación y presentan grandes limitaciones para la valoración seriada de la afectación (73).

7.2.2.2. Neuroimagen

Las dos técnicas de neuroimagen principales que se han utilizado para valorar la afectación de MNS han sido la tomografía por emisión de positrones (PET) y la resonancia magnética (RM).

7.2.2.2.1 Tomografía por emisión de positrones (PET)

La PET, empleando diferentes radiofármacos, tiene el potencial de evaluar *in vivo* procesos tan variados como el metabolismo glucídico cerebral, el metabolismo de los neurotransmisores, la unión a los neurorreceptores, la neuroinflamación y el estrés oxidativo. No obstante, aunque sus resultados son prometedores, la gran mayoría de estudios publicados tenían muy pocos pacientes incluidos, solo existe un mínimo número de estudios longitudinales y las correlaciones clínico-radiológicas no están suficientemente caracterizadas, y son habitualmente contradictorias (74). Además, debido a su coste y disponibilidad, su principal uso suele estar dirigido a los ensayos clínicos.

7.2.2.2.2 Resonancia Magnética (RM)

La RM es una técnica ampliamente disponible, inocua y accesible, que permite detectar y cuantificar de forma fiable y precisa los cambios estructurales, bioquímicos y funcionales en el sistema nervioso central de los pacientes.

Las exploraciones convencionales de RM de cabeza y médula se utilizan de forma rutinaria en la asistencia para descartar principalmente otras patologías que puedan simular la ELA (*ELA-mimic*) entre las que se incluyen lesiones cerebrales, lesiones de base de cráneo, mielopatía espondilótica cervical, otras mielopatías, lesiones del cono medular y radiculopatías (42). Los criterios revisados de la Federación Mundial del Grupo de Investigación en Neurología de las Enfermedades de Motoneurona recomiendan la RM estándar en los casos de ELA “probable” y “posible” y no la consideran necesaria en la enfermedad “definitiva” con síntomas de inicio en la región bulbar o pseudobulbar (50). Su principal limitación es la baja sensibilidad y especificidad en la detección de afectación de MNS en la ELA, especialmente en las etapas iniciales de la enfermedad (56).

Debido a las limitaciones de las exploraciones RM convencionales anteriormente descritas, se utilizan en la actualidad técnicas más avanzadas que permiten extraer computacionalmente diversos parámetros cuantitativos subrogados que se pueden comportar como indicadores de procesos biológico, tanto normales como patológicos o de respuesta al tratamiento. Con este propósito, y para obtener biomarcadores cuantitativos sensibles y objetivos de la afectación de MNS se han utilizado diferentes técnicas con un éxito variable, entre las más usadas se encuentran: imagen estructural [volumetría con morfometría basada en vóxel VBM (del acrónimo en inglés *voxel based morphometry*) y espesor cortical con morfometría basada en superficie SBM (del acrónimo inglés *surface based morphometry*)], imagen con

tensor de difusión DTI (del acrónimo inglés *diffusion tensor imaging*), espectroscopia, secuencias sensibles al hierro como las potenciadas en T2* y las potenciadas en susceptibilidad SWI (del acrónimo inglés *susceptibility weighted imaging*) e imagen de RM funcional (75).

Para los fines de esta Tesis Doctoral vamos a destacar la aproximación mediante volumetría, espesor cortical y secuencias sensibles al hierro, valorando su aplicación en el entorno clínico de pacientes con ELA.

7.3 Biomarcadores de imagen de afectación de MNS: morfometría basada en vóxel, espesor cortical y secuencias sensibles al hierro.

7.3.1. Morfometría basada en vóxel (VBM)

Las RM de alta resolución espacial permiten el análisis detallado de la estructura morfológica y estructural, posibilitando la detección de atrofia focal y las diferencias en la sustancia gris y blanca frente al patrón de referencia ajustado por variables confusoras como la edad y el sexo. La VBM es una técnica de análisis automático que permite segmentar y cuantificar el volumen de la sustancia gris y blanca haciendo uso de una secuencia tridimensional potenciada en T1 de alta resolución espacial (submilimétrica). Se trata de una técnica que analiza el cerebro completo, no requiere la suposición inicial de las regiones cerebrales que pueden estar afectadas por la enfermedad y posibilita la determinación de las anomalías estructurales directamente a partir de los datos de imagen de forma no sesgada (76). La VBM es una técnica objetiva que permite discernir entre sustancia gris, sustancia blanca y líquido cefalorraquídeo, y estimar vóxel-a-vóxel su cantidad local. La VBM compara la clasificación de cada vóxel en pacientes y controles, obteniendo una valoración regional de la “densidad” de sustancia gris o blanca. Esta métrica se aproxima,

aunque no es estrictamente equivalente, a la atrofia en el sentido histológico estricto (75,77).

Los resultados de los estudios de VBM en la ELA han sido inconsistentes y no parece un biomarcador sensible de afectación de MNS (75,78,79). Aunque diversos estudios han demostrado una atrofia en la circunvolución precentral (76,80–88), otros trabajos no han podido replicar este resultado (76,80,89,90) y además existe significativa variabilidad en cuanto al grado y lateralidad de la afectación (91). Las discrepancias en la afectación de regiones extramotoras es aún mayor, variando considerablemente entre los diferentes estudios (75,78,79). Estos resultados dispersos se atribuyen a diferentes sesgos metodológicos entre los que se incluyen, tamaños muestrales pequeños, falta de un grupo de control, diferencias en el espectro clínico de la enfermedad, caracterización fenotípica insuficiente, diseño de estudios sin hipótesis clínica inicial, y ausencia de control de variables de confusión como la lateralidad y la asimetría de la afectación (75,91).

7.3.2. Morfometría basada en superficie (SBM): espesor cortical.

La divergencia de los resultados de los estudios de VBM con una escasa tasa de concordancia en la distribución y grado de la atrofia cerebral ha impulsado el uso de otras técnicas estructurales como la morfometría basada en superficie. Esta técnica SBM permite la reconstrucción de la superficie cortical mediante la definición precisa de los límites entre la sustancia gris con la sustancia blanca, y con el líquido cefalorraquídeo. Posteriormente, la corteza aislada puede dividirse en regiones basadas en la estructura de los giros y surcos y, de esta forma, obtener otros parámetros como el espesor cortical, mapas de curvatura, área de superficie y profundidad de los surcos (92). La SBM presenta una mayor fiabilidad y sensibilidad que la VBM para la detección de atrofia en el córtex motor primario, ya que descompone el volumen cortical en espesor cortical y

área de superficie, respetando la topología del córtex (93). De todos los parámetros que se pueden obtener, el espesor cortical es la métrica más sensible para la detección de la atrofia en las regiones motoras (94).

Los estudios de SBM en la ELA han mostrado de forma consistente una reducción del espesor cortical en el córtex motor primario (27,94–96). Además, la afectación de las regiones extramotoras se ha relacionado con el grado de discapacidad, progresión y duración de la enfermedad (97). La afectación del córtex temporal se ha asociado con una tasa de progresión mayor (94), mientras que la afectación frontotemporal y parietal es mayor en aquellos pacientes que asocian deterioro cognitivo (98,99).

7.3.3. Imagen del hierro

Como hemos visto, existe en la ELA un acúmulo patológico de hierro en el córtex motor primario, fundamentalmente en forma de ferritina englobada en la microglía activada de las capas medias y profundas (30,100–102). Las técnicas de RM que posibilitan la detección y la cuantificación de estos depósitos de hierro incluyen las secuencias potenciadas en T2 y T2*, la relajometría, la imagen de correlación de campo magnético y la secuencia SWI (75).

El hierro condiciona un acortamiento de los tiempos T2 y T2*, que es proporcional a su concentración y a la intensidad del campo magnético estático. Inicialmente ya se identificó un acortamiento del T2 en el córtex motor primario en una parte de pacientes con ELA (102–106), aunque este hallazgo no se confirmó posteriormente de forma fehaciente y resultó ser poco sensible y específico. Las secuencias eco de gradiente potenciadas en T2 tienen una mayor sensibilidad para la detección de estos depósitos de hierro (107,108), y varios estudios han demostrado que el acortamiento del tiempo de relajación T2* se corresponde histológicamente con un acúmulo de hierro en la microglía del córtex motor primario (30,102). Algunos estudios han utilizado una valoración

semicuantitativa basada en el acortamiento del tiempo $T2^*$, demostrando una buena precisión diagnóstica y una adecuada correlación con el grado de afectación motora y la progresión de la enfermedad. Estas correlaciones son más fiables cuando se hace uso de secuencias de alta resolución espacial y las imágenes se adquieren en equipos con campos de alta intensidad (30,109,110).

La relajometría es una técnica de análisis que permite la cuantificación de hierro. Sus principales métricas son las tasas de relajación transversa $R2$ ($=1/T2$) y $R2^*$ ($=1/T2^*$). Un trabajo ha demostrado que los valores de $R2^*$ en el cerebro se correlacionan adecuadamente con la cantidad de hierro determinada químicamente en especímenes postmortem (111). La relajometría basada en vóxel VBR (del acrónimo inglés *voxel based relaxometry*) es una técnica automatizada que permite el análisis de las tasas de relajación $R2$ y $R2^*$ vóxel-a-vóxel. Muy pocos estudios han valorado el hierro cerebral mediante relajometría en pacientes con ELA y su papel está por determinar. Un estudio demostró en los pacientes con ELA valores más elevados de $R2^*$ en la cabeza del núcleo caudado y una tendencia a la elevación de estos valores en los tractos corticoespinales (112). Sin embargo, otro estudio VBR demostró una reducción de la tasa de relajación en la circunvolución precentral derecha y en la porción ventral del puente en la localización del tracto corticoespinal (113).

La técnica de SWI es una secuencia eco de gradiente tridimensional adquirida con alta resolución espacial y con compensación completa de flujo. En esta secuencia se obtiene el contraste de la imagen mediante el uso de las diferencias de susceptibilidad entre los tejidos, lo que favorece la identificación del hierro que es una sustancia paramagnética. La imagen de SWI se obtiene de la combinación de los datos de la imagen eco de gradiente reconstruidos en la magnitud y la fase. Como en las secuencias $T2$ y $T2^*$, el hierro aparece hipointenso y es fácilmente identificable. Respecto a estas secuencias, la SWI proporciona un mayor contraste de imagen, siendo más sensible para la detección de depósitos anormales de hierro. Un estudio inicial en el que se

valoró cualitativamente la SWI demostró una baja precisión diagnóstica en la ELA (114). Sin embargo, en nuestro trabajo más reciente hemos demostrado que la valoración semicuantitativa de SWI en RM de 3T presentaba una buena sensibilidad con excelente especificidad para este diagnóstico (55), resultado que fue replicado recientemente en otro estudio (115). Otro trabajo previo que utilizó un método de imagen basado en la diferencia de fase, similar pero en parte diferente a la SWI, también obtuvo una alta precisión diagnóstica en la ELA (116).

El mapeo cuantitativo de susceptibilidad QSM (del acrónimo inglés *quantitative susceptibility mapping*) es una técnica que permite la obtención de medidas precisas de la distribución de la susceptibilidad magnética, computando para cada vóxel una cantidad escalar. Esta técnica posibilita la cuantificación fiable del hierro en todo el cerebro (117). Todos los estudios que han empleado esta secuencia QSM han demostrado un aumento de la susceptibilidad magnética en el córtex motor de los pacientes con ELA, con una alta especificidad para la enfermedad (118–122). El aumento de susceptibilidad magnética es mayor en las formas con predominancia de la afectación de la MNS y se relaciona con el grado de discapacidad y la duración de la enfermedad (118,119).

8. MACHINE LEARNING o APRENDIZAJE AUTOMÁTICO en la ELA

El *Machine Learning* o Aprendizaje Automático es una disciplina del campo de la Inteligencia Artificial que, a través de diferentes algoritmos, dota a los ordenadores de la capacidad de identificar patrones en datos masivos y elaborar predicciones como modelos estimativos diagnósticos o pronósticos.

De forma general, los algoritmos del Aprendizaje Automático se pueden clasificar en dos amplias categorías, según sean supervisados o no:

- Aprendizaje supervisado: el algoritmo produce una función que establece una correspondencia entre los atributos de entrada o variables independientes y los atributos de salida del sistema o variables dependientes. Las técnicas supervisadas pueden clasificarse a su vez en dos categorías principales: clasificación y regresión. En las de regresión las variables de salida son valores continuos, mientras que en las de clasificación son etiquetas de clase.
- Aprendizaje no supervisado: en este tipo de técnicas se introducen los datos de entrada sin etiquetar, sin intervención humana, y el algoritmo infiere patrones de un conjunto de datos sin referencia a resultados previamente conocidos o etiquetados. También se pueden clasificar en dos categorías principales: agrupaciones (*clustering*) y asociación. En la de agrupaciones se clasifican los datos de salida en grupos, mientras que en las de asociación se descubren reglas relacionales dentro del conjunto de datos.

El Aprendizaje Automático está evolucionando a una gran velocidad, y su desarrollo y aplicación en el campo de la medicina ha levantado un gran interés con un crecimiento exponencial de la investigación y publicaciones al respecto. Los modelos de Aprendizaje Automático presentan muchas ventajas respecto a las aproximaciones estadísticas clásicas para el modelado de bases de datos complejas, ya que de forma general no precisan suposiciones estrictas del carácter de los datos.

Estos modelos son aplicables a la práctica totalidad de los datos biomédicos, tales como variables clínicas, de laboratorio, biología molecular, genética y técnicas neurofisiológicas. Su aplicación a las características radiómicas extraídas de las imágenes médicas para detectar y cuantificar cambios estructurales, bioquímicos y funcionales, parece una solución idónea dado el número y carácter de las variables. Potencialmente, posibilita la decodificación

macroscópica del fenotipo de muchas estructuras anatómicas y fisiopatológicas y descifra el problema inverso de inferir el genotipo del fenotipo, lo que puede permitir la obtención de información útil para el diagnóstico, monitorización y pronóstico de la enfermedad.

Los modelos de Aprendizaje Automático y las grandes bases de datos multicéntricas y multipaís son una magnífica oportunidad para la evaluación de potenciales biomarcadores de la ELA (123). Su aplicación, pese a limitación de general del tamaño de las muestras por la inexistencia de estos amplios registros, está mostrando resultados prometedores en la obtención de modelos diagnósticos y predictivos.

La mayor parte de los proyectos de investigación en la ELA se centran en la valoración de biomarcadores para diferenciar los pacientes de los controles, pero lo que verdaderamente presenta relevancia clínica, es diferenciar los pacientes de los casos ELA-*mimic* que simulan la enfermedad (124). En la ELA, los modelos diagnósticos basados exclusivamente en biomarcadores de imagen han obtenido unas sensibilidades prometedoras superiores al 80% (125), y los modelos pronósticos, que utilizan mayoritariamente variables clínicas, mejoran sus resultados, incrementando su sensibilidad y precisión, cuando incorporan métricas radiómicas (126,127).

JUSTIFICACIÓN

La ELA presenta una gran heterogeneidad fenotípica, con un comienzo, presentación clínica y pronóstico diferentes, lo que conlleva mayor dificultad para precisar su diagnóstico y estratificar su progresión. A pesar de los continuos avances en medicina, su diagnóstico se basa en la interpretación de signos y síntomas clínicos, indicativos de degeneración de motoneurona superior e inferior, y en la progresión clínica característica de una enfermedad neurodegenerativa. En el momento actual, el papel de las pruebas complementarias consiste en confirmar la afectación de la MNI y descartar otras patologías (lo que no siempre es posible), pero no existe ningún biomarcador sensible y específico de la afectación de MNS, especialmente en las etapas iniciales de la enfermedad.

La heterogeneidad fenotípica de la enfermedad, la ausencia de un biomarcador fiable de su presencia y la limitada sensibilidad de los criterios clínicos utilizados para su diagnóstico, tienen consecuencias negativas en el manejo de pacientes con ELA (42). En primer lugar, por aumentar el retraso del diagnóstico y del inicio de tratamiento específico (aumentando también el riesgo de tratamientos potencialmente perjudiciales como la cirugía). Y en segundo, por dificultar la inclusión en los ensayos clínicos de pacientes con fenotipos iniciales o que no cumplen estrictamente los criterios clínicos establecidos, interfiriendo en sus resultados (42).

En este escenario, es una prioridad clínica el desarrollo de biomarcadores de MNS que ayuden a:

1. Comprender los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad.
2. Diferenciar pacientes con ELA de ELA *mimics*, especialmente en fases precoces de la enfermedad.
3. Predecir la progresión, supervivencia y respuesta al tratamiento.

4. Diferenciar endofenotipos de enfermedad.

En este contexto, la RM dedicada tiene un papel crucial ya que permite detectar y cuantificar los cambios estructurales, bioquímicos y funcionales en el cerebro de forma fiable y precisa. Se trata de una técnica ampliamente disponible, inocua y accesible, mediante la que se obtienen imágenes médicas de las que se extraen computacionalmente parámetros cuantitativos subrogados que se comportan como indicadores de procesos biológicos normales, cambios patológicos o respuestas al tratamiento. Su aplicación en el entorno clínico de pacientes con ELA es la base de esta Tesis Doctoral.

HIPÓTESIS

1. HIPÓTESIS CONCEPTUAL

Las enfermedades de motoneurona son un grupo de enfermedades degenerativas cuya expresión fenotípica es muy heterogénea. Hasta el momento no se dispone de ninguna prueba paraclínica que valore de forma fiable la afectación cerebral, siendo un reto el desarrollo de marcadores que permitan su evaluación especialmente en las etapas iniciales de la enfermedad. La RM permite cuantificar de forma no invasiva diversas propiedades estructurales, bioquímicas y funcionales del cerebro.

La aplicación de algoritmos de aprendizaje automático a variables radiómicas de RM de cabeza permite el desarrollo de modelos de diagnóstico, predicción y estratificación de pacientes con ELA. Estos modelos posibilitan la integración de información multiparamétrica; la combinación de métricas de volumetría, espesor cortical y hierro local, puede resultar una selección adecuada para su aplicación.

Los modelos diagnósticos proporcionan información relevante en el proceso clínico real, ya que generan una predicción cuantitativa de la probabilidad de riesgo de padecer la enfermedad, en lugar de una predicción dicotómica, y también incluyen el valor de incertidumbre de esta predicción; esta información puede ser interpretada por el clínico en el contexto del resto de pruebas y servir de ayuda para establecer el diagnóstico y así evitar su retraso y el manejo erróneo del paciente. Los modelos predictivos pueden igualmente presentar gran trascendencia en la toma de decisiones porque aportan información muy valiosa a nivel individual sobre la expresión de la enfermedad, velocidad de progresión y pronóstico.

2. HIPÓTESIS OPERATIVA

En pacientes con sospecha de ELA, las métricas derivadas de RM de cabeza de volumetría, espesor cortical e imagen del hierro, pueden utilizarse para la construcción de modelos de aprendizaje automático para un diagnóstico, predicción y estratificación de los pacientes más precisos. Los modelos diagnósticos son de gran valor clínico ya que permiten aumentar la exactitud del proceso diagnóstico, mientras que los modelos predictivos posibilitan identificar diferentes endofenotipos con distinto comportamiento o pronóstico.

OBJETIVOS

Se han estratificado los objetivos de esta Tesis Doctoral en tres apartados principales: un primer paquete técnico, centrado en el desarrollo de un protocolo de RM específico y un flujo automatizado de análisis de la imagen y extracción de biomarcadores; un segundo aspecto en el que se evaluará el valor diagnóstico y predictivo de los biomarcadores de imagen en esta enfermedad; y un tercer objetivo centrado en el desarrollo del informe estructurado contextual con un prototipo de aplicación clínica en pacientes con ELA.

1. TÉCNICOS

Entre los pasos necesarios para implementar una solución clínica basada en la extracción de información de las imágenes médicas es muy importante adquirir estas imágenes de la forma más adecuada y prepararlas para que las métricas extraídas sean robustas y reproducibles. Para ellos se tendrán en cuenta las siguientes acciones específicas.

1. Desarrollar un protocolo de RM de cabeza específico para pacientes con sospecha de ELA.
2. Establecer un flujo automatizado para la preparación y el procesado de las imágenes de RM con la finalidad de obtener los biomarcadores de imagen.
3. Calcular el grado de atrofia regional y el espesor cortical cerebral.
4. Detectar y cuantificar los depósitos de hierro en el cerebro mediante con secuencias potenciadas en la relajatividad y en la susceptibilidad de los tejidos.

2. DIAGNÓSTICOS

Este grupo de objetivos, considerado el núcleo de esta Tesis, se establece para evaluar el valor de los biomarcadores de imagen en el diagnóstico, pronóstico y estratificación de pacientes con ELA en sus distintas formas y presentaciones. Se pretende con ellos establecer el valor diagnóstico de las características radiómicas en el diagnóstico de la enfermedad mediante la aplicación de modelos estadísticos de inteligencia artificial. También se explorará la capacidad del análisis radiómico para clasificar fenotipos clínicos específicos según el grado de afectación de MNS y predecir el pronóstico y la velocidad de progresión de la enfermedad.

1. El principal objetivo es evaluar el valor diagnóstico de la combinación de la volumetría cerebral regional, el espesor cortical y la cuantificación de hierro local mediante el análisis y procesamiento digital de las imágenes de RM, a partir del desarrollo de modelos de aprendizaje automático. En concreto, el poder de discriminación del modelo entre pacientes con ELA y pacientes ELA-*mimic* con otras patologías neurológicas.
2. Calcular la utilidad de estos biomarcadores para desarrollar modelos predictivos que posibiliten pronosticar la evolución de la enfermedad mediante su correlación con la tasa de progresión y la supervivencia, y modelos de estratificación que permitan diferenciar fenotipos de la enfermedad según el grado de afectación de MNS.

3. INFORME ESTRUCTURADO Y APLICACIÓN DIAGNÓSTICA

El último grupo de objetivos relativo al desarrollo del informe estructurado contextual de la enfermedad y de una eventual aplicación diagnóstica futura, comprenderá los siguientes pasos:

1. Desarrollo de un informe estructurado con la valoración visual de la exploración realizada, que comprenderá toda la información considerada como relevante para el equipo multidisciplinar de la enfermedad. Se

confeccionará una plantilla con despleables con la estructura del informe radiológico clásico, además de la elaboración de pictogramas e información adicional explicativa.

2. Elaboración de un informe radiológico cuantitativo que incluya el resultado radiómico y los biomarcadores de imagen seleccionados, que se obtendrán de forma automatizada.
3. Preparación de un prototipo de aplicación digital como sistema de ayuda a la toma de decisiones en el diagnóstico, que incluya la selección de los biomarcadores y calcule la probabilidad de padecer la enfermedad.

METODOLOGÍA

1. POBLACIÓN A ESTUDIO

1.1 Criterios de inclusión

Todos los participantes elegibles incluidos en este estudio son pacientes con sospecha de ELA o familiares a riesgo que cumplan todos los criterios de inclusión que se describen a continuación:

- Personas mayores de 18 años, tanto hombres como mujeres no embarazadas.
- Personas capaces de comprender, comunicarse y firmar un consentimiento informado por escrito antes de la inclusión en el estudio.
- Personas a las que se les solicitó un estudio de RM con un equipo de alto campo (3 Teslas) y con un protocolo específico de enfermedad de motoneurona. Este protocolo se especifica en el apartado 5 de esta Tesis Doctoral.

1.2 Criterios de exclusión

Los pacientes que tenían cualquiera de los criterios que se describen a continuación fueron excluidos del estudio:

- Imposibilidad o contraindicación para la realización del estudio de RM (por ejemplo, por presentar prótesis o implantes que no sean compatibles con la RM).
- Fallo técnico en la realización de la RM o protocolo incompleto por cualquier motivo.
- Estudio de RM considerado como de calidad insuficiente (por ejemplo, por artefacto por movimiento).

- En el caso de los pacientes de ELA, se excluyeron aquellos en los que el diagnóstico inicial de ELA se había realizado con más de 3 meses de antelación a la realización de la RM.

1.3. Procedencia de los pacientes

Se incluyeron en el estudio de forma prospectiva y consecutiva los pacientes y familiares vistos desde febrero de 2014 hasta febrero de 2019 por la Unidad de ELA del Servicio de Neurología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Durante este periodo de 5 años se reclutaron 279 pacientes con sospecha de ELA y 54 familiares a riesgo (familiares de pacientes portadores de mutación genética) que cumplían todos los criterios de inclusión. La mayoría de pacientes en nuestro centro son visitados como segunda opinión, por lo que son derivados con la sospecha diagnóstica de ELA para confirmación.

De los 279 pacientes con sospecha de ELA, el diagnóstico de ELA se confirmó clínicamente con el seguimiento en 215 pacientes y se descartó en 64 pacientes. Los 64 pacientes en los que se descartó ELA y fueron diagnosticados con otras enfermedades constituyen el grupo *ELA-mimic*. De los 215 pacientes diagnosticados de ELA se excluyeron 28 pacientes por estudio de RM con protocolo incompleto o de calidad insuficiente, y 67 pacientes porque no estaban en una fase inicial de la enfermedad dado que presentaban más de 3 meses desde su diagnóstico inicial. El número final de pacientes que formaron parte del estudio fue de 120, habiéndose excluido un total de 95 pacientes. De los 64 pacientes *ELA-mimic* se excluyeron 6 pacientes por no disponer de un estudio de RM con el protocolo específico (Figura 1).

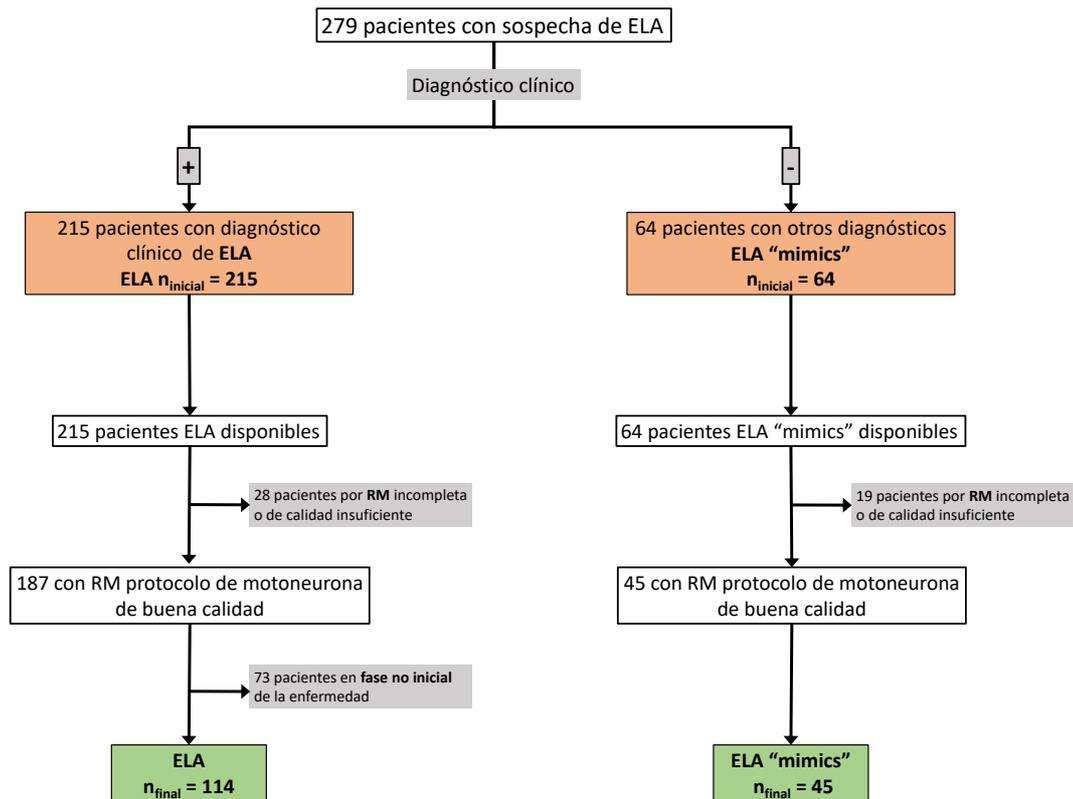


Figura 1. Proceso de clasificación de los pacientes con sospecha de ELA.

Los 54 familiares asintomáticos incluidos eran familiares de primer grado de pacientes con forma genética de ELA con una mutación conocida. En todos se estudiaron las mutaciones familiares. Los portadores de mutación relacionada fueron 24, y los 30 sujetos con estudio genético negativo se consideraron controles sanos (Figura 2).

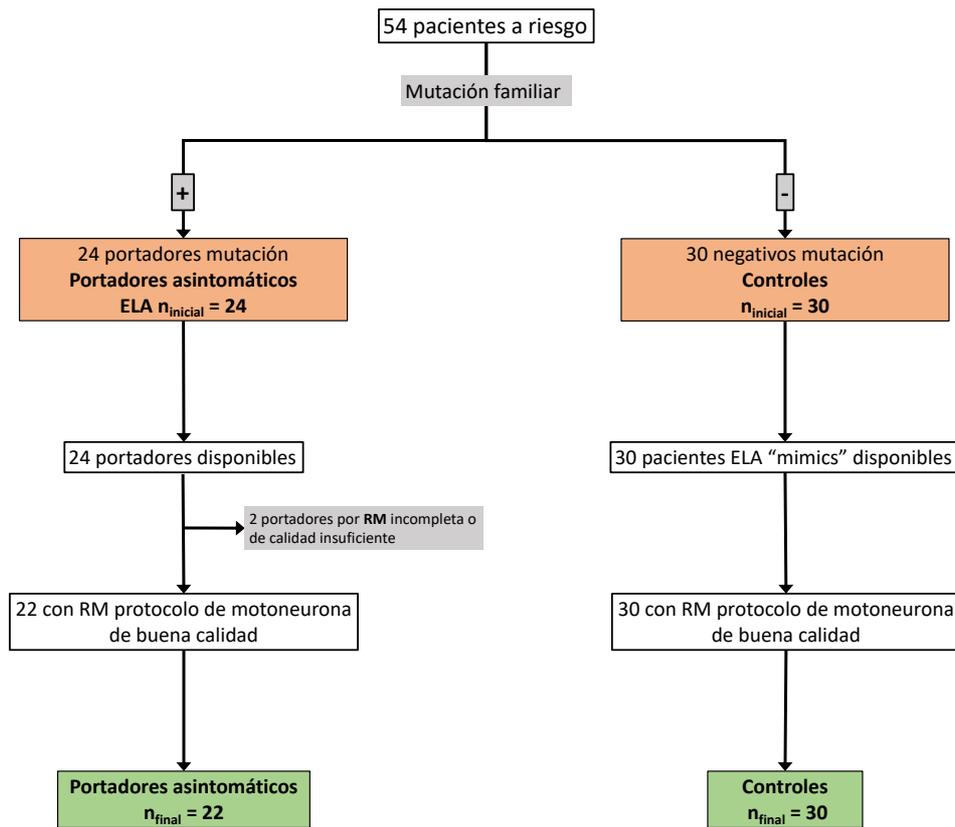


Figura 2. Proceso de clasificación de los familiares a riesgo en portadores y controles

1.4. Grupos

Se establecieron 4 grupos de sujetos según fueran pacientes ELA, ELA-*mimic*, familiares portadores asintomáticos de la mutación, o controles asintomáticos sin mutación.

Pacientes con ELA: 114 pacientes con diagnóstico clínico inicial de ELA, con menos de 3 meses desde el diagnóstico inicial, y posteriormente confirmado con la evolución.

ELA-mimic: 45 pacientes con sospecha o diagnóstico inicial ELA en la etapa de reclutamiento, pero que finalmente fueron diagnosticados con otras enfermedades. Estos pacientes son con los que se realiza fundamentalmente el diagnóstico diferencial en la práctica clínica.

Portadores asintomáticos: 22 familiares a riesgo que resultaron portadores de la mutación familiar, sin otras enfermedades neurológicas y con una exploración neurológica normal.

Controles: 30 familiares a riesgo que resultaron negativos para la mutación familiar, sin enfermedad neurológica y con exploración neurológica normal.

2. RECOGIDA DE VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS

En la unidad de ELA del Servicio de Neurología, el Dr. Vázquez Costa recogió en una base de datos Access creada *ad-hoc* las variables clínicas de forma tanto prospectiva como retrospectiva (Tabla 2).

Variables prospectivas:

- Demográficas: fecha de nacimiento, sexo, hábitos tóxicos (tabaquismo) e índice de masa corporal.
- Clínicas: fecha de inicio de síntomas, fecha de diagnóstico, la región y la lateralidad de inicio de los síntomas.

Variables retrospectivas recogidas mediante la revisión de las notas médicas de los diferentes sistemas de información y aportadas por los pacientes:

- Fecha y médico de primera consulta, especialistas visitados y fechas.
- Pruebas realizadas y fechas.
- Diagnóstico emitido por el neurólogo, fecha de diagnóstico.
- Fecha de inicio de riluzol.

VARIABLES DEMOGRÁFICAS	VARIABLES CLÍNICAS
Fecha de nacimiento	Fecha de inicio de los síntomas
Sexo	Fecha de primera consulta
Hábitos tóxicos (tabaquismo)	Médico de primera consulta
Índice de masa corporal (IMC)	Especialistas visitados y fecha
	Exámenes paraclínicos realizados
	Fecha de diagnóstico
	Región y lateralidad de inicio de los síntomas
	Fecha de riluzol

Tabla 2. Variables demográficas y clínicas recogidas.

3. CARACTERIZACIÓN CLÍNICA

3.1 Fenotipado

Prospectivamente, los pacientes con sospecha de ELA se clasifican en tres fenotipos según el grado de afectación clínica de MNS y MNI. Para cuantificar el grado de afectación de MNS se utiliza una escala (*UMN score*) cuyo uso está ampliamente extendido y se basa en la valoración de la exaltación patológica de reflejos en las extremidades y regiones bulbares. Su valor va de 0 (normal) a un máximo de 16 (afectación grave de MNS), evalúa la región bulbar (puntuación 0-2), los miembros superiores (puntuación 0-8) y los miembros inferiores (puntuación 0-6) (49,128) (Tabla 3).

Los 3 fenotipos establecidos fueron:

- Afectación de MNS nula o dudosa, predominio MNI: puntuación 0-1.
- Afectación de MNS moderada, forma ELA clásica: puntuación 2-10.
- Afectación de MNS grave, predominio MNS: puntuación 11-16.

Escala Afectación MNS		
Puntuación bulbar (total 0-2)		
0-1		Aumento del reflejo maseterino
0-1		Aumento del reflejo facial
Puntuación extremidades superiores (total 0-8)		
0-2		Aumento del reflejo tricipital
0-2		Aumento del reflejo bicipital
0-2		Aumento del reflejo supinador
0-2		Signo de Hoffman
Puntuación extremidad inferior (total 0-6)		
0-2		Aumento del reflejo patelar
0-2		Aumento del reflejo del tobillo
0-2		Signo de Babinski

Tabla 3. Escala clínica de afectación de MNS (49,128).

3.2 Supervivencia

Se siguió a los pacientes hasta el 15 de septiembre de 2022, recogiendo la fecha en la que se realizó traqueostomía o fallecieron. De esta forma se calculó la supervivencia libre de traqueostomía. La supervivencia media desde el inicio de los síntomas es de aproximadamente 3 años, pero existen formas rápidamente progresivas y un pequeño porcentaje de pacientes presenta una supervivencia mayor a los 5 años (13,14). Así, se clasificó a los pacientes tomando como referencia la supervivencia de la enfermedad en 3 grupos:

- Supervivencia corta: inferior a 3 años.
- Supervivencia media: entre 3 y 5 años.
- Supervivencia larga: superior a 5 años

3.3 Funcionalidad y tasa de progresión

La escala revisada de valoración funcional de la Esclerosis Lateral Amiotrófica ALSFRS-R (del acrónimo inglés *Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale*) es la escala más utilizada para la evaluación neurológica y funcional de los pacientes con ELA (129). Su aplicación es sencilla y rápida y se utiliza tanto en el ámbito clínico como de investigación. Esta escala consta de 12 ítems agrupados en 4 dominios funcionales (función bulbar, motora gruesa, motora fina y respiratoria) mediante los que se valora la progresión de enfermedad. Su valor va de 0 a 48, siendo 0 la peor puntuación y 48 la mejor (Tabla 4). La tasa de progresión de la enfermedad (delta, Δ FS) se valora como los puntos de la escala ALSFRS-R que el paciente ha perdido por mes hasta el momento de la evaluación. Varios estudios han demostrado su utilidad como biomarcador pronóstico de supervivencia (130,131) y su fórmula es la siguiente:

$$\Delta\text{FS} = (48 - \text{ALSFRS-R}) / \text{duración desde el inicio al diagnóstico}$$

I. Habla 4 Habla normal 3 Alteraciones en el habla detectables 2 Habla ininteligible con repeticiones 1 Habla combinada con comunicación no verbal 0 Pérdida del habla útil	VII. Acostarse y arroparse 4 Normal 3 Lento y torpe, no necesita ayuda 2 Puede darse la vuelta y acomodarse la sábana con dificultad 1 Puede iniciar la vuelta y el ajuste de sábana pero no completarlo 0 Incapaz de realizar el movimiento		
II. Salivación 4 Normal 3 Exceso de saliva en leve en boca; posible babeo nocturno 2 Exceso de saliva moderado; posible babeo mínimo 1 Exceso de saliva marcado con algo de babeo 0 Babeo marcado; requiere uso de pañuelo	VIII. Marcha 4 Normal 3 Primeras dificultades para la deambulación 2 Camina con asistencia 1 Movimientos funcionales no ambulatorios 0 Sin movimiento voluntario de piernas		
III. Deglución 4 Hábitos alimenticios normales 3 Pequeños problemas; ahogos ocasionales 2 Requiere cambios en la consistencia de los alimentos 1 Necesita alimentación suplementaria por tubo 0 Alimentación exclusiva enteral o parenteral	IX. Subir escaleras 4 Normal 3 Lento 2 Inestabilidad moderada o fatiga 1 Necesita asistencia 0 Incapaz		
IV. Escritura 4 Normal 3 Lenta y torpe, pero es legible 2 No todas las palabras son legibles 1 Capaz de sostener el bolígrafo pero incapaz de escribir 0 Incapaz de sostener el bolígrafo	X. Disnea 4 Sin disnea 3 Aparece cuando camina 2 Aparece con una o más de estas acciones: comer, bañarse o arreglo personal. 1 Aparece en reposo, cuando está sentado o recostado 0 Dificultad significativa, considerando el uso de soporte respiratorio mecánico		
Va. Manejo del cuchillo o de otros dispositivos (pacientes sin gastrostomía) 4 Normal 3 Algo lento y torpe, pero independiente 2 Puede cortar la mayor parte de alimentos, aunque torpe y lento, necesita algo de ayuda 1 Incapaz de cortar pero puede alimentarse lentamente 0 Necesita a alguien para comer	XI. Ortopnea 4 Normal 3 Alguna dificultad para dormir debido a la falta de aire; no usa habitualmente > 2 almohadas 2 Necesita almohadas adicionales para dormir (>2). 1 Solo puede dormir sentado 0 Incapaz para dormir sin asistencia		
Vb. Manejo del cuchillo o de otros dispositivos (pacientes con gastrostomía) 4 Normal 3 Torpe, capaz de manipular dispositivos 2 Necesita algo de ayuda con botones y cremalleras 1 Establece mínima asistencia al cuidador 0 Incapaz de realizar cualquier aspecto de la tarea	XII. Insuficiencia respiratoria 4 Ninguna 3 Uso intermitente de BiPAP 2 Uso continuo de BiPAP durante la noche 1 Uso continuo de BiPAP de día y de noche 0 Ventilación mecánica invasiva, con intubación o traqueostomía		
VI. Vestido e higiene 4 Función normal 3 Capaz de autocuidado con eficacia disminuida 2 Asistencia intermitente o utilización de métodos de alternativos 1 Necesidad de asistencia para el cuidado personal 0 Dependencia total			
Función bulbar: I-III	Función motora fina: IV-VI	Función motora gruesa: VII-IX	Función respiratoria X-XII

BiPAP: sistema de bipresión positiva

Tabla 4. Versión española de la escala revisada de valoración funcional de la ELA ALSFRS-R (129).

4. CARACTERIZACIÓN GENÉTICA

Se interrogó a todos los pacientes sobre sus antecedentes familiares de interés, específicamente sobre enfermedades neurodegenerativas como ELA y demencia. Los pacientes con antecedentes familiares de ELA o sugestivos de demencia frontotemporal que cumplían criterios de ELA familiar (132), se clasificaron como formas familiares (ELA_f). El resto de los pacientes se clasificaron como formas esporádicas (ELA_e).

En todos los pacientes (familiares y esporádicos) se estudió la expansión en C9ORF72 mediante la técnica de amplificación por reacción en cadena de la polimerasa con tres cebadores (133). Tras el análisis genético, se recalificó a los pacientes esporádicos portadores de mutación causales como ELA_f.

En los pacientes con ELA_f en los que no se encontró expansión en C9ORF72, se realizó un panel de genes en busca de mutaciones puntuales

En los familiares a riesgo se estudió la mutación correspondiente a su familiar afecto de ELA.

5. REALIZACIÓN DE RM

Se ha desarrollado en esta Tesis Doctoral un protocolo específico de estudio de RM de cabeza para estos pacientes. Esta exploración se realiza en el momento del diagnóstico y posteriormente cada 6 meses, mientras las condiciones del paciente lo permitan. Las exploraciones de seguimiento no forman parte de los objetivos de esta Tesis Doctoral y sus resultados no se han incorporado en este trabajo. Todas las exploraciones se llevaron a cabo con el mismo escáner de RM de alto campo 3 T (*Signa HDxt, GE Healthcare, Milwaukee, USA*) (Figura 3),

situado en el Servicio de Radiología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Se empleó una antena de cabeza transmisora-receptora de 8 elementos.



Figura 3. RM de alto campo 3 T (*Signa HDxt, GE Healthcare, Milwaukee, USA*).

El protocolo incluye las siguientes secuencias:

1. Secuencia FLAIR-FSE potenciada en T2.
 - 2D; FSE; plano transversal orientado en la línea subcallosa; TR=11000 ms; TE=150 ms; TI=2250 ms; FOV= 240 x 240 mm; matriz=256 x 256 mm; grosor de corte=2 mm; espaciado entre cortes=1 mm; ángulo de nutación (α)=90°; ancho de banda, 41,67 Hz/px.
 - Utilidad: valoración de la intensidad de señal del tracto corticoespinal intracraneal; valoración de otras enfermedades que simulen ELA, y evaluación de posible patología coexistente.
2. Secuencia SPGR potenciada en T1 de alta resolución espacial.

- 3D; eco de gradiente SPGR; transversal; TR=10,4 ms; TE=150 ms; TI=4,4 ms; FOV=240 x 240 mm; matriz=256 x 256 mm; tamaño de vóxel=1x1x1 mm³ isotrópico; ángulo nutación (α)=12°; ancho de banda=31,25 Hz/px.
 - Utilidad: análisis de volumetría mediante morfometría basada en vóxel (*Voxel-Based Morphometry*, VBM) y cuantificación de espesor cortical mediante morfometría basada en superficie (*Surface-Based Morphometry*, SBM).
3. Secuencia de Susceptibilidad potenciada en T2 estrella.
- 3D; SWAN (del acrónimo inglés *susceptibility weighted angiography*), secuencia angiográfica multi-eco de gradiente potenciada en T2 estrella; transversal; TR=43 ms; multieco número de ecos=9 con un TE centrado alrededor de 25 ms; FOV=240 x 240 mm; matriz=256 x 256 mm; grosor de corte=2 mm; espaciado entre cortes=1mm; ángulo nutación (α)=15°; ancho de banda=62,50 Hz/px.
 - Utilidad: valoración semicuantitativa mediante una escala visual de la susceptibilidad magnética para la detección y cuantificación indirecta del depósito de hierro en el margen posterior del córtex de la circunvolución precentral.
4. Secuencia potenciada en T2* multi-eco con mapa de relajatividad T2*
- 2D; Multi-Eco FGRE; transversal; TR=43,2 ms; multieco número de ecos=8 con TE=12 ms; FOV=260 x 260 mm; matriz=224 x 224 mm; grosor de corte=3,3 mm; espaciado entre cortes=1 mm; ángulo nutación (α)=25°; ancho de banda=125 Hz/px.
 - Utilidad: detección y cuantificación indirecta de hierro cerebral mediante el cálculo de la relajatividad.
5. Secuencia BOLD EPI T2* de estudio funcional en estado de reposo

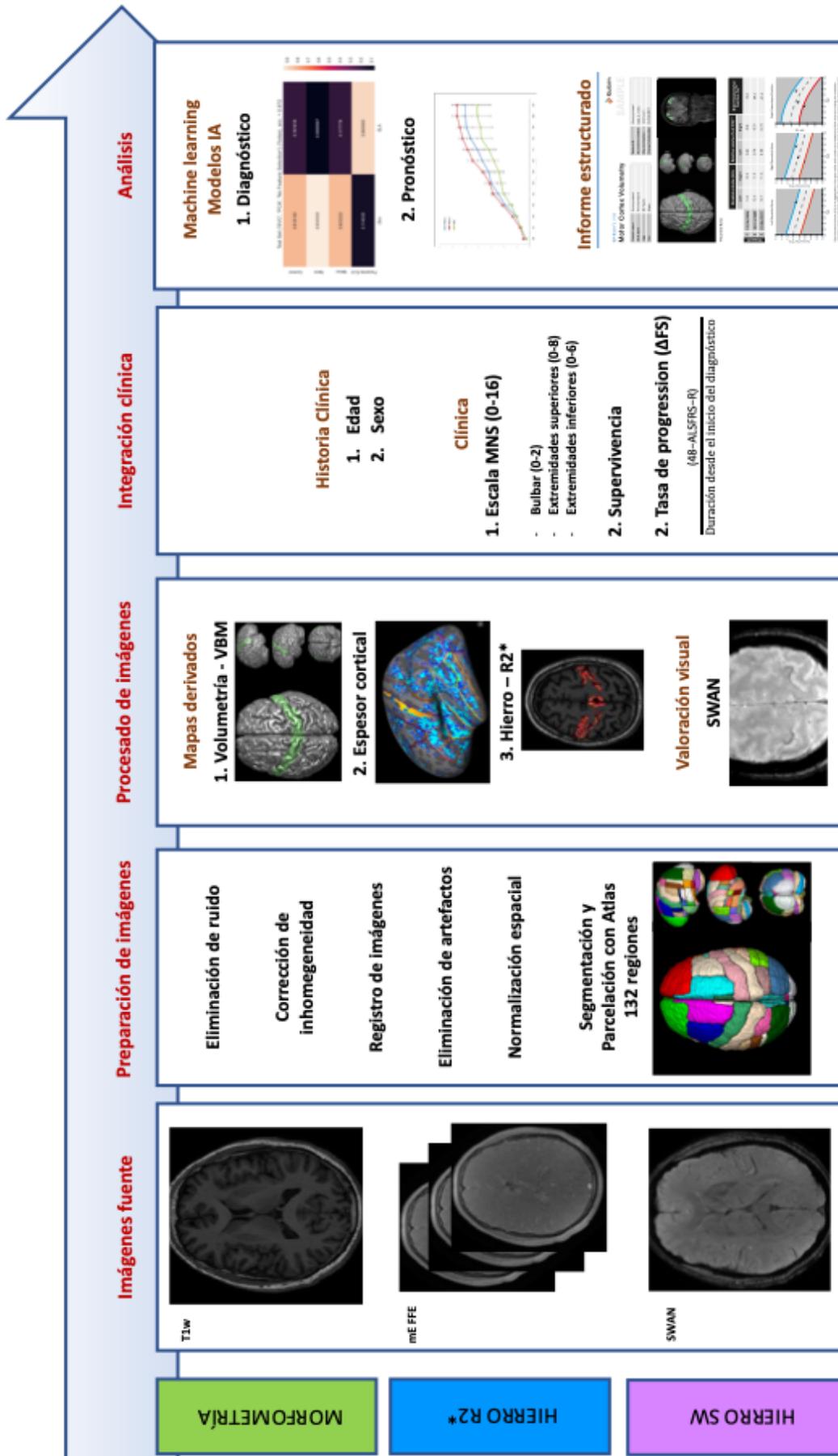
- 2D; EG; transversal; TR=3000 ms; TE=35 ms; FOV=240 x 240 mm; matriz=64 x 64 mm; grosor de corte=3 mm; sin espaciado entre cortes; ángulo nutación (α)=90°; 240 volúmenes funcionales continuos; ojos cerrados.
- Utilidad: valoración de la conectividad funcional en estado de reposo.

6. Secuencia DTI

- 2D; SE; transversal; TR=11000 ms; TE=60 ms; FOV=260 x 260 mm; matriz=128 x 96 mm; grosor de corte=2,4 mm; espaciado entre cortes=1 mm; direcciones de gradiente=32; valores b 0 y 800 s/mm²
- Utilidad: valoración de la composición y arquitectura microestructural del encéfalo, especialmente de la sustancia blanca. Las magnitudes más utilizadas son la difusividad media, anisotropía fraccional, difusividad radial y difusividad axial.

6. PREPARACIÓN Y PROCESADO DE LAS IMÁGENES

Junto con Leonor Cerdá, integrante del Grupo de Investigación Biomédica en Imagen (GIBI230) del Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, se diseñó un flujo de trabajo de procesado de las imágenes para la extracción de los biomarcadores de imagen en todos los sujetos incluidos en el estudio a partir de las exploraciones de RM. Este curso de acción incluye las imágenes fuente, la preparación de las imágenes, el procesado de las imágenes, la integración de datos clínicos y su análisis (Figura 4).



MORFOMETRÍA

HIERRO R2*

HIERRO SW

Figura 4. Flujo de trabajo para la extracción y análisis de biomarcadores de imagen en los sujetos del estudio a partir de las exploraciones de RM con protocolo ELA.

6.1. PREPARACIÓN DE LAS IMÁGENES

La preparación de las imágenes es un paso importante en el campo de la imagen médica cuantitativa. Su finalidad es reducir la variabilidad técnica de las imágenes normalizando la señal y tamaño del vóxel, eliminar las fuentes de ruido o artefactos que puedan existir en las imágenes y afectar negativamente al procesamiento posterior, y transformar los datos a un formato estándar universal.

Existen numerosos paquetes de herramientas computacionales que pueden emplearse para el análisis de datos de imagen cerebral estructural y funcional, como *FreeSurfer* (134), SPM (del acrónimo inglés *Statistical Parametric Mapping*) (135), FSL (136) y *Advanced Normalization Tools* (ANTs) (137), entre otros. También existen diferentes flujos de trabajo en la preparación de las imágenes con discretas diferencias en sus resultados.

A continuación, se describe el flujo de trabajo para el preparado de las imágenes diseñado en esta Tesis Doctoral para las exploraciones de RM. Este flujo incluye pasos de los paquetes de herramientas ya conocidos e incorpora otros desarrollados más recientemente.

6.1.1. Eliminación del ruido y corrección de inhomogeneidades

Las imágenes digitales de RM presentan ruido, es decir, variaciones de la señal no relacionadas con el objeto de estudio. Estas señales de baja frecuencia desiguales que alteran la intensidad de señal intrínseca de los vóxeles son

inherentes a la RM. El ruido en RM está relacionado con factores intrínsecos a la adquisición, como las heterogeneidades presentes en el campo magnético estático, la sensibilidad de las bobinas de transmisión y recepción, y el efecto dieléctrico. Este ruido afecta a la señal coherente de las imágenes, degrada las imágenes, reduce su calidad y limita la precisión diagnóstica. La eliminación del ruido es una tarea imperativa en el preparado de las imágenes. Su propósito es la presentación de la imagen original con una mayor calidad, preservando las características originales importantes del objeto, como los bordes y las texturas.

Existen diferentes técnicas para eliminar el ruido, pero ninguna de ellas funciona con la misma eficiencia en todas las situaciones. Estas técnicas se clasifican en prospectivas y retrospectivas. Las técnicas prospectivas se aplican durante la adquisición y presentan una cierta dificultad para llevar a cabo su propósito en todos los equipos de RM utilizados, por lo que la gran mayoría de técnicas que se han desarrollado y se utilizan en el post-proceso son retrospectivas y están basadas en algoritmos computacionales matemáticos. Entre estos algoritmos para la eliminación de ruido más utilizados se incluyen el Filtro de Difusión Anisotrópica, el Filtro Bilateral, el Filtro No-Local Medio y el Filtro Wiener. Todos ellos pueden evaluarse cuantitativamente mediante métricas de calidad como el ratio pico de señal-ruido, error medio cuadro, error medio raíz cuadrado y el índice de similitud de estructura (138). La corrección de estas inhomogeneidades por ruido garantiza una mayor calidad respecto a las características de las imágenes, permitiendo mejorar los procesos de registro y segmentación, y aumentar la fiabilidad del análisis cuantitativo.

En el flujo de trabajo de esta Tesis Doctoral hemos utilizado la herramienta algorítmica de eliminación de ruido incluida en ANTs. Se trata de un método basado en histogramas y fundamentado en la distribución de las intensidades. En este método de Normalización No-Uniforme No-Paramétrica (N4) la imagen corregida en cada iteración se computa usando los resultados de las iteraciones previas (139) (Figura 5).

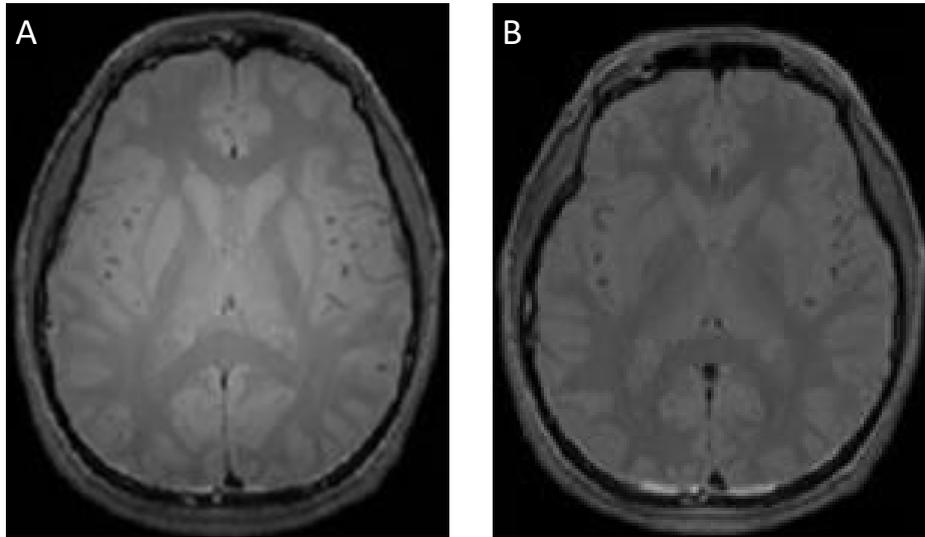


Figura 5. Ejemplo de corrección de inhomogeneidades en el que se muestra la imagen original (A) y la imagen filtrada (B) tras la corrección.

6.1.2. Registro de las imágenes

El registro automático de las imágenes obtenidas de RM consiste en su alineación y transformación a un mismo espacio o marco de referencia, de modo que los vóxeles de las diferentes secuencias representan regiones anatómicas homólogas y se garantiza una coherencia anatómica. El registro entre secuencias es un paso esencial para la obtención de biomarcadores de imagen fiables y para la construcción de modelos computacionales con implicaciones clínicas. De este modo, el desarrollo de un flujo de trabajo respecto al registro automatizado de las imágenes permite la comparación entre secuencias de imagen y su análisis longitudinal en el tiempo. Como marco de referencia se puede utilizar una plantilla de espacio común sobre la que cada cerebro individual se registrará o bien un sistema de marcado de regiones obtenido mediante un atlas conocido de segmentación cerebral.

En el registro intrasecuencia se registran mediante transformaciones lineales todas las imágenes obtenidas en la misma secuencia, usando como referencia interna la imagen de mayor calidad. El registro intersecuencia permite llevar al mismo marco de referencia a las imágenes obtenidas en diferentes secuencias, como la tractografía y susceptibilidad sobre el espacio obtenido en las imágenes potenciadas en T1, mediante la combinación de transformaciones lineales y no-lineales. En el registro final al espacio intrasujeto se utilizan transformaciones rígidas o afines que eliminan los pequeños movimientos durante la adquisición de las imágenes. En los casos de registro intrasujeto a lo largo del tiempo se recomienda las transformaciones elásticas o normalización difeomórficas simétricas utilizando B-splines.

Las transformaciones lineales alteran cada parte de la imagen del mismo modo, manteniendo idénticas las proporciones entre la imagen original y la resultante, e incluyen operaciones de traslación, rotación, escalado y estiramiento para cada dimensión (140). La traslación y rotación cambian la posición en el espacio, pero no modifican la forma ni el tamaño del vóxel, mientras que el escalado y estiramiento sí que modifican su forma y tamaño. Se realiza un correregistro inicial entre la imagen a analizar y la plantilla, buscando la mayor similitud posible y que las transformaciones no lineales no condicionen deformaciones marcadas a la imagen de entrada. Las transformaciones no lineales no tienen que mantener forzosamente las proporciones originales y permiten obtener un registro más ajustado al aplicar cambios locales en la posición, tamaño y forma corrigiendo diferencias interindividuales en una escala local (141).

La evaluación de las medidas de similitud en el registro de las imágenes de RM es un reto debido a su compleja interacción con la optimización y regularización de la señal por tipo de imagen y continúa siendo un área activa de investigación (142). Entre los métodos utilizados para la medida de la calidad del registro de imagen, los más aceptados son la información mutua y la información mutua

normalizada. Estos métodos están basados en la intensidad de la señal y se fundamentan en la teoría de la información, considerando principalmente la distribución de la intensidad de los vóxeles con una estrategia estadística entrópica (143). Dos de las herramientas utilizadas más frecuentemente son el ANTs (137) y Elastix (144).

En este paso se lleva a cabo una alineación de las diferentes secuencias de cada sujeto mediante el módulo de registro incluido en SPM, de esta forma se corrige el posible movimiento entre cortes y se registra la secuencia potenciada en T2* multieco a la secuencia estructural de alta resolución espacial 3D-SPGR potenciada en T1.

6.1.3. Eliminación de artefactos

Existen múltiples fuentes de artefactos en las imágenes de RM de cabeza. De forma general están relacionados con la reconstrucción de las imágenes y con los sujetos. Los artefactos relacionados con la reconstrucción de las imágenes están causados por limitaciones intrínsecas de los algoritmos de reconstrucción, por defectos transitorios en uno o más subsistemas o por la degradación de algún componente electrónico. Los artefactos relacionados con los pacientes dependen de fenómenos fisiológicos como flujos y movimientos pulsátiles o no, representando la compleja interacción entre el sujeto y el equipo de RM (145). La necesidad de obtener imágenes uniformes con garantía de calidad se acentúa más si cabe por las variaciones relacionadas con los diferentes fabricantes de equipos.

La calidad de las imágenes se ha valorado tradicionalmente de forma visual por observadores expertos. Esta evaluación visual consume mucho tiempo, es tediosa, subjetiva y variable, y no permite identificar algunos artefactos indetectables por el ojo humano. Por este motivo, la automatización de este proceso es necesaria e imprescindible. El desarrollo de herramientas

automáticas de control de calidad permite la obtención rápida de resultados fiables y estables (146). Los artefactos específicos de la RM se han evaluado y cuantificado clásicamente mediante el uso de fantomas, pero existen otros artefactos específicos para los sujetos que surgen en la práctica clínica y que no dan la cara en los estudios con fantomas. Las herramientas de detección de artefactos en estudios clínicos posibilitan su detección en los datos originales de las imágenes de RM y proporcionan herramientas que ayudan en la especificación del diseño y estimación del modelo computacional (147).

En esta Tesis Doctoral se ha utilizado la herramienta algorítmica *Artifact Detection Tools* para la identificación de estos artefactos (148). Esta herramienta de preprocesado permite la identificación de valores anómalos que probablemente corresponden a artefactos en las secuencias de RM, ayudando de este modo en el control de la calidad de las exploraciones. Esta herramienta posibilita una detección manual y automática de la intensidad media global y anomalías de movimiento en los datos de RM que pueden pasar desapercibidos y afectar al análisis estadístico.

6.1.4. Normalización espacial y segmentación

La normalización es la transformación de las imágenes de todos los sujetos al mismo espacio o marco de referencia anatómico estándar para asegurar la fiabilidad en la comparación vóxel a vóxel. Este proceso incluye técnicas de ajuste de posición, orientación y tamaño de las diferentes estructuras anatómicas de cada cerebro individual respecto a la anatomía de un cerebro que servirá como marco de referencia. Este proceso no busca un ajuste perfecto para obtener dos imágenes idénticas, sino corregir las diferencias anatómicas globales que permitan detectar las posibles diferencias locales.

Se dispone de diferentes plantillas que se utilizan como atlas anatómicos estandarizados para cada estudio de imagen. En esta Tesis Doctoral se ha utilizado como plantilla digital cerebral el atlas MNI-152 creado por el *Montreal Neurological Institute* (MNI) disponible en SPM, generado a partir de la adaptación de la plantilla de Talarach y Tournoux (149) al promedio de secuencias volumétricas 3D de 152 personas adultas sanas (150) utilizando roto-translaciones rígidas y deformaciones (151). Para la deformación estandarizada de las imágenes al mismo espacio estereotáctico se utilizan técnicas flexibles de emparejamiento como el algoritmo de Normalización Difeomórfica No Lineal incluido en ANTs (Figura 6).

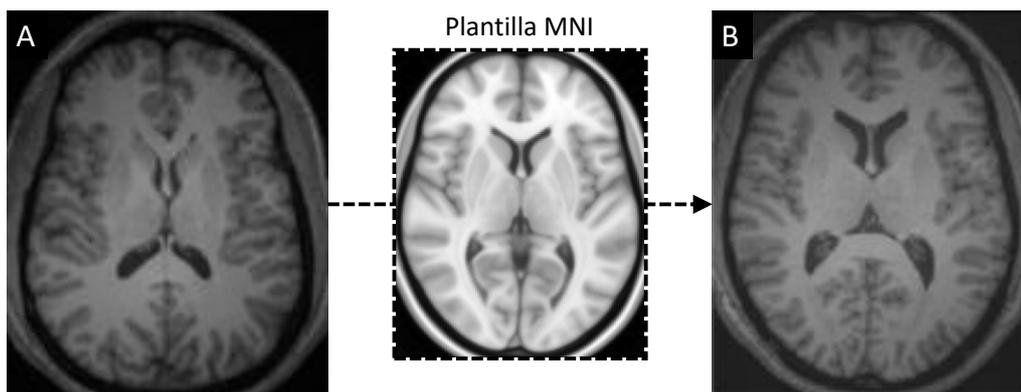


Figura 6. Ejemplo del procesado de normalización, donde a la imagen original (A) se le aplica el atlas MNI para la obtención de la imagen normalizada (B).

La segmentación es el proceso por el que se etiqueta cada región, área o vóxel de la imagen, permitiendo diferenciar a aquellos vóxeles que comparten cierta característica previamente determinada. Este paso es imprescindible para diferenciar en las imágenes cerebrales previamente normalizadas los diferentes

tejidos (como tejido el sistema nervioso central), regiones (como la sustancia gris, sustancia blanca y líquido cefalorraquídeo) y áreas (como la región precentral) de interés. Antes de comenzar el proceso de segmentación cerebral debe eliminarse siempre el espacio craneal y extracraneal, que incluye piel, tejido celular subcutáneo y hueso. En esta Tesis se ha utilizado un algoritmo de extracción cerebral incluido en FSL que elimina el tejido no cerebral de las imágenes mediante un modelo deformable que se adapta a la superficie del cerebro mediante la aplicación de un conjunto de fuerzas de modelado localmente adaptables.

Para la segmentación cerebral se ha utilizado la solución informática SPM, que incluye una de las estrategias más ampliamente utilizadas. Se obtienen para cada sujeto y tejido unos mapas de probabilidad generados a partir de atlas anatómicos con información previa Bayesiana sobre dónde se espera que los diferentes tejidos intracraneales se localicen. En estos mapas, los vóxeles tienen un valor normalizado de intensidad entre 0 y 1, indicando la probabilidad de pertenecer a cada tejido específico. Esta probabilidad por vóxel permite dirigir y restringir el algoritmo de clasificación de los tejidos. El algoritmo calcula de forma iterativa la media y la varianza de los vóxeles contenidos en cada tejido. Tomando estos valores como referencia, la probabilidad de pertenencia a cada tejido se recalcula siguiendo una función probabilidad Gaussiana. El algoritmo continúa la iteración hasta que se alcanza la convergencia de criterio o se supera el número máximo de iteraciones especificado.

6.1.5. Suavizado y parcelación con Atlas

El proceso de suavizado se lleva a cabo para aumentar la ratio señal-ruido, reduciendo la influencia de las altas frecuencias en la imagen de RM. Se realiza por convolución de las imágenes mediante un kernel gaussiano isotrópico, y cada vóxel se convierte en la media ponderada de sus vóxeles vecinos.

Mediante el suavizado se consigue una distribución normal de la información siguiendo el teorema del límite central con la finalidad de aumentar la validez y robustez del análisis estadístico. Además, este proceso corrige las inexactitudes que se hayan generado durante la normalización, beneficiando el análisis estadístico para comparar vóxel a vóxel regiones homólogas y así encontrar diferencias locales significativas.

Es necesario parcelar el cerebro para establecer los cambios y las relaciones funcionales entre sus regiones. Para ello se emplean atlas anatómicos. En esta Tesis Doctoral, se ha utilizado una modificación del atlas de Harvard-Oxford (152), uno de los atlas utilizados más frecuentemente para la segmentación de la sustancia gris en sus diferentes regiones a los que se ha añadido las regiones cerebelosas (Figura 7). Este atlas probabilístico parcela cada hemisferio en un total de 48 regiones corticales y 21 subcorticales, lo que hacen un total de 132 regiones (no todas las regiones subcorticales presentan lateralidad) (Tabla 5).

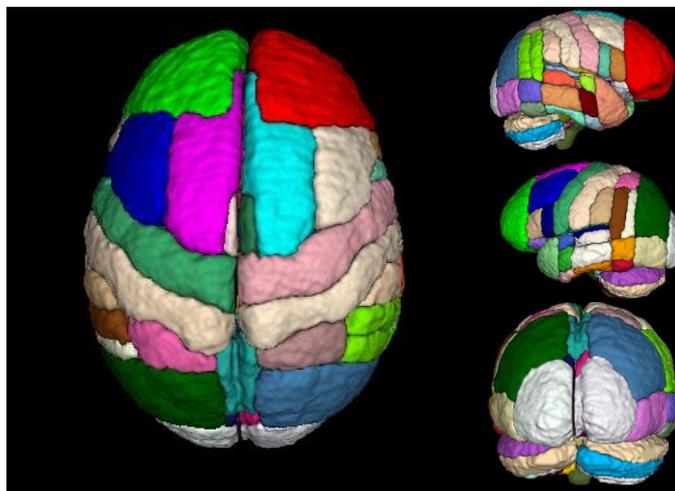


Figura 7. Atlas utilizado, atlas de Harvard-Oxford modificado que muestra las regiones en las que se ha parcelado el encéfalo con diferentes colores.

'Right Frontal Pole'	'Right Inferior Temporal Gyrus (anterior division)'
'Left Frontal Pole'	'Left Inferior Temporal Gyrus (anterior division)'
'Right Intracalcarine Cortex'	'Right Inferior Temporal Gyrus (posterior division)'
'Left Intracalcarine Cortex'	'Left Inferior Temporal Gyrus (posterior division)'
'Right Superior Frontal Gyrus'	'Right Inferior Temporal Gyrus (temporooccipital)'
'Left Superior Frontal Gyrus'	'Left Inferior Temporal Gyrus (temporooccipital)'
'Right Middle Frontal Gyrus'	'Right Parahippocampal Gyrus (anterior division)'
'Left Middle Frontal Gyrus'	'Left Parahippocampal Gyrus (anterior division)'
'Right Inferior Frontal Gyrus (pars triangularis)'	'Right Parahippocampal Gyrus (posterior division)'
'Left Inferior Frontal Gyrus (pars triangularis)'	'Left Parahippocampal Gyrus (posterior division)'
'Right Inferior Frontal Gyrus (pars opercularis)'	'Right Lingual Gyrus'
'Left Inferior Frontal Gyrus (pars opercularis)'	'Left Lingual Gyrus'
'Frontal Medial Cortex'	'Right Temporal Fusiform Cortex (anterior division)'
'Right Juxtapositional Lobule Cortex'	'Left Temporal Fusiform Cortex (anterior division)'
'Right Juxtapositional Lobule Cortex'	'Right Temporal Fusiform Cortex (posterior division)'
'Subcallosal Cortex'	'Left Temporal Fusiform Cortex (posterior division)'
'Right Paracingulate Gyrus'	'Right Temporal Occipital Fusiform Cortex'
'Left Paracingulate Gyrus'	'Left Temporal Occipital Fusiform Cortex'
'Cingulate Gyrus (anterior division)'	'Right Planum Polare'
'Right Frontal Orbital Cortex'	'Left Planum Polare'
'Left Frontal Orbital Cortex'	'Right Heschl"s Gyrus'
'Right Frontal Operculum Cortex'	'Left Heschl"s Gyrus'
'Left Frontal Operculum Cortex'	'Right Planum Temporale'
'Right Precentral Gyrus'	'Left Planum Temporale'
'Left Precentral Gyrus'	'Right Supracalcarine Cortex'
'Right Postcentral Gyrus'	'Left Supracalcarine Cortex'
'Left Postcentral Gyrus'	'Left Cerebelum Crus 1'
'Right Central Opercular Cortex'	'Right Cerebelum Crus 1'
'Left Central Opercular Cortex'	'Left Cerebelum Crus 2'
'Right Superior Parietal Lobule'	'Right Cerebelum Crus 2'
'Left Superior Parietal Lobule'	'Left Cerebelum 3'
'Right Supramarginal Gyrus (anterior division)'	'Right Cerebelum 3'
'Left Supramarginal Gyrus (anterior division)'	'Left Cerebelum 4 5'
'Right Supramarginal Gyrus (posterior division)'	'Right Cerebelum 4 5'
'Left Supramarginal Gyrus (posterior division)'	'Left Cerebelum 6'
'Right Angular Gyrus'	'Right Cerebelum 6'
'Left Angular Gyrus'	'Left Cerebelum 7b'
'Right Lateral Occipital Cortex (superior division)'	'Right Cerebelum 7b'
'Left Lateral Occipital Cortex (superior division)'	'Left Cerebelum 8'
'Right Lateral Occipital Cortex (inferior division)'	'Right Cerebelum 8'
'Left Lateral Occipital Cortex (inferior division)'	'Left Cerebelum 9'
'Right Intracalcarine Cortex'	'Right Cerebelum 9'
'Left Intracalcarine Cortex'	'Left Cerebelum 10'
'Cingulate Gyrus (posterior division)'	'Right Cerebelum 10'
'Precuneous Cortex'	'Vermis 1 2'
'Right Cuneal Cortex'	'Vermis 3'
'Left Cuneal Cortex'	'Vermis 4 5'
'Right Parietal Operculum Cortex'	'Vermis 6'
'Left Parietal Operculum Cortex'	'Vermis 7'
'Right Occipital Pole'	'Vermis 8'
'Left Occipital Pole'	'Vermis 9'
'Right Temporal Pole'	'Vermis 10'
'Left Temporal Pole'	'Brain Stem'
'Right Superior Temporal Gyrus (anterior division)'	'Right Occipital Fusiform Gyrus'
'Left Superior Temporal Gyrus (anterior division)'	'Left Occipital Fusiform Gyrus'
'Right Superior Temporal Gyrus (posterior division)'	'Right Thalamus'
'Left Superior Temporal Gyrus (posterior division)'	'Left Thalamus'
'Right Middle Temporal Gyrus (anterior division)'	'Right Caudate'
'Left Middle Temporal Gyrus (anterior division)'	'Left Caudate'
'Right Middle Temporal Gyrus (posterior division)'	'Right Putamen'
'Left Middle Temporal Gyrus (posterior division)'	'Left Putamen'
'Right Middle Temporal Gyrus (temporooccipital)'	'Right Pallidum'
'Left Middle Temporal Gyrus (temporooccipital)'	'Left Pallidum'

'Right Hippocampus'
'Left Hippocampus'
'Right Amygdala'

'Left Amygdala'
'Right Accumbens'
'Left Accumbens'

Tabla 5. Descripción de las 132 regiones del atlas probabilístico de parcelación, con 48 regiones corticales por hemisferio y 21 subcorticales. No todas las regiones presentan lateralidad (*right / left*).

6.2. PROCESADO DE LAS IMÁGENES

El procesado de las imágenes es el conjunto de técnicas que se aplican con el objetivo de obtener la información contenida en las mismas, no identificable mediante el sistema visual humano. En general, estos procedimientos permiten la obtención de datos incluidos en las imágenes de RM y posibilitan su cuantificación proporcionando características objetivas de las estructuras, tejidos o procesos metabólicos. A la conversión de las imágenes médicas digitales en datos explotables que pueden analizarse cuantitativamente se le denomina radiómica. A continuación, describimos las técnicas de procesado morfométricas estructurales y para la cuantificación de hierro que hemos utilizado en esta Tesis Doctoral.

6.2.1. Análisis volumétrico cerebral

Se pueden detectar y localizar las alteraciones morfológicas del cerebro relacionadas con la enfermedad utilizando técnicas estructurales basadas en imágenes de RM obtenidas con una alta resolución espacial. Las técnicas de análisis automatizadas permiten segmentar y cuantificar el volumen de la sustancia gris y de la sustancia blanca utilizando las imágenes de la secuencia 3D potenciada en T1. Las medidas de volumen y de morfometría son herramientas efectivas para clasificar las enfermedades y valorar su evolución, ofrecen

información fiable y cuantitativa de las afectaciones del sistema nervioso central (153).

La VBM es uno de los métodos utilizado más ampliamente para el análisis de las anomalías anatómicas. Se trata de una aproximación objetiva que permite la detección de las variaciones en los volúmenes locales de componentes específicos del cerebro (como la sustancia gris y blanca y sus regiones) mediante una estimación basada en el análisis de la intensidad de los vóxeles (154). La técnica VBM compara la clasificación de cada vóxel en pacientes frente a controles mediante una valoración regional de la densidad de sustancia gris y blanca haciendo uso un modelo lineal general (77) (155). Esta técnica de todo el cerebro no requiere la asunción de una hipótesis a priori y posibilita determinar las anomalías estructurales directamente de los datos de forma no sesgada (76). Hemos de recordar que el VBM no equivale estrictamente al concepto histológico de atrofia.

Las imágenes anatómicas utilizadas en la VBM son las obtenidas con la secuencia eco de gradiente 3D (SPGR) potenciada en T1 y de alta resolución. El procesado y análisis se lleva a cabo mediante el software SPM con un algoritmo de normalización DARTEL (del acrónimo inglés *Diffeomorphic Anatomical Registration Through Exponentiated Lie Algebra*).

Una vez las imágenes están preparadas y normalizadas, se aplica la herramienta de SPM para el cálculo de la VBM mediante el uso de la transformada inversa. Se calcula la volumetría total, volumetría por materias (sustancia gris, sustancia blanca y líquido cefalorraquídeo) y la volumetría de cada una de las 132 regiones en las que se ha parcelado el cerebro (Figura 8).

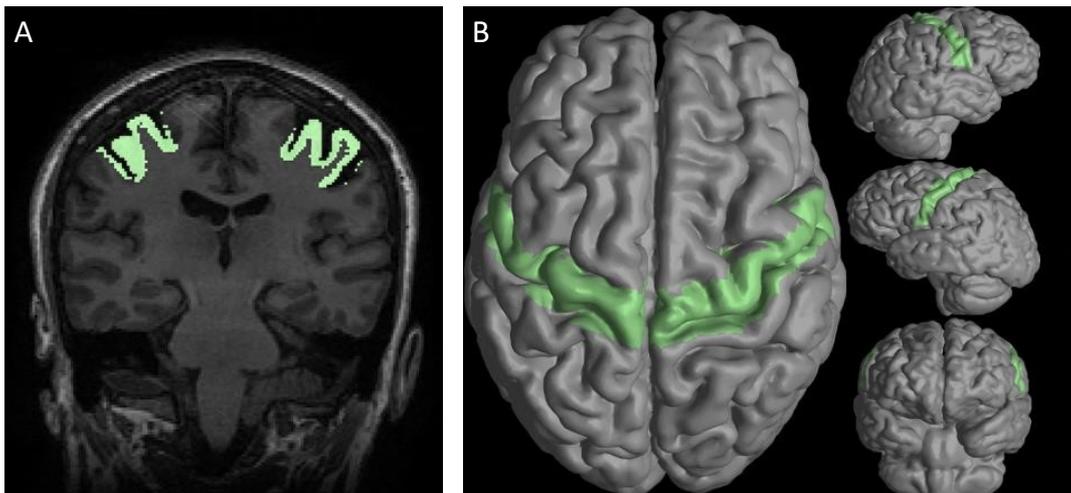


Figura 8. VBM. Ejemplo de segmentación de la circunvolución precentral en la reconstrucción coronal de la secuencia 3D potenciada en T1 (A). Marcación de la circunvolución parcelada en una representación volumétrica (B).

6.2.2. Espesor cortical

La SBM es un método de análisis morfométrico que permite la descomposición del volumen cortical en espesor cortical y área superficial, respetando la topología cortical (93). Se trata de un algoritmo que posibilita la reconstrucción de la superficie cortical después de la definición del límite entre la sustancia gris y la sustancia blanca, el volumen de la sustancia gris y del líquido cefalorraquídeo. Tras ello, se calcula el espesor cortical, mapas de curvatura, área superficial y profundidad de los surcos (92).

Las imágenes utilizadas para este cálculo fueron las obtenidas con la secuencia eco de gradiente 3D potenciada en T1 (SPGR) de alta resolución espacial. Para su aplicación en esta Tesis Doctoral se ha utilizado el paquete de software de *Freesurfer* (134), uno de los empleados más ampliamente (156). El flujo de

trabajo de *Freesurfer* ha sido ya suficientemente descrito y validado en numerosas publicaciones (157).

Una vez las imágenes están preparadas, normalizadas y registradas, se aplicó esta herramienta de *FreeSurfer* mediante el uso de la transformada inversa que lleva a cabo una delimitación por teselación de los límites de la sustancia blanca, un suavizado de la superficie teselada y una corrección topológica automatizada. Sobre la superficie teselada se aplica un algoritmo para establecer los límites de la sustancia blanca y de la superficie cortical pial. El espesor cortical se calcula como la media de las distancias entre la superficie de la sustancia blanca al punto más próximo de la superficie pial y desde ese punto de vuelta al punto más próximo de la sustancia blanca. Es recomendable una revisión visual de los resultados por un radiólogo experimentado (el doctorando en esta Tesis Doctoral).

De esta forma se calcula el espesor cortical de cada una de las regiones en las que se ha parcelado el cerebro, un total de 132, aunque solo se analizarán las 48 corticales de cada hemisferio ya que sería carente de sentido su análisis en las regiones subcorticales (Figura 9).

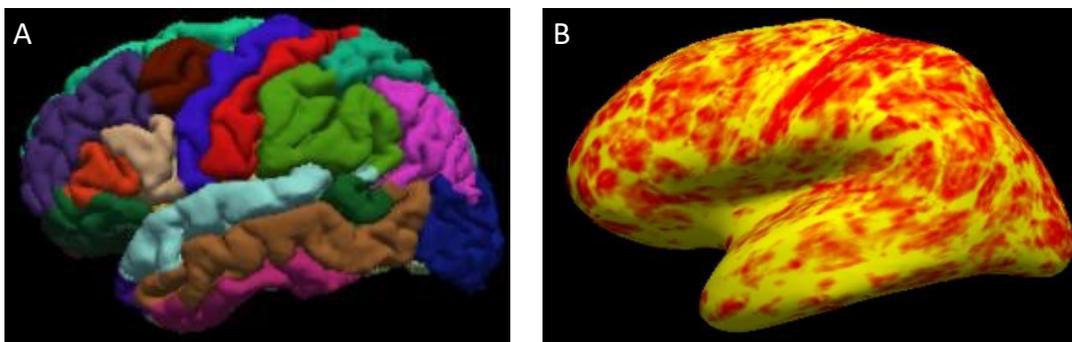


Figura 9. Espesor cortical. Ejemplo de representación de la parcelación cerebral (A) y su mapa de espesor cortical (B).

6.2.3. Cuantificación de hierro

La RM es una técnica fiable y precisa para la detección y cuantificación de hierro cerebral *in vivo*. Es por ello que se postula como una herramienta idónea para la valoración de los depósitos de hierro presentes en pacientes con ELA. Los depósitos de hierro por ferritina observados en los pacientes con ELA presentan una gran susceptibilidad ferromagnética que permite se detecten, localicen, y cuantifiquen con exactitud. Son varias las técnicas de imagen de RM que permiten cuantificar el hierro tisular: los mapas de los tiempos $T2^*$ y sus ratios $R2^*$, las imágenes de susceptibilidad y los mapas cuantitativos de susceptibilidad.

6.2.3.1. Mapas $T2^*/R2$

El mapeo por imagen donde los vóxeles representan los valores de $T2^*$ o de $R2^*$ ($1/T2^*$) se utiliza para conocer la distribución espacial y obtener los valores de $T2^*/R2$ en cada región a partir de la modificación de estos parámetros de la magnetización transversa en cada vóxel. El hierro induce estos cambios por una combinación de efectos sobre la relajación spin-spin y de inhomogeneidades del campo magnético. Se utilizan las imágenes obtenidas con secuencias eco de gradiente porque la relajación transversa causada por las inhomogeneidades del campo magnético está eliminada en las secuencias spin-eco por el pulso de 180° .

Para obtener medidas fiables de $T2^*$ para las diferentes cantidades de hierro se necesitan secuencias eco de gradiente con diferentes tiempos de eco (multieco). En esta Tesis Doctoral se ha utilizado una secuencia 2D FGRE con 8

tiempos de eco. Los métodos de relajometría calculan el $T2^*$ ajustando modelos de caída de la intensidad de señal media, y sus resultados se expresan como la ratio de relajación transversa $R2^*$ ($1/T2^*$). Esta estimación de $R2^*$ es una medida cuantitativa independiente del ángulo de nutación, sensibilidad de la antena, parámetros de escalado y otros parámetros de la imagen (158). La aceleración del tiempo de relajación $T2^*$ conlleva y los cambios en el $R2^*$ presentan una correlación lineal con la concentración de hierro habitualmente encontrada en estos pacientes (111).

Para cada sujeto de este estudio, las imágenes preparadas, obtenidas con la secuencia eco de gradiente multieco potenciada en $T2^*$, se registran a la secuencia estructural de alta resolución espacial SPGR potenciada en $T1$ mediante el módulo de registro incluido en SPM. Se calcula el valor de $R2^*$ para cada vóxel ajustando una función de caída monoexponencial a las intensidades de señal media de los datos de la secuencia multieco. De esta forma se obtiene el mapa de $R2^*$, disponiendo del valor de $R2^*$ para cada vóxel (Figura 10) y para cada una las regiones en las que la literatura ha demostrado potencial utilidad (Tabla 6). Se calcula para cada región la media, la mediana, la desviación estándar, el percentil 25 y 75.

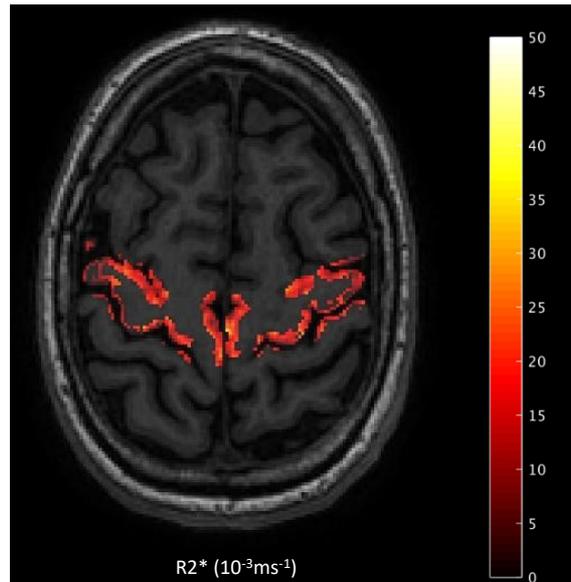


Figura 10. R2*. Ejemplo de mapa R2* en el córtex motor primario de un paciente.

Right thalamus	Left thalamus
Right caudate	Left caudate
Right putamen	Left putamen
Right hippocampus	Left hippocampus
Right amygdala	Left amygdala
Right precentral gyrus	Left precentral gyrus

Tabla 6. Descripción de las 12 regiones en las que se ha calculado R2* en esta Tesis Doctoral.

6.2.3.2. Imagen de susceptibilidad

Las secuencias que explotan el fenómeno de susceptibilidad, SWI, presentan tres características comunes: son secuencias eco de gradiente, utilizan un tiempo de eco elevado para favorecer el fenómeno de susceptibilidad magnética, y presentan alta resolución espacial con un tamaño de vóxel

pequeño (159). Esta técnica es especialmente sensible a los componentes que distorsionan el campo magnético, realzan el contraste entre tejidos con distinta susceptibilidad, permitiendo la detección y estratificación de los depósitos de hierro.

En esta Tesis Doctoral se ha utilizado la secuencia SWAN proporcionada por *GE Healthcare*, es una secuencia 3D eco de gradiente con múltiples ecos y compensación parcial de flujo. Esta secuencia utiliza exclusivamente múltiples imágenes de magnitud, realiza un promedio de las imágenes de los diferentes tiempos de eco, obteniendo una mayor relación señal/ruido para generar las imágenes de susceptibilidad. Esta técnica evita el complejo post-proceso necesario con otras técnicas SWI, pero presenta una pérdida de información ya que las imágenes de fase no se tienen en cuenta.

La valoración visual subjetiva de la intensidad de señal en las imágenes de SWI se realizó en la porción posterior del córtex motor en ambos hemisferios (55). El córtex motor se dividió en tres regiones correspondientes a la representación cortical de los miembros inferiores, miembros superiores y musculatura bulbar (homúnculo). La región del miembro superior se localizó utilizando la referencia anatómica de la perilla de mano ("*hand knob*") que corresponde a la porción de la circunvolución precentral en forma de perilla o pomo donde se localiza más frecuentemente la función motora de la mano, es fácilmente identificable en las imágenes de RM, en el plano axial tiene forma de omega o epsilon y en el plano sagital de gancho (160), y para la localización de las regiones del miembro inferior y musculatura bulbar se utilizaron los mapas somatotrópicos basados en RM funcional y los atlas anatómicos (161–163). Para la valoración de la hipointensidad de señal en cada región se utilizó la siguiente escala (Figura 11): 0, intensidad de señal normal; 1, discreta hipointensidad, similar a la del cuerpo calloso; 2, marcada hipointensidad, similar a la intensidad de señal de las venas subependimarias.

De forma aislada, la secuencia SWAN empleada en esta Tesis Doctoral no permitió la generación de mapas de susceptibilidad. Para su obtención se deberían haber adquirido secuencias adicionales SWAN como en el trabajo de *Mazzuchi et al.* (164).

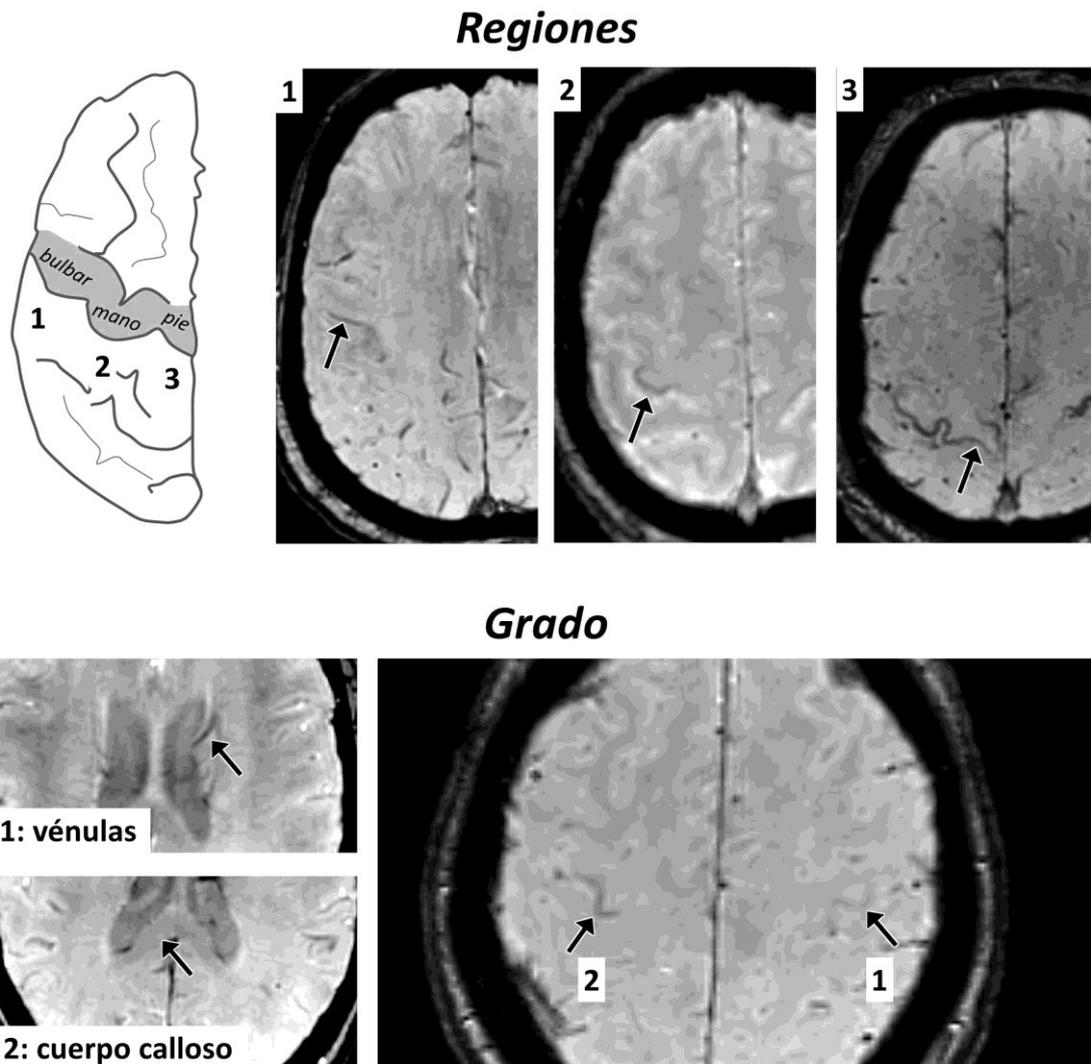


Figura 11. Escala visual de la valoración de la hipointensidad de señal en la secuencia SWAN del córtex motor primario.

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico contamos con la colaboración de José Miguel Carot Sierra, catedrático de Estadística en la Universidad Politécnica de Valencia, y de Pablo Gil Chong, alumno del Grado en Ciencia de Datos de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Informática de la Universidad Politécnica de Valencia.

Se ha enfocado el trabajo con 2 objetivos:

1. Clasificación diagnóstica.
2. Predicción pronóstica y clasificación de endofenotipos.

7.1. MODELO DIAGNÓSTICO

7.1.1 Integración de datos

A los datos resultado del procesado de imágenes se añadieron las variables clínicas de los pacientes, edad y sexo, para completar el conjunto de datos. El resultado de esta adición es el conjunto de datos con el que se comienza el proyecto una vez depuradas las variables residuales (Tabla 7).

Finalmente, los atributos son los siguientes:

- 2 clínicos: edad y sexo.
- 188 de volumetría: además del valor de las regiones, el volumen intracraneal, la fracción de parénquima cerebral, el volumen de sustancia gris, de sustancia blanca y de líquido cefalorraquídeo.
- 60 de cuantificación de hierro (R2*): media, mediana desviación estándar, percentil 25 y 75 de cada región.
- 72 de espesor cortical.
- 6 de análisis visual SWI (hierro semicuantitativo), uno por cada subregión (bulbar, miembro superior y miembro inferior) de cada córtex precentral.
- 65 descartados: entre los que se incluyen identificadores redundantes o atributos residuales, atributos con información genética y atributos

con información clínica de los pacientes con ELA que fueron incluidos en los modelos de afectación de MNS y de predicción de progresión.

En este paso todos los datos fueron anonimizados, asignándoles nuevos identificadores no enlazados a todos los casos.

232 casos x 393 atr.		Atributos					
Casos		Clínicos	Volum.	Hierro	Espesor	Visuales	Descartes
Control	N=23	X=2	X=188	X=60	X=72	X=6	X=65
Sano	N=30						
Mimic	N=55						
ELA	N=124						
Total	N=232	X=393					

Tabla 7: Resumen del conjunto de datos inicial. Control: control; Sano: portador asintomático; Mimic: ELA-*mimic*; ELA: paciente ELA.

7.1.2 Material y recursos utilizados

Casi la totalidad de la implementación del proyecto se ha realizado en Python 3.7 (165), con Jupyter Notebook como interfaz de programación. Las principales librerías que se ha utilizado han sido pandas (166), numpy (167), scikit-learn (168), matplotlib (169), seaborn (170), plotly (171) e imbalanced-learn (172). De forma puntual, también se ha utilizado R (173).

Para este trabajo se ha utilizado AWS (*Amazon Web Services*) para la mayor parte de la optimización de hiperparámetros. Esta plataforma de computación en la nube es una de las más populares, accesibles, seguras y, para la que más recursos existen. Permite además mantener aplicaciones en ejecución de forma ininterrumpida y sin ninguna forma de participación del usuario.

7.1.3 Preprocesado y análisis exploratorio

Se realiza un preprocesado y análisis exploratorio de las variables de radiómicas.

7.1.3.1. Preprocesado

Debido a la naturaleza del conjunto de datos inicial ya procesado previamente, en este punto nos hemos limitado a la eliminación de casos con datos faltantes.

Los datos presentan variables ausentes en 21 casos, de los que 10 pertenecen a la clase ELA, 10 a la clase ELA *mimic* y 1 es un control.

El conjunto de datos final resultante utilizado para el modelado se muestra en la tabla 8.

211 casos x 328 atr.		Atributos				
Casos		Clínicos	Volum.	Hierro	Espesor	Visual
Control	N=22	X=2	X=188	X=60	X=72	X=6
Sano	N=30					
Mimic	N=45					
ELA	N=114					
Total	N=211					
		X=328				

Tabla 8: Resumen del conjunto de datos final utilizado para el modelado.

7.1.3.2. Análisis exploratorio

En primer lugar, se realiza un análisis exploratorio preliminar de las variables radiómicas.

7.1.3.2.1. Análisis univariantes y bivariantes

En primer lugar, se realizaron análisis univariantes y bivariantes, con la clase de paciente como segunda variable para comprobar qué tipos de distribuciones presentaban las variables del estudio y valorar si existían diferencias significativas en las distribuciones de las variables entre los diferentes grupos. Para estudiar las distribuciones, se utilizó un test de normalidad basado en los tests de D'Agostino y Pearson sobre las distribuciones conjuntas y desagregadas por clases, se analizaron los histogramas de las distribuciones conjuntas y

desagregadas por clases, se examinaron los gráficos de probabilidad normal y se realizó tests HSD de Tukey.

7.1.3.2.2. Análisis de Componentes Principales (PCA)

El PCA es una técnica de reducción de dimensionalidad que resume la información de la varianza encontrada en las variables. Analizar las proyecciones de esta técnica permite entender con mayor profundidad las relaciones entre las variables y la naturaleza de las clases.

7.1.3.2.3. Hotelling T²

Es una técnica utilizada para la detección de datos anómalos en conjuntos de datos con alta dimensionalidad. En este trabajo se utilizó para analizar posibles atípicos dentro de una misma clase de casos y descartarlos del estudio.

7.1.4 Modelado

Inicialmente, se propone una clasificación multiclase para tratar de evitar la pérdida de información, pero los resultados fueron muy poco prometedores, por lo que se decide continuar con una clasificación binaria entre pacientes con y sin ELA.

Para ello, se ha desarrollado una secuencia estructurada automatizada de modelado, o *pipeline*. La construcción de este *pipeline* se ha abordado desde una perspectiva de mejora iterativa con técnicas de filtrado de variables, reducción de dimensionalidad (PCA, kernel PCA), sobremuestreo (SMOTE, ADASYN) y clasificación [regresión logística (LogReg), clasificadores de vectores soporte (SVC, del acrónimo inglés *Support Vector Classifier*), K-vecinos más cercanos (KNN, del acrónimo inglés *k-nearest neighbors*), bosque aleatorio (RF, del acrónimo inglés *Random Forest*)] (174). Para cada arquitectura propuesta, se analizarán los resultados y se identificarán puntos de mejora.

El rendimiento de los modelos y las arquitecturas ha sido evaluado mediante varias métricas. Las métricas utilizadas han sido: fiabilidad (*accuracy*), área bajo la curva (AUC), especificidad y sensibilidad. La fiabilidad mide el porcentaje de aciertos del modelo, el AUC mide el balance entre la especificidad y la sensibilidad, la especificidad indica la probabilidad de clasificación correcta de un caso negativo (en este caso de un paciente sin ELA) y la sensibilidad estima la probabilidad de clasificación correcta de un caso positivo (de un paciente con ELA). Para la visualización del rendimiento de los algoritmos se utilizará como herramienta las matrices de confusión, que son tablas que proporcionan información sobre la precisión de los algoritmos de clasificación, en los que las columnas representan el número de predicciones de cada clase y las filas la clase real.

Como el número de casos del que se dispone es limitado, se ha rechazado hacer una partición en entrenamiento y validación, pues queremos contar con el máximo número de puntos posibles para entrenar los modelos. Consecuentemente, las métricas se han calculado con validación cruzada con 10 iteraciones. Se destaca el cálculo de métricas tanto para los conjuntos de validación como para los conjuntos de test, a fin de evitar seleccionar modelos sobreajustados (aquellos con mucha diferencia entre ambos conjuntos). En los cálculos de métricas para entrenamiento, cada punto del conjunto de datos está repetido 9 veces, una por cada vez que ha sido usado para entrenar el modelo.

La arquitectura del pipeline propuesto se muestra en la Figura 12.

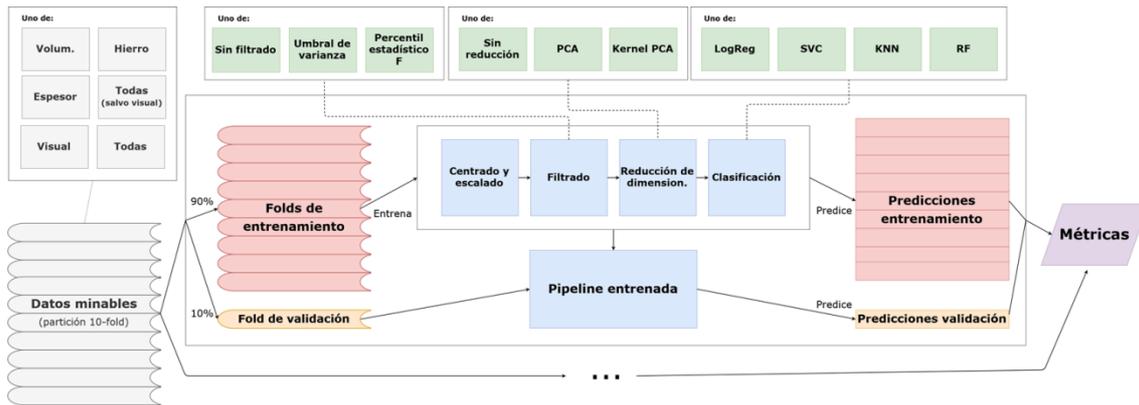


Figura 12: Diagrama del *pipeline* del modelo diagnóstico que incluye los hiperparámetros optimizados.

7.2 MODELOS PRONÓSTICOS Y DE ESTRATIFICACIÓN

Se construyen dos modelos predictivos y uno de estratificación con los mismos atributos que en el modelo diagnóstico pero solo tomando a los pacientes ELA. Los dos primeros son modelos predictivos que funcionan como indicadores pronósticos de la enfermedad con los que se intenta predecir la supervivencia y tasa de progresión de la enfermedad. El tercer modelo pretende estratificar a los pacientes según su grado de afectación de MNS.

El primer modelo busca asociaciones entre las variables radiómicas y la supervivencia. Se exploraron diferentes sistemas de clasificación (según se habían clasificado a los pacientes en el apartado de metodología conforme a su supervivencia: corta < 3 años, media entre 3 y 5 años, y larga > 5 años) y de regresión, con todas las variables y con las selecciones de variables por filtrado y por selección.

El segundo modelo pronóstico que se desarrolla es el correspondiente a la evolución del deterioro clínico. Estos modelos utilizan como variable clínica la tasa de progresión. Se buscan correlaciones entre los atributos radiómicos y la

tasa de progresión de la enfermedad, para obtener modelos que permitan predecir la velocidad de progresión de la enfermedad.

Por último se construye un modelo que pretende estratificar a los pacientes según su grado de afectación clínica de MNS. Como variable clínica se emplea la escala clínica de afectación de MNS, se utilizan modelos de clasificación (según se habían clasificado a los pacientes en el apartado de metodología conforme a la escala: afectación de MNS leve o nula puntuación 0-1, afectación moderada 2-10, y afectación grave 11-16) y regresión. Se pretende obtener endofenotipos basados en los atributos radiómicos que permitan estratificar a los pacientes según el grado de afectación de MNS.

8. INFORME ESTRUCTURADO y PROTOTIPO DE APLICACIÓN DIAGNÓSTICA

El informe radiológico es la herramienta de comunicación del radiólogo y es el resultado final de su proceso asistencial. Junto con el equipo multidisciplinar de la ELA se ha desarrollado un informe estructurado contextual para los pacientes a los que se les realice una RM con el protocolo específico de valoración de ELA. En este informe, toda la información que se ha acordado como relevante es presentada de forma concisa, estandarizada y tabulada de tal forma que los resultados puedan ser visualizados de forma clara y explotada posteriormente. Se ha confeccionado una plantilla con la organización habitual del informe radiológico que utilice menús desplegables con gráficos e información adicional explicativa.

De forma paralela, en colaboración con Quibim S.L., se ha elaborado el informe cuantitativo que incluye la información sobre el resultado radiómico y los biomarcadores de imagen que se consideran relevantes en la enfermedad, obtenidos de forma automatizada.

También, se estima que es muy interesante la creación de un prototipo de aplicación diagnóstica que permita incluir los diferentes biomarcadores y calcule la probabilidad de padecer la enfermedad.

9. COMITÉ DE BIOÉTICA

El estudio se realizó siguiendo las directrices de la declaración de Helsinki y contó con la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario y Politécnico La Fe (número de proyecto 2013/0332, fecha de aprobación 5 de noviembre de 2013). Todos los participantes firmaron un consentimiento informado para el almacenamiento y uso de datos personales para fines de investigación.

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes, se ajustó a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, del 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal.

RESULTADOS

1. MODELO DIAGNÓSTICO

1.1. ANÁLISIS EXPLORATORIO

1.1.1 Análisis univariantes y bivariantes

En los análisis univariantes y bivariantes, con la clase de paciente como segunda variable, de forma general las distribuciones fueron normales para la mayoría de las variables de morfometría y exponenciales para la mayoría de las variables de hierro. Por otra parte, se encontraron diferencias entre el grupo de ELA y al menos uno de los otros grupos en el 72.4 % de las variables.

1.1.2. Análisis de Componentes principales

Como ya se ha referido anteriormente se trata de una técnica que transforma el conjunto de datos a un nuevo conjunto de coordenadas a las que se llama componentes principales que maximizan la varianza del conjunto de datos.

En la Figura 13 se muestran las proyecciones de PCA en las dos primeras componentes. Se puede identificar con facilidad la dificultad para diferenciar entre clases, al menos linealmente, lo que lleva a pensar que los métodos de transformación del espacio vía kernel funcionarán mejor en la tarea de clasificación.

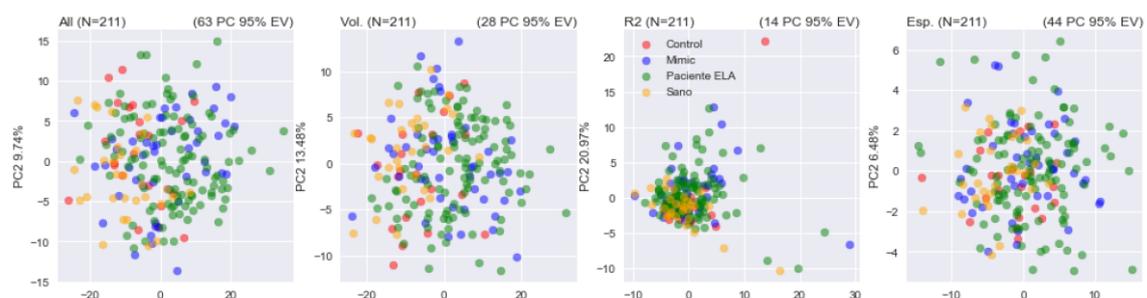


Figura 13. Proyecciones de los datos en las dos primeras componentes principales. Los casos control corresponden a los puntos rojos, los *mimic* color azul, los ELA color verde y los portadores asintomáticos color mostaza. Visualmente ya es previsible la dificultad que se va a encontrar para clasificarlos, al menos linealmente. Control: control; Mimic: ELA-*mimic*; paciente ELA: paciente ELA; Sano: portador asintomático.

1.1.3. Hotelling T2

Como ya se explicó previamente se trata de una técnica para la detección de datos anómalos en conjuntos de datos con dimensionalidad alta. En el grupo de ELA *mimic* y especialmente el grupo de ELA se identificaron una cantidad muy elevada de puntos anómalos. Mostramos en el gráfico la relativa ausencia de casos potencialmente anómalos en el grupo control comparativamente con el grupo ELA (Figura 14).

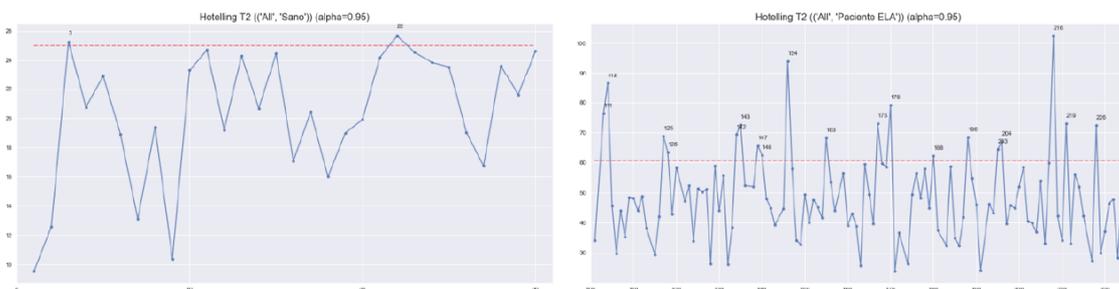


Figura 14. Gráfico en el que se muestran los casos anómalos del grupo control y del grupo ELA, aquellos puntos que sobrepasan la línea roja. Se comprueba la relativa homogeneidad del grupo control y la elevada tasa de puntos anómalos en el grupo ELA.

Estos resultados reafirman la heterogeneidad de los grupos ELA y *mimic* como ya era predecible, y ratifican el desafío que supondrá su adecuada clasificación.

1.2. MODELADO

Como ya se indicó previamente el enfoque de la clasificación es diferenciar los pacientes ELA del resto de clases. Este tipo de clasificación es la más intuitiva y útil desde un punto de vista diagnóstico.

Mediante la implementación desarrollada se obtuvieron más de 144 modelos optimizados para cada una de las propuestas, exclusivamente se constatarán e interpretarán los resultados del mejor modelo para cada tipo de clasificador con cada conjunto de tipos de variable.

En primer lugar, se utilizarán únicamente las variables de obtención automatizable (volumetría, espesor cortical y hierro R2*). Posteriormente se incorporarán las variables semicuantitativas del análisis visual de la secuencia SWI.

1.2.1 Modelo variables automatizables

Los resultados de los mejores modelos para la arquitectura propuesta se muestran en la Tabla 9. Se ha seleccionado como mejor clasificador SVC con todas las variables. La composición completa, obviando el centrado y escalado estándares para la normalización de los datos, es la siguiente: sin método de filtrado, PCA (varianza retenida 0.95) y SVC (C=10, kernel lineal, gamma escalada a varianza).

Muestreo	Clasif.	Validación				Entrenamiento			
		Métrica				Métrica			
		Acc.	AUC	Sens.	Esp.	Acc.	AUC	Sens.	Esp.
Todas	LogReg	0.706	0.765	0.719	0.691	0.815	0.891	0.831	0.795
	SVC	0.735	0.799	0.781	0.68	0.984	0.991	0.982	0.985
	KNN	0.711	0.71	0.737	0.68	0.705	0.77	0.721	0.685
	RF	0.673	0.71	0.728	0.608	1.0	1.0	1.0	1.0
Volum.	LogReg	0.701	0.72	0.772	0.619	0.761	0.808	0.803	0.711
	SVC	0.692	0.696	0.702	0.68	0.711	0.76	0.712	0.71
	KNN	0.673	0.674	0.702	0.639	0.775	0.847	0.811	0.733
	RF	0.664	0.683	0.781	0.526	1.0	1.0	1.0	1.0
Hierro	LogReg	0.583	0.618	0.675	0.474	0.631	0.665	0.729	0.517
	SVC	0.611	0.625	0.684	0.526	0.667	0.697	0.747	0.573
	KNN	0.573	0.579	0.684	0.443	1.0	1.0	1.0	1.0
	RF	0.564	0.548	0.798	0.289	1.0	1.0	1.0	1.0
Espesor	LogReg	0.668	0.714	0.737	0.588	0.689	0.741	0.724	0.647
	SVC	0.697	0.793	0.746	0.639	1.0	1.0	1.0	1.0
	KNN	0.673	0.723	0.737	0.598	0.715	0.78	0.741	0.684
	RF	0.682	0.711	0.737	0.619	0.771	0.86	0.783	0.758

Tabla 9: Resultados de los mejores modelos de la arquitectura inicial con las variables automatizables. Las filas con fondo resaltado en rojo corresponden al mejor modelo para el grupo de variables en validación. Los valores en negrita representan las mejores métricas obtenidas para el conjunto de datos acorde. Los valores subrayados corresponden al mejor modelo. Acc: *accuracy*; AUC: área bajo la curva ROC; Sens: sensibilidad; Esp: especificidad.

Aunque se trata del mejor modelo, su resultado tiene un amplio margen de mejora. El modelo está muy sobreajustado ya que en el entrenamiento las predicciones son casi perfectas y muestra un elevado valor de regularización. Además, un problema muy relevante son las métricas para la clase *mimic*, donde obtiene valores de especificidad y sensibilidad cercanas a las de un clasificador aleatorio (Figura 15). Este problema con la clase *mimic* es extensivo al resto de modelos, ningún modelo con una fiabilidad superior a 0.68 tiene una especificidad mayor de 0.6 para el grupo *mimic*.

Este modelo, respecto al resto de modelos, es el que mayor capacidad predictiva presenta para el resto de las clases y su principal desventaja es el nivel de sobreajuste. Se identifican diferencias de 0.25 en fiabilidad y 0.35 en AUC respecto a los siguientes mejores modelos que no parecen ser fútiles considerando los resultados similares del resto de modelos entre sí, motivo por el que se le considera el mejor modelo. Con todo, no se considera particularmente relevante analizar este modelo en mucha mayor profundidad debido al margen de mejora existente.



Figura 15: Matrices de confusión para el mejor clasificador, SVC con todas las variables automatizables. Control: control; Sano: portador asintomático; Mimic: *mimic*; Paciente ELA: ELA.

El sencillo análisis de los resultados permite observar la superioridad de los modelos multiparamétricos con una fiabilidad superior a 0.7 respecto a los modelos con variables de un solo tipo. En los modelos con variables de un solo tipo las variables morfométricas de volumetría y espesor cortical son mejores que los de hierro R2*.

También, como ya se ha señalado anteriormente, el problema más significativo de este modelo es la incapacidad que presenta para clasificar adecuadamente la clase *mimic*, siendo además esta característica la que mayor utilidad representa para su aplicación clínica. Se planteó otro enfoque de clasificación alternativo, primero clasificar entre alteración (pacientes ELA y ELA-*mimic*) y no alteración (portadores asintomáticos y controles) para después clasificar entre pacientes ELA y *mimic*. Este enfoque alternativo no funcionó, los métodos terminaron reduciendo sustancialmente la capacidad predictiva de las clases sano y control, clasificando la mayoría de los puntos en la clase mayoritaria.

1.2.2 Técnicas de mejora

1.2.2.1 Sobremuestreo

Debido al evidente problema en la clasificación de la clase *mimic*, es obvio que es necesario mejorar técnicamente el modelo. Se plantea como potencial mejora la posibilidad de que, mediante la generación de nuevos puntos, los clasificadores mejoren su capacidad para delimitar el espacio asociado a cada clase. En el análisis exploratorio mediante Hotelling T2 se identificó una distribución multivariante errática de los datos de los casos *mimic* y pacientes ELA, por lo que parece lógico intuir que los modelos se podrían beneficiar de la generación de nuevos puntos adicionales con los que completar el espacio y permitan un mayor equilibrio entre las clases. Para el sobremuestreo

utilizaremos 2 técnicas SMOTE (*Synthetic Minority Oversampling Technique*) y ADASYN (*ADaptive SYNthetic*). SMOTE es una técnica de sobremuestreo que genera muestras sintéticas o nuevos puntos de datos a partir de los existentes seleccionando puntos que se encuentran entre los conocidos, mientras que ADASYN además utiliza la densidad de la distribución para decidir automáticamente el número de muestras sintéticas que es necesario generar (175,176).

La aplicación de estas técnicas se ha llevado a cabo solamente para equilibrar la base de datos sobremuestreando la clase minoritaria, que es la que incluye el espacio que queremos recubrir, y obtener un ratio 1:1 entre clases. La implementación utilizada para ambas técnicas ha sido la provista en la librería *imbalanced-learn* (172). El resultado de la nueva arquitectura a la que se ha sumado el sobremuestreo se muestra en la Figura 16.

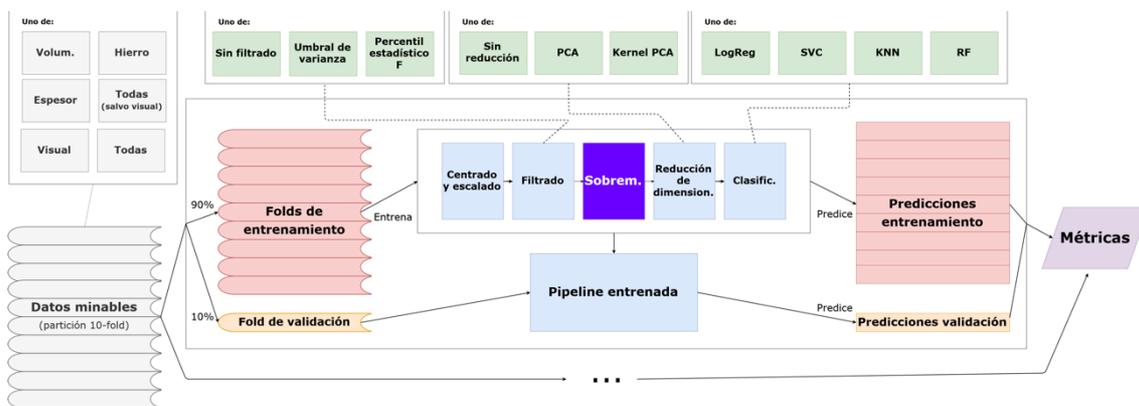


Figura 16: Diagrama del *pipeline* a la que se ha añadido el sobremuestreo (resaltado en morado).

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 10. Como se puede observar los resultados en general empeoran respecto al apartado anterior. Las métricas son inferiores y persiste la limitación de los clasificadores para identificar correctamente los casos *mimic*.

Muestreo	Clasif.	Validación				Entrenamiento			
		Métrica				Métrica			
		Acc.	AUC	Sens.	Esp.	Acc.	AUC	Sens.	Esp.
SMOTE	LogReg	0.697	0.795	0.702	0.691	0.924	0.972	0.919	0.93
	SVC	0.706	0.75	0.728	0.68	0.997	1.0	0.995	1.0
	KNN	0.626	0.625	0.596	0.66	0.87	0.949	0.867	0.874
	RF	0.531	0.529	0.491	0.577	1.0	1.0	1.0	1.0
ADASYN	LogReg	0.692	0.781	0.632	0.918	0.98	0.887	0.955	0.947
	SVC	0.725	0.752	0.728	0.722	0.997	1.0	0.994	1.0
	KNN	0.578	0.61	0.57	0.588	0.913	0.983	0.878	0.953
	RF	0.502	0.543	0.404	0.619	1.0	1.0	1.0	1.0

Tabla 10: Resultados de los mejores modelos que incluyen todas las variables después de añadir la técnica de sobremuestreo. En rojo se ha resaltado el mejor modelo para cada técnica de sobremuestreo. Los valores en negrita corresponden a las mejores métricas para cada técnica de sobremuestreo.

En este punto sobresale un modelo que presenta una excelente especificidad, se trata del modelo LogReg con ADASYN que se ha seleccionado como mejor para esta iteración. Tanto este modelo como el resto parecen sobreajustados; atendiendo a las métricas generales de entrenamiento, la generación de datos sintéticos del sobremuestreo ha ocasionado cierto sobreajuste. No obstante, lo que es ciertamente relevante es que este modelo es el primero que ha parecido posibilitar la identificación en cierto grado los pacientes *mimic*. En la Figura 17 en la que se muestran las matrices de confusión se hace visible esta afirmación.

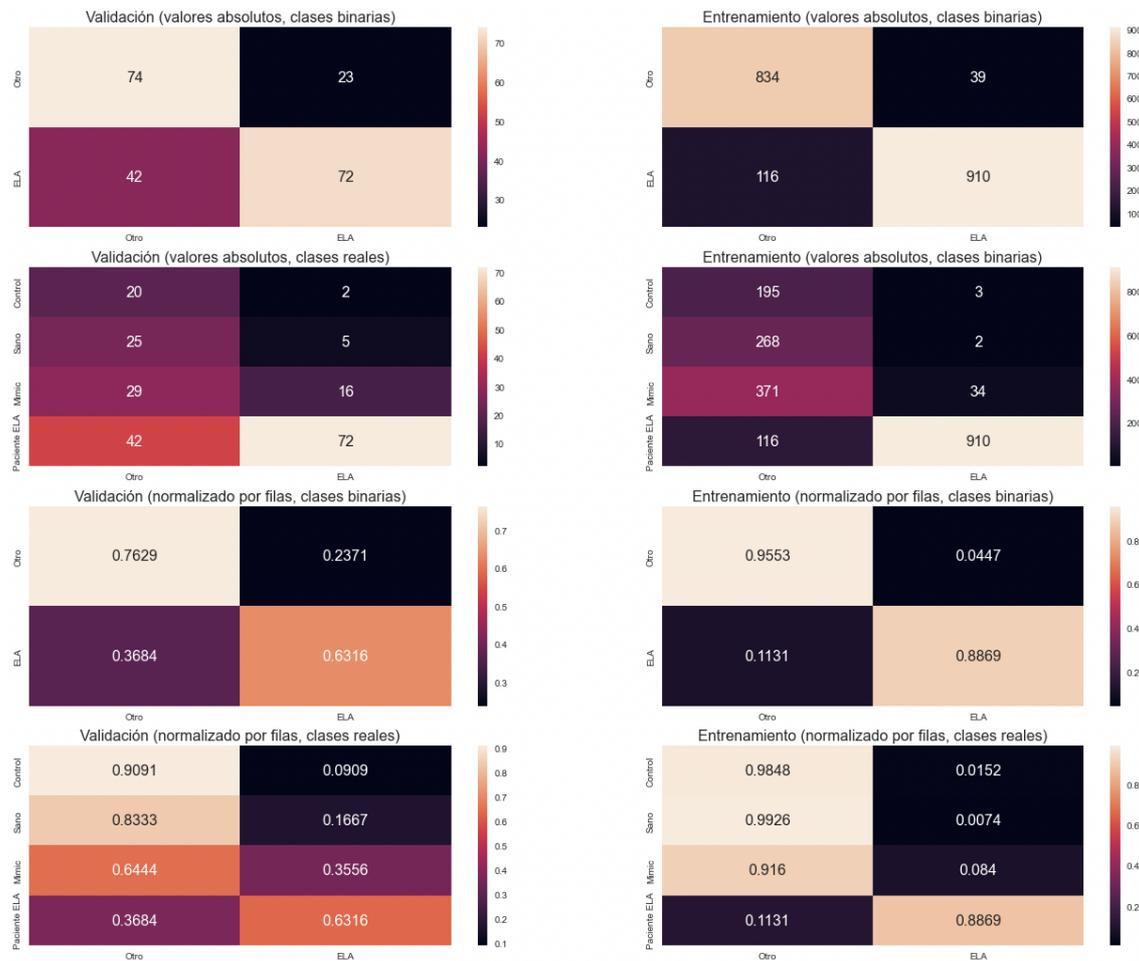


Figura 17: Matrices de confusión para LogReg con ADASYN, el mejor clasificador encontrado con sobremuestreo. Podemos identificar la mejora sustancial en la clasificación de la clase *mimic*.

En el análisis de este modelo podemos descomponer las variables con coeficientes más elevados. En el gráfico de la Figura 18 se muestra por orden las 30 con coeficientes más elevados. Como se puede observar las variables de espesor cortical son las más frecuentes y con mayor peso en el modelo. Este análisis es coincidente con el inicial en el que se estudiaron las variables de manera individual.

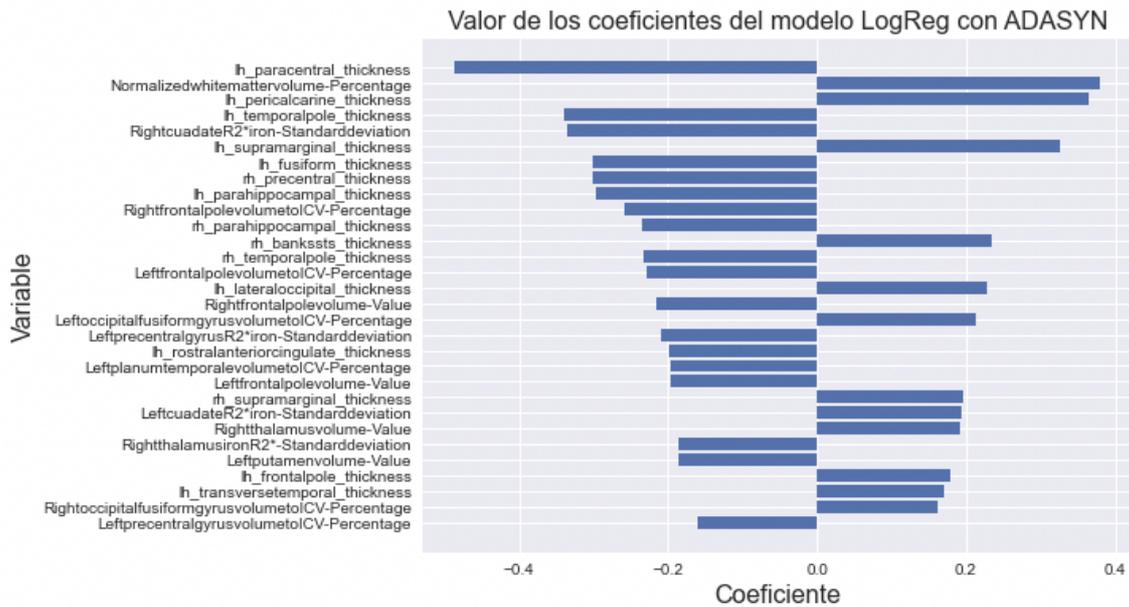


Figura 18: Variables con mayor coeficiente del modelo LogReg con ADASYN, las variables de espesor cortical son las más abundantes.

1.2.2.2 Doble filtrado de variables

El sobremuestreo no funcionó según lo previsto, posiblemente por la presencia de variabilidad no relevante magnificada por la generación de nuevos puntos. Resulta razonable buscar métodos que reduzcan este ruido para lo que se puede hacer uso de las variables con mayor relevancia (*feature importance*) medida a través de coeficientes de LogReg.

Para llevar a cabo esta tarea, se filtra cada subconjunto de datos utilizando una regresión LASSO (*least absolute shrinkage and selection operator*) con un parámetro de regularización bajo (177). Es un método de análisis de regresión que realiza selección de variables y regularización para mejorar la exactitud e interpretabilidad del modelo, presenta tendencia a anular el efecto de variables asignándoles coeficientes de cero para reducir lo máximo posible el hipotético ruido. Se aplica un umbral arbitrario de 0.1 para este filtrado.

Ya se utilizaban técnicas de filtrado en el modelo, pero este doble filtrado no es incompatible y puede secuenciarse. En la Figura 19 se muestra el nuevo flujo de trabajo aplicando el doble filtrado de variables.

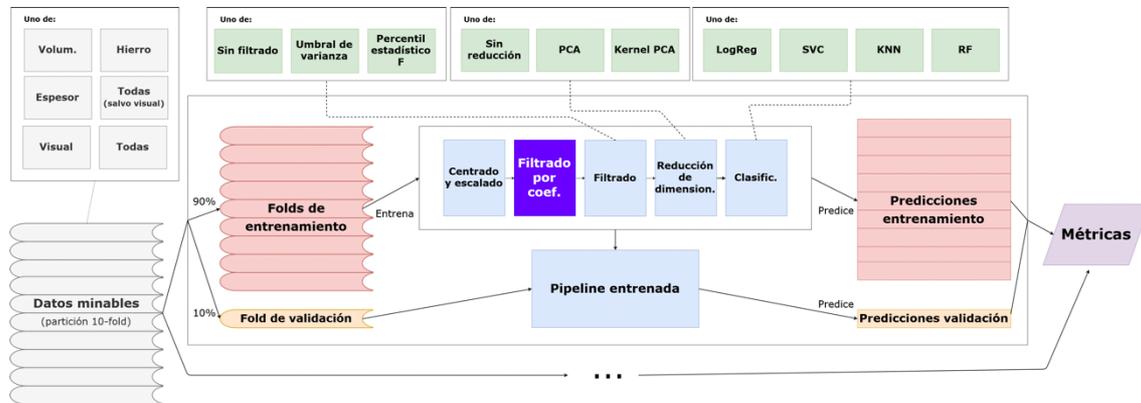


Figura 19: Diagrama del *pipeline* a la que se ha añadido el filtrado por relevancia (*feature importance*) (resaltado en morado).

Esta nueva arquitectura mejora significativamente los resultados para el conjunto de todas las variables, lo que puede reafirmar la presencia de ruido en los datos. En el resto de los conjuntos también se identifica una mejoría de las métricas, pero de menor valor, probablemente porque el ruido tenía un mayor efecto en el conjunto de todas las variables. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 11.

Variables	Clasif.	Validación				Entrenamiento			
		Métrica				Métrica			
		Acc.	AUC	Sens.	Esp.	Acc.	AUC	Sens.	Sens.
Todas	LogReg	0.782	0.874	0.816	0.742	0.894	0.957	0.913	0.871
	SVC	0.815	0.879	0.833	0.794	0.896	0.949	0.91	0.88
	KNN	0.749	0.791	0.772	0.722	0.771	0.847	0.796	0.741
	RF	0.706	0.797	0.737	0.67	1.0	1.0	1.0	1.0
Volum.	LogReg	0.73	0.737	0.789	0.66	0.753	0.807	0.794	0.703
	SVC	0.682	0.707	0.728	0.629	0.68	0.7	0.718	0.635
	KNN	0.673	0.674	0.702	0.639	0.767	0.845	0.779	0.753
	RF	0.664	0.706	0.632	0.701	1.0	1.0	1.0	1.0
Hierro	LogReg	0.649	0.647	0.728	0.557	0.647	0.677	0.74	0.537
	SVC	0.602	0.627	0.667	0.526	0.679	0.702	0.75	0.597
	KNN	0.645	0.664	0.719	0.557	1.0	1.0	1.0	1.0
	RF	0.578	0.612	0.658	0.485	1.0	1.0	1.0	1.0
Espesor	LogReg	0.697	0.771	0.746	0.639	0.711	0.782	0.739	0.679
	SVC	0.701	0.759	0.746	0.649	0.862	0.928	0.841	0.885
	KNN	0.645	0.731	0.684	0.598	0.688	0.781	0.715	0.656
	RF	0.621	0.696	0.675	0.557	0.87	0.95	0.879	0.86

Tabla 11: Resultados de los mejores modelos una vez añadida la técnica de doble filtrado. Las filas con fondo resaltado en rojo corresponden al mejor modelo para el grupo de variables en validación. Los valores en negrita representan las mejores métricas obtenidas para el conjunto de datos acorde. Los valores subrayados corresponden al mejor modelo.

El clasificador que mejores métricas presenta en validación es el SVC con todas las variables y la misma estructura de la primera iteración del *pipeline* –PCA (0.95 varianza retenida) y SVC (C=10, kernel lineal, gamma escalada a varianza). Con este modelo aumenta significativamente la fiabilidad y el AUC, a 0,815 y 0,879 respectivamente. Además, consigue aumentar la especificidad de la clase *mimic* a 0,71, como se muestra en las matrices de confusión de la Figura 20. Las variables utilizadas son casi las mismas a las seleccionadas por el clasificador anterior.

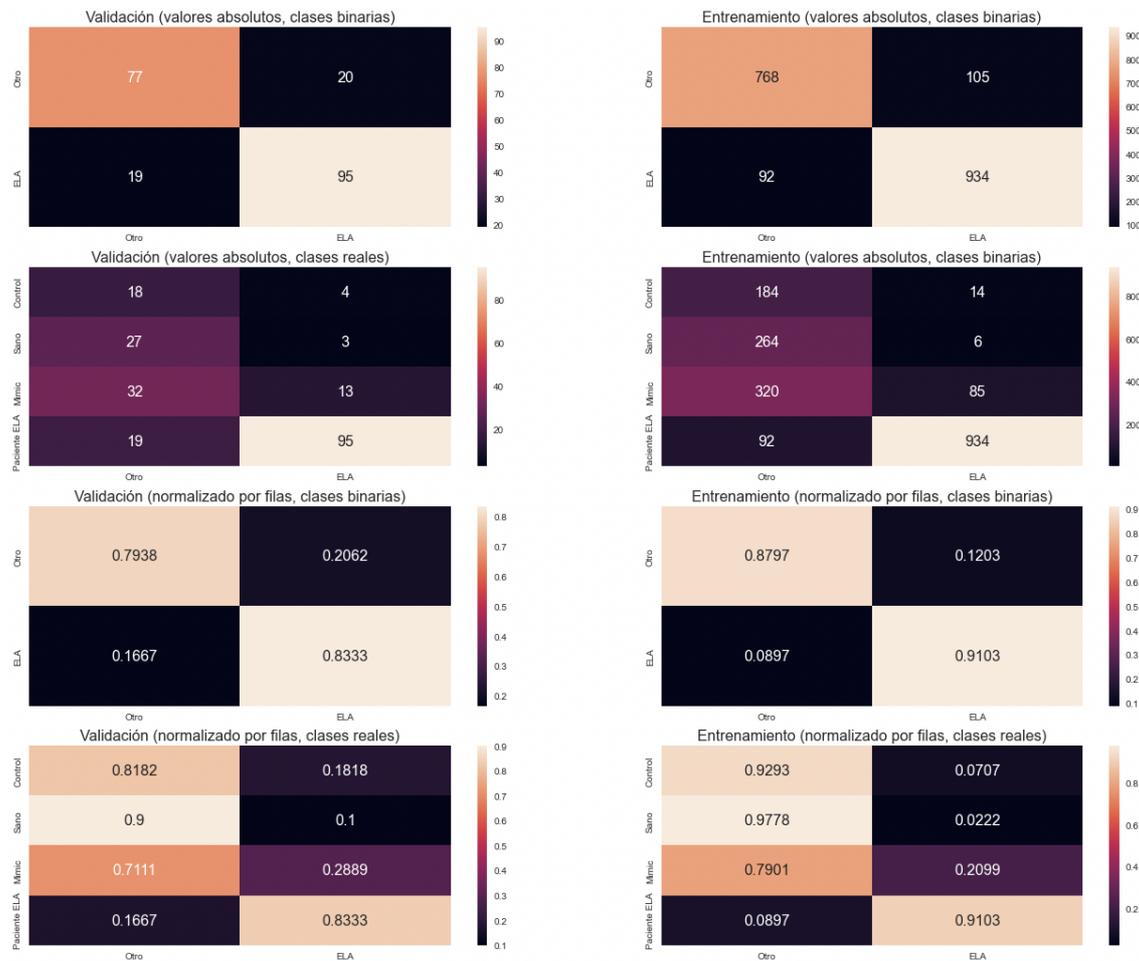


Figura 20: Matrices de confusión para SVC con todas las variables automatizables, el mejor clasificador encontrado con doble filtrado. Podemos identificar la mejora sustancial en la clasificación de la clase *mímic* con una especificidad de 0,71.

1.2.3 Modelo incorporación variables análisis visual SWI

Al modelo anterior incorporamos las seis variables semicuantitativas de hierro procedentes del análisis visual de la secuencia SWI.

A las arquitecturas de base y de doble filtrado, que son las que mejor resultado han obtenido, se añaden las variables de análisis visual para evaluar cuánto se consigue mejorar la capacidad diagnóstica del modelo. También se utilizan de

forma aislada estas seis variables visuales para determinar de forma individual que valor tienen.

Tras la integración de las variables del análisis visual la mejoría es ostensible. Como se puede observar en la Tabla 12, los cuatro mejores modelos de cada tipo de clasificador superan aumentan su fiabilidad y AUC, incluyendo a KNN y RF que no habían obtenido buenos resultados. El mejor método absoluto es SVC con todas las variables tras aplicar doble filtrado con la misma secuencia utilizada hasta el momento: PCA (varianza retenida 0.95) seguida de SVC (C=10, kernel lineal, gamma escalada a varianza). En la Figura 21 se muestran los resultados para este modelo.

Variables	Clasif.	Validación				Entrenamiento			
		Métrica				Métrica			
		Acc.	AUC	Sens.	Esp.	Acc.	AUC	Sens.	Sens.
Todas	LogReg	0.825	0.879	0.842	0.804	0.893	0.955	0.889	0.898
	SVC	0.806	0.867	0.807	0.804	0.932	0.974	0.926	0.939
	KNN	0.806	0.839	0.728	0.897	0.81	0.838	0.733	0.901
	RF	0.801	0.794	0.728	0.887	0.815	0.852	0.738	0.906
Todas (doble filtrado)	LogReg	0.858	0.924	0.851	0.866	0.905	0.966	0.889	0.923
	SVC	0.872	0.94	0.886	0.856	0.935	0.981	0.941	0.928
	KNN	0.754	0.865	0.64	0.887	0.781	0.9	0.671	0.911
	RF	0.825	0.883	0.868	0.773	1.0	1.0	1.0	1.0
Visuales	LogReg	0.806	0.808	0.763	0.856	0.805	0.849	0.764	0.852
	SVC	0.787	0.794	0.728	0.856	0.815	0.842	0.759	0.881
	KNN	0.749	0.807	0.702	0.804	0.778	0.834	0.72	0.845
	RF	0.782	0.804	0.737	0.835	0.819	0.864	0.76	0.889

Tabla 12: Resultados de los mejores modelos incorporando las variables del análisis visual. Como en las tablas anteriores, las filas con fondo rojo pertenecen al mejor modelo para el grupo de variables en validación, los valores en negrita corresponden a las mejores métricas obtenidas para el conjunto de datos acorde y los valores subrayados corresponden al mejor modelo.

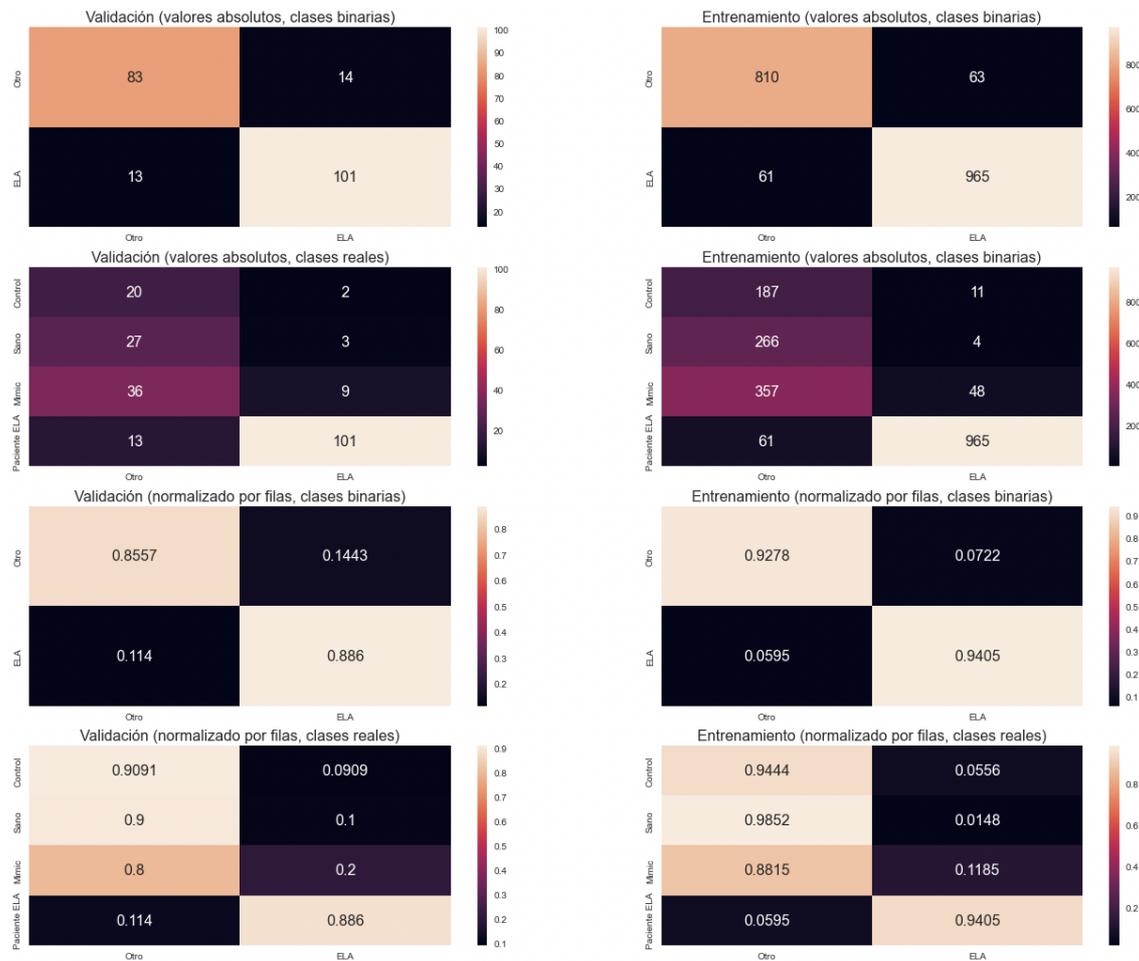


Figura 21: Matrices de confusión para SVC con doble filtrado habiendo integrado las variables de análisis visual. Es ostensible la mejora en la clasificación de la clase *mimic* con una especificidad de 0,8.

En cuanto al valor individual de las variables de análisis visual, son llamativos los buenos resultados que obtienen. Su mejor clasificador es LogReg ($C=0.001$, sin penalización) precedido de kernel PCA (kernel radial, retiene 5 componentes). Sus métricas de fiabilidad y AUC, 0,886 y 0,808 respectivamente, son superiores a las de la arquitectura con todas las variables automatizables (Tabla 12). En la Figura 22 podemos observar sus resultados, siendo manifiesto su gran rendimiento.

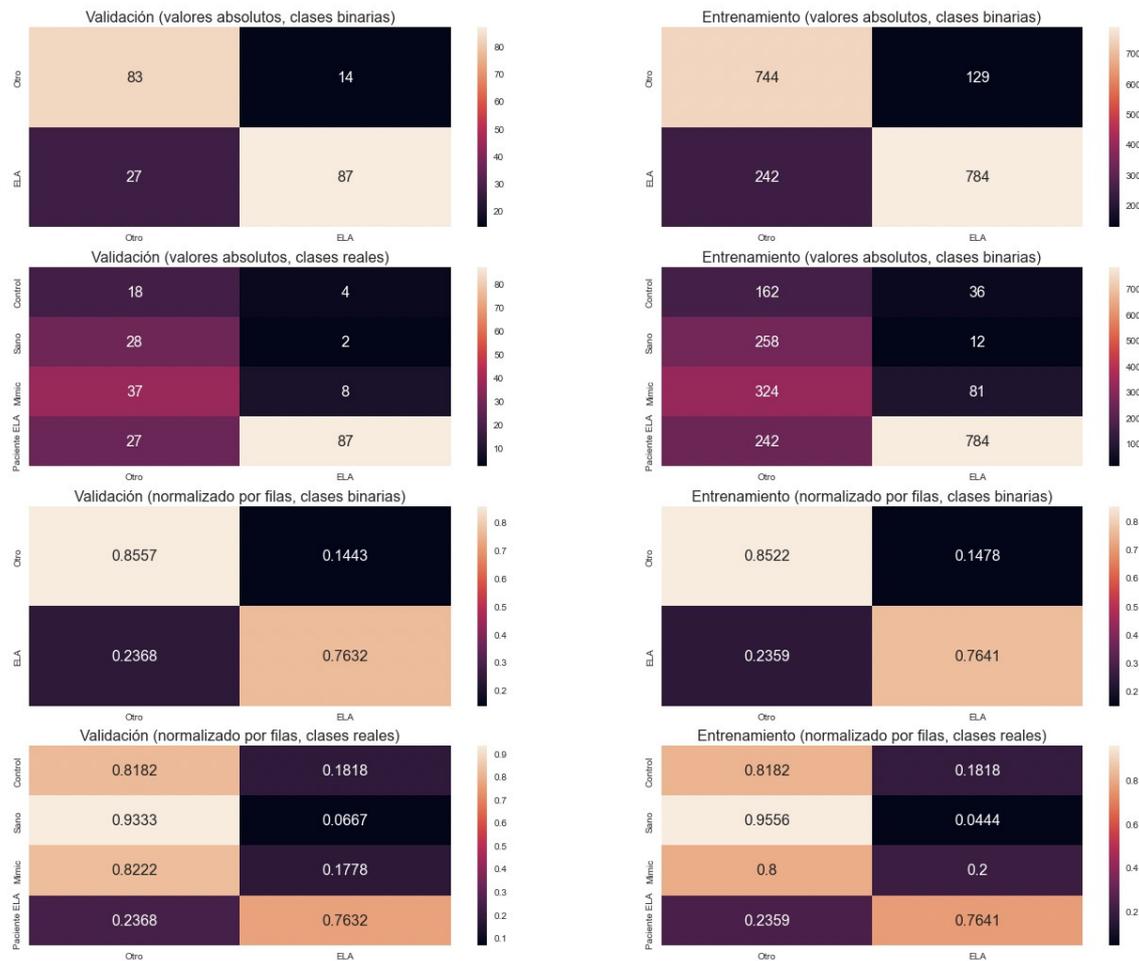


Figura 22: Matrices de confusión para LogReg con las variables de análisis visual.

1.2.4 Clasificador compuesto: votación suave

En este punto del desarrollo del modelo, parece que algunos de los clasificadores muestran determinados sesgos, los modelos que mejor han clasificado la clase *memic* han compensado con una reducción de sensibilidad. Es razonable pensar que la creación de un clasificador que agrupe las predicciones de los mejores clasificadores puede mitigar esta contrariedad.

Esta tarea se ha planteado como un clasificador por votación suave, en el que se predice la categoría de la muestra mediante la elección de la probabilidad acumulada de las categorías por todos los clasificadores incluidos. De este

modo, el clasificador compuesto vota en función de las probabilidades estimadas devueltas por otros modelos.

Para llevar a cabo este cometido, se han combinado los cinco mejores modelos que incorporan el doble filtrado con todas las variables automatizables, y los cinco mejores modelos con todas las variables incluyendo las de análisis visual.

Los resultados para el conjunto de todas las variables incluido el análisis visual son los mejores hasta el momento como se puede ver en la Tabla 13. Todas las métricas se aproximan al 0.9 en validación: fiabilidad 0.896, AUC 0.929, sensibilidad 0.886 y especificidad de 0.907. Asimismo, también se mejora la capacidad predictiva de la clase *mimic* como podemos identificar en las matrices de confusión asociadas en la Figura 23, sin que exista perjuicio en otras competencias del modelo, clasificando adecuadamente al 84,44% de esta clase.

Sin embargo, esta mejora no se da para el subconjunto de datos sin las variables de análisis visual. En este caso, el nuevo modelo no presenta mejora de las métricas respecto al mejor modelo individual obtenido en las iteraciones anteriores.

Variables	Validación				Entrenamiento			
	Métrica				Métrica			
	Acc.	AUC	Sens.	Esp.	Acc.	AUC	Sens.	Esp.
Con Visual	0.896	0.929	0.886	0.907	0.914	0.971	0.896	0.935
Sin Visual	0.815	0.872	0.825	0.804	0.873	0.938	0.894	0.848

Tabla 13: Resultados de los clasificadores compuestos por votación suave.

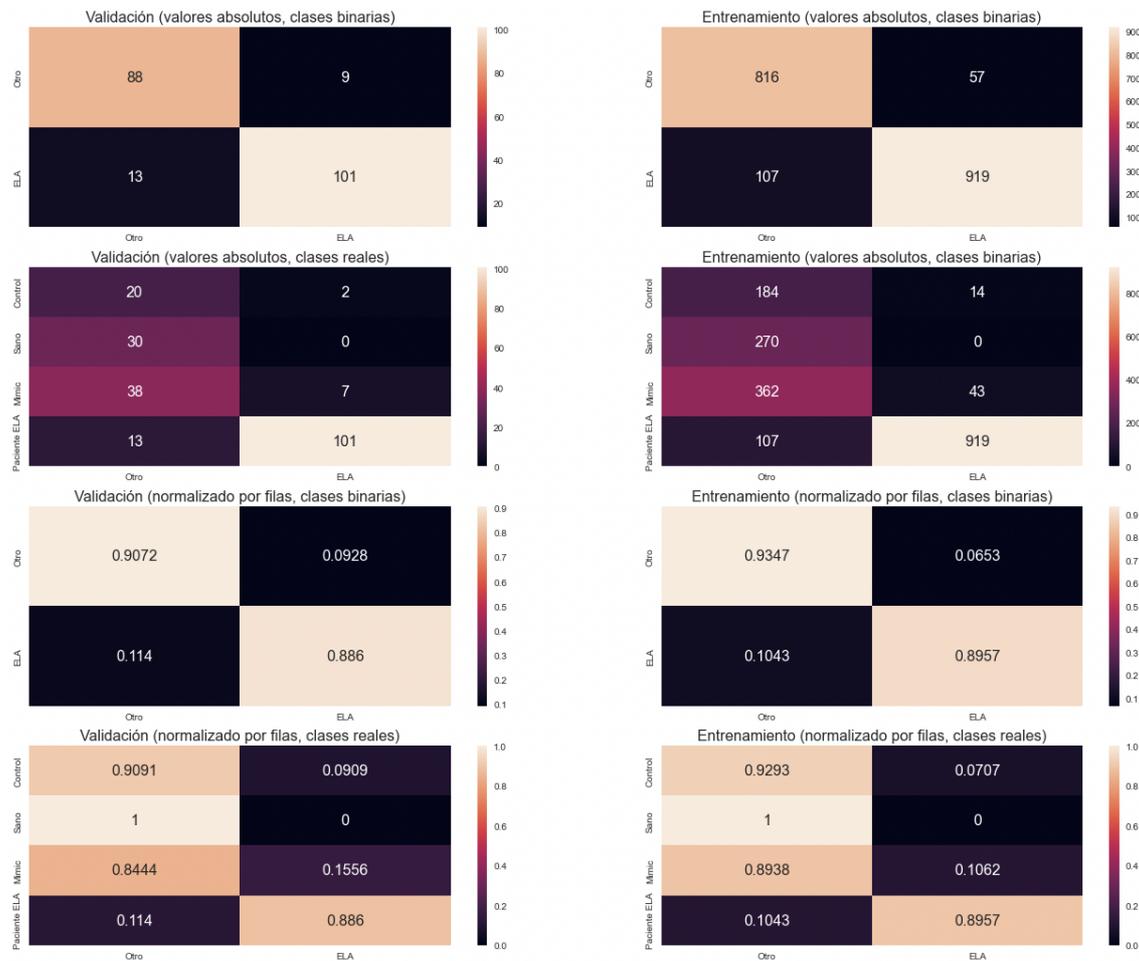


Figura 23: Matrices de confusión para el mejor clasificador compuesto por votación suave con todas las variables automatizables y las variables de análisis visual.

2. MODELOS PRONÓSTICOS Y DE ESTRATIFICACIÓN

Ningún modelo pronóstico de supervivencia basado en las variables radiómicas ha obtenido resultados satisfactorios. Se han explorado sistemas de clasificación según se habían estratificado a los pacientes conforme a su supervivencia, y sistemas de regresión. Se han utilizado todas las variables y también selecciones de las mismas por métodos de filtrado y por elección basada en el conocimiento previo de la literatura.

Tampoco los modelos pronósticos de progresión han funcionado favorablemente. Igualmente, se han valorado sistemas de clasificación y regresión según la tasa de progresión, con todas las variables y con las selecciones de variables con técnicas de filtrado y por elección.

Los modelos de estratificación de clasificación y regresión según el grado de afectación clínica de MNS no obtienen resultados favorables. No es posible, con estos algoritmos, obtener endofenotipos basados en las características radiómicas con diferente grado de afectación clínica de MNS.

3. DESARROLLO E IMPLANTACIÓN DEL INFORME ESTRUCTURADO

3.1 INFORME ESTRUCTURADO

Se ha diseñado e implementado un informe estructurado en el que se ha estandarizado y organizado toda la información que debe contener el informe radiológico, singularizado para pacientes a los que se le realiza el protocolo específico de RM de valoración de MNS.

Se trata de una plantilla con despleables que incluye todas las preguntas y respuestas pactadas en el equipo multidisciplinar responsable de la ELA. Estas plantillas se guardan y conservan, lo que permite recoger toda la información como base de datos explotable para los cuadros de mando y su posible explotación científica (178).

Este informe recoge la información del análisis visual de la exploración en el que se evalúan:

1. Valoración de hierro en córtex de circunvolución precentral mediante la evaluación de la intensidad de señal de la secuencia SWAN en tres regiones correspondientes a las áreas motoras del pie, mano y lengua.
 - a. 0: intensidad de señal normal.

- b. 1: discreta hipointensidad de señal, similar a la del cuerpo calloso.
 - c. 2: marcada hipointensidad de señal, similar a la de las venas subependimarias.
2. Valoración de la integridad del tracto corticoespinal mediante la evaluación de la intensidad de señal de la secuencia FLAIR en la sustancia blanca subcortical precentral y en el brazo posterior de la cápsula interna. Se utiliza la siguiente escala:
- a. 0: intensidad de señal normal.
 - b. 1: discreta hiperintensidad de señal, similar a la de la cortical.
 - c. 2: marcada hiperintensidad de señal, superior a la de la cortical.
3. Valoración de la atrofia selectiva de la circunvolución precentral y dilatación del surco central.

En este informe como se muestra en la Figura 24, también se incluyen la información de las escalas y diagramas explicativos en los que se representa la localización de la circunvolución precentral y la distribución somatotópica del córtex motor primario con el homúnculo de Penfield.

Además, la plantilla crea por defecto un informe con toda la información en un formato que puede copiarse en el portapapeles y en el sistema de informe radiológico del Hospital.

Informe radiológico – Esclerosis lateral amiotrófica (ELA)

Información clínica

Comentario:

Técnica

RM Cabeza sin contraste iv, protocolo ELA (FLAIR, spGR-T1 3D, SWAN, T2* multi-eco 8 ecos, DTI 32 direcciones, BOLD EPI T2* en reposo).

Tipo de exploración: dd/mm/aa

Informe

Depósito de hierro en córtex de circunvolución precentral (SWAN):

	Lado derecho	Lado izquierdo
Pie	<input type="text" value=""/>	<input type="text" value=""/>
Mano	<input type="text" value=""/>	<input type="text" value=""/>
Lengua	<input type="text" value=""/>	<input type="text" value=""/>

Localización donde predomina la afectación: Región Lateralidad

Otras regiones:

Alteración de la intensidad de señal del tracto corticoespinal en FLAIR:

	Lado derecho	Lado izquierdo
Sustancia blanca subcortical precentral	<input type="text" value=""/>	<input type="text" value=""/>
Vía corticoespinal (brazo posterior cápsula interna)	<input type="text" value=""/>	<input type="text" value=""/>

Atrfia selectiva de circunvolución precentral y dilatación de surco central:

	Lado derecho	Lado izquierdo
	<input type="text" value=""/>	<input type="text" value=""/>

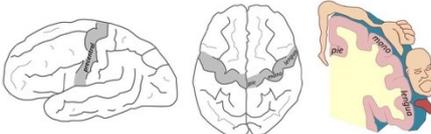
Otros hallazgos:

Conclusión

Afectación motoneurona superior:

Información adicional

- **Análisis de la intensidad de señal de la circunvolución precentral en SWAN**
 - 0: intensidad de señal normal
 - 1: discreta hipointensidad, similar a la del cuerpo calloso
 - 2: marcada hipointensidad, similar a la intensidad de señal de las venas subependimarias
- **Análisis de la intensidad de señal del tracto cortico espinal en FLAIR**
 - 0: intensidad de señal normal
 - 1: discreta hiperintensidad, similar a la del cortical
 - 2: marcada hiperintensidad, mayor a la del cortical



Resumen

INFORMACIÓN CLÍNICA:

TÉCNICA: RM CABEZA sin contraste iv, protocolo ELA (SW, T2-relajometría, DTI, RMf en reposo).

INFORME:

1. Depósito de hierro en córtex de circunvolución precentral (SWI):
 - Lado derecho: Mano: /2
 - Lado izquierdo: Pie: /2
 - Lengua: /2
 - Lado izquierdo: Mano: /2
 - Pie: /2
 - Lengua: /2
 - Otras regiones: sí/no, localización
2. Alteración de la intensidad de señal del tracto corticoespinal (FLAIR):
 - Lado derecho: Sustancia blanca subcortical precentral: /2
 - Vía corticoespinal (brazo posterior cápsula interna): /2
 - Lado izquierdo: Sustancia blanca subcortical precentral: /2
 - Vía corticoespinal (brazo posterior cápsula interna): /2
3. Atrfia selectiva de circunvolución precentral y dilatación del surco central:
 - Lado derecho: sí/no
 - Lado izquierdo: sí/no
4. Resto de hallazgos intracraneales.

CONCLUSIÓN:

Afectación de motoneurona superior sí/no

Copiar en el portapapeles
Guardar y cerrar
Cerrar

Figura 24: Informe estructurado de ELA: se trata de una plantilla de desplegables que además incluye información sobre las escalas utilizadas y diagramas que se representan la localización de la circunvolución precentral y la distribución somatotópica del córtex motor primario con el homúnculo de Penfield.

3.2 INFORME ESTRUCTURADO CUANTITATIVO

El informe estructurado cuantitativo incluye información de los biomarcadores de imagen que se consideran relevantes de la enfermedad que se trata (178). Este informe incorpora los datos obtenidos de forma automatizada, una interpretación de los resultados y su representación gráfica. En el caso de la ELA se ha considerado conveniente incorporar de momento información de: volumetría, espesor cortical y hierro R2*. Junto con Quibim S.L., empresa especializada en el procesamiento de imágenes médicas radiológicas y la

extracción de biomarcadores de imagen, spin-off del Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, se ha desarrollado un proceso automatizado ejecutable de forma instantánea y se han elaborado las plantillas de resultados. Estas plantillas se pueden exportar al PACS (del acrónimo inglés *Picture Archiving and Communication System*) y quedan como un anexo a las imágenes, disponible para el radiólogo antes de que haga el informe en el sistema de informado radiológico del hospital y para el clínico. Como en el caso anterior, toda la información se guarda de forma automatizada lo que posibilita su valoración evolutiva y su explotación con fines científicos.

Se han desarrollado informes cuantitativos de volumetría, espesor cortical y hierro R2* de todas las regiones en las que se parcela el encéfalo e informes específicos en los que se valoran exclusivamente estos biomarcadores en la circunvolución precentral. En la Figura 25 se muestra como ejemplo la plantilla de análisis de volumetría de todas las regiones, de forma gráfica se evalúa rápidamente los volúmenes relativos de cada región respecto al volumen intracraneal y el rango de normalidad. La Figura 26 corresponde al informe cuantitativo de volumetría de la circunvolución precentral en el que se indica la volumetría absoluta y relativa respecto al volumen intracraneal de la circunvolución precentral en un único momento o en diferentes puntos de tiempo. Así, se muestran los resultados en las gráficas de volumen-tiempo identificando visualmente la franja de normalidad con facilidad.

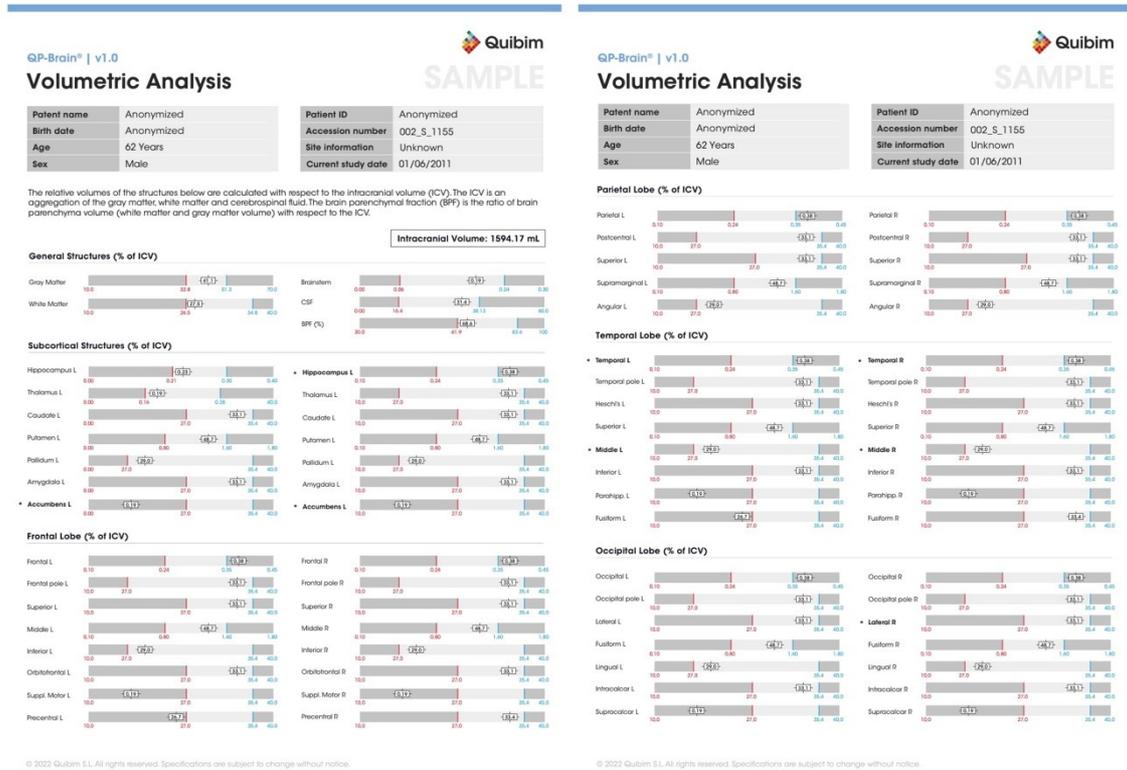


Figura 25: Plantilla de informe cuantitativo de volumetría de todas las regiones. Se muestra la volumetría relativa respecto al volumen intracraneal de todas las regiones en las que se parcela el encéfalo. Los resultados se muestran en una barra en la que es fácilmente valorable el rango de normalidad para la edad del sujeto. La empresa Quibim S.L. ha incorporado esta plantilla de resultados a su análisis.

QP-Brain® | v1.0

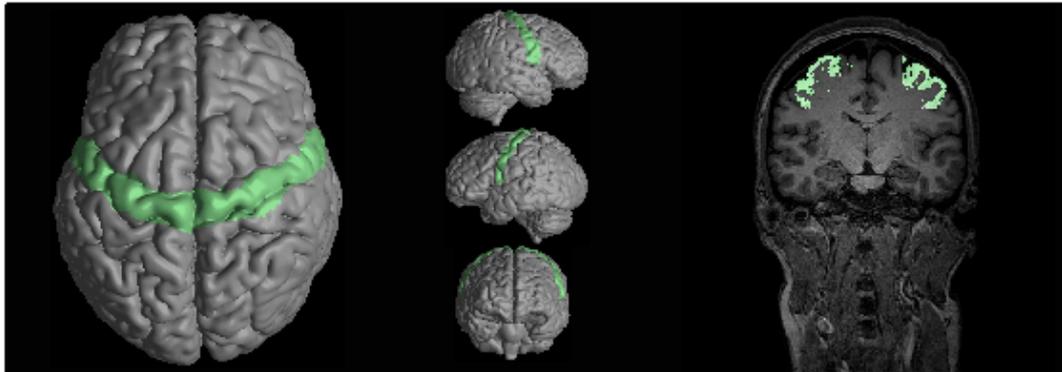
Motor Cortex Volumetry



SAMPLE

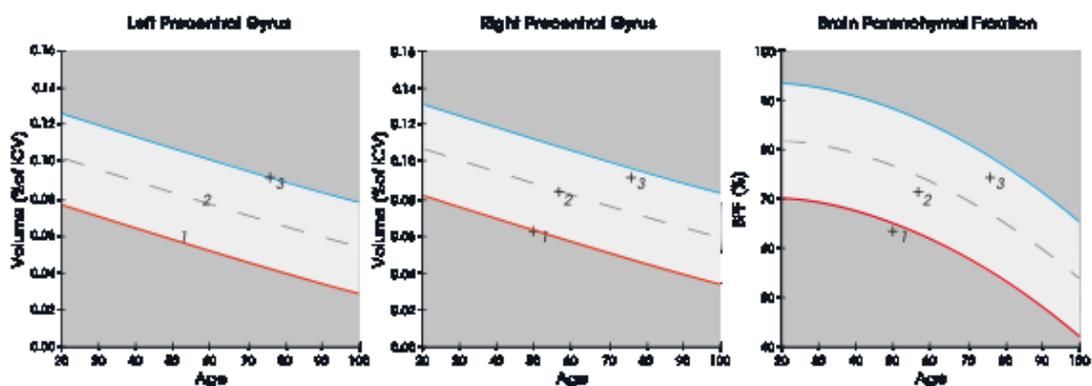
Patent name	Anonymized
Birth date	Anonymized
Age	62 Years
Sex	Male

Patient ID	Anonymized
Accession number	002_S_1155
Site information	Unknown
Current study date	01/06/2011



Precentral Gyrus

Timepoint	Date	Absolute volume (mL)		Relative volume (% of ICV)*		Brain Parenchymal Fraction (%)**
		Left	Right	Left	Right	
1	12/14/2006	13.3	12.5	0.83	0.78	70.3
2	03/13/2009	12.3	11.5	0.78	0.73	69.4
3	01/06/2011	12.7	11.6	0.80	0.72	67.6



*The intracranial volume (ICV) is an aggregation of the gray matter, white matter and cerebrospinal fluid volume, including the cerebellum.
 **The brain parenchymal fraction (BPF) is the ratio of brain parenchyma volume (white matter and gray matter volume) with respect to the ICV.
 © 2022 Quibim S.L. All rights reserved. Specifications are subject to change without notice.

Figura 26: Plantilla de informe cuantitativo de volumetría de la circunvolución precentral. Se indica la volumetría absoluta y relativa respecto al volumen intracraneal de la circunvolución precentral en diferentes puntos de tiempo. Se

muestran los resultados como puntos en las gráficas de volumen-tiempo identificando la normalidad con franjas entre las líneas azul y roja. La empresa Quibim S.L. también ha incorporado esta plantilla de resultados a su análisis.

3.3 PROTOTIPO DE APLICACIÓN DIAGNÓSTICA

Se ha diseñado un prototipo de aplicación diagnóstica que incluye una sección de carga y selección de los biomarcadores y otra de análisis, Figura 27.

En el apartado de datos se incluyen qué variables se desean a utilizar: volumetría, espesor cortical, hierro R2* y análisis visual de SWAN. En el apartado de análisis se muestra las probabilidades de que el paciente tenga ELA calculadas por hasta cuatro modelos distintos junto a sus intervalos de confianza 95 %, siempre por defecto el mejor modelo será el primero. En la parte inferior de este apartado se muestra el panel de biomarcadores en el que se puede analizar cuál es su efecto sobre el paciente y su valor con respecto en la distribución poblacional estimada.

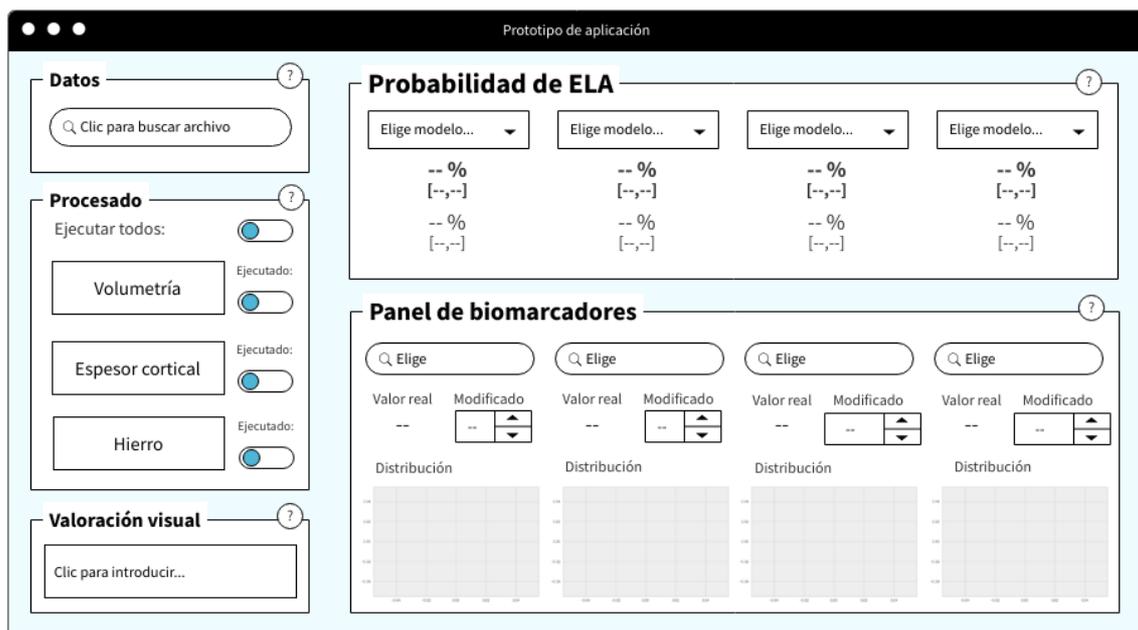


Figura 27: Interfaz del prototipo de aplicación diagnóstica, en la derecha el apartado de carga y selección de biomarcadores, en la izquierda la probabilidad de ELA según el modelo y el panel de biomarcadores.

DISCUSIÓN

1. PROTOCOLO DE RM CABEZA PARA VALORACIÓN DE LA ELA

Actualmente, existe un consenso sobre la utilización de RM de cabeza en los pacientes con sospecha de ELA (50), su uso sólo se recomienda para excluir otras patologías, debido a su baja sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de ELA, especialmente en las etapas iniciales de la enfermedad (56). Por este motivo, la utilización de técnicas avanzadas que permiten extraer computacionalmente diversos parámetros cuantitativos subrogados (que se pueden comportar como indicadores de procesos biológicos), como en este trabajo, cobra tanta relevancia.

En cambio, no existe acuerdo sobre el protocolo específico a utilizar. Sería tremendamente útil la creación de una red internacional de grupos de investigación multidisciplinares que emita unas guías básicas sobre el protocolo de exploración a utilizar, orientado a la investigación, basadas en la revisión de la literatura y en la experiencia profesional propia, similar al empleado en otras enfermedades como la Esclerosis Múltiple (179).

La estandarización de protocolos optimizados entre los centros es un objetivo primordial, ya que permite obtener una unificación del manejo e interpretación de las exploraciones, así como un requisito básico para la realización de estudios de investigación multicéntricos. Esta unificación de criterio y técnica supone especialmente un reto con las exploraciones de RM debido a la gran variabilidad de disponibilidad, tecnología, tipos de secuencias y parámetros de cada secuencia.

En esta Tesis Doctoral se ha diseñado un protocolo específico de RM de cabeza para la valoración de la ELA, en este protocolo se incluye: una secuencia FLAIR-FSE potenciada en T2 axial, una secuencia SPGR potenciada en T1 axial de alta resolución, una secuencia SWAN axial, una secuencia potenciada en T2* multi-

eco con mapa de relajatividad T2*, una secuencia BOLD EPI T2* de estudio funcional en estado de reposo, y una secuencia de DWI con tensor difusión. Sin embargo, este protocolo no es inflexible, está abierto a potenciales mejoras y pensamos que su revisión periódica es una parte importante del proyecto reexaminando regularmente la literatura y nuestros propios resultados.

En nuestro protocolo no hemos incluido la espectroscopia para limitar el tiempo de uso de máquina y optimizar la seguridad y comodidad del paciente. La exclusión de esta técnica y de otras que tampoco han sido incluidas puede suponer una limitación. Los principales motivos que nos han llevado a prescindir la espectroscopia son varios. En primer lugar, se trata de una técnica que no analiza todo el cerebro, al contrario que otras técnicas como las morfométricas, en la espectroscopia se debe definir el volumen de interés lo que penaliza la automatización del proceso y no permite analizar otras regiones cerebrales en una enfermedad considerada multisistémica, en la que incluso la afectación extramotora puede dominar el cuadro clínico. Otro motivo de gran peso ha sido que la práctica totalidad de los estudios con los que se ha valorado su potencial diagnóstico solo han evaluado su poder discriminatorio entre pacientes ELA y controles sanos, además con resultados de sensibilidad y especificidad muy variables, pero en general limitados (180). No obstante, los avances tecnológicos con nuevas secuencias, campos magnéticos de mayor potencia y desarrollo de técnicas de todo el cerebro y cuantificación automatizada, están enriqueciendo ostensiblemente la técnica, posibilitando la detección de nuevos metabolitos relacionados con la enfermedad y la valoración global de todas las regiones cerebrales e incluso de otras previamente inaccesibles como la médula espinal.

La secuencia de susceptibilidad que fue incluida en el protocolo es la secuencia SWAN proporcionado por General Electric, debido a que en el momento en el que se inició el proyecto en nuestro centro la RM estaba externalizada y no nos permitían la manipulación directa de los equipos. El contraste de esta secuencia

se basa en el fenómeno de susceptibilidad magnética, que es la capacidad de una sustancia para inducir variaciones en el campo magnético local en presencia de un campo magnético externo. Se trata de una secuencia multi-eco que obtiene diferentes contrastes de T2* con un TE largo efectivo y un algoritmo de reconstrucción que pondera estos diferentes ecos para aumentar la sensibilidad al fenómeno de la susceptibilidad magnética (159). Esta secuencia explota únicamente las imágenes de magnitud que son las que permiten valorar pequeñas variaciones de la susceptibilidad en forma de hiposeñal (181), pero no las imágenes de magnitud que proporcionan información adicional al permitir establecer un mapa de las diferencias de fase entre los tejidos e intervienen en el postproceso en forma de máscara aplicada a las imágenes de magnitud para resaltar las diferencias de susceptibilidad de los tejidos (182,183). Por este motivo no se pueden obtener los mapas cuantitativos de susceptibilidad cerebrales que permiten detectar y cuantificar la distribución tridimensional de la susceptibilidad y de forma indirecta de hierro. Para paliar esta deficiencia se incluyó la secuencia T2* multi-eco para la obtención de mapas de relajatividad. Sin embargo, QSM presenta mayor relación señal-ruido y proporciona medidas de hierro más fiables sin dependencia de la geometría u orientación de las regiones de interés y efectos no locales (184–186). De ahí que se haya usado con frecuencia y con éxito en pacientes con ELA (118,121,187,188).

En nuestro protocolo hemos considerado imprescindible incluir las secuencias 3D T1 y DTI, principales técnicas para la evaluación de las características morfométricas e integridad de la sustancia gris y sustancia blanca respectivamente. A partir de la secuencia 3D T1 se obtienen los mapas derivados de volumetría y espesor cortical, mientras que con la Imagen tensor difusión se calculan las métricas de integridad estructural de los diferentes tractos de sustancia blanca. En esta Tesis, no se ha incluido el cálculo los parámetros de la DTI ni se han introducido en los modelos diagnóstico ni

predictivos, pero su incorporación parece que es el siguiente paso lógico e inexcusable en el futuro más inmediato.

2. PREPARACIÓN Y PROCESADO DE IMÁGENES

La preparación de las imágenes es un paso fundamental en los flujos de trabajo de obtención de biomarcadores, ya que mejoran la calidad de las imágenes y permiten normalizar las imágenes a un espacio común geométrico o de intensidad.

Este paso es especialmente relevante con la RM, ya que las imágenes presentan artefactos con mayor frecuencia, y las intensidades de señal no están estandarizadas y dependen del fabricante, tipo de secuencia y parámetros de adquisición (189). Su omisión conllevaría una gran variabilidad de intensidades de imagen entre las adquisiciones inter e intrapaciente que afectaría a la extracción de características radiómicas, comprometiendo peligrosamente la reproducibilidad de los estudios.

En esta Tesis Doctoral el proceso de preparado de las imágenes se diseñó con los pasos tradicionales incluidos en los paquetes de herramientas más ampliamente utilizados además de incorporar otros desarrollados más recientemente, siguiendo un flujo con el que ya estamos familiarizados en el Grupo de Investigación de Biomarcadores de Imagen de nuestro centro. Los pasos son los siguientes: eliminación de ruido y corrección de inhomogeneidades, registro de las imágenes, eliminación de artefactos, normalización espacial y segmentación, y suavizado y parcelación con Atlas.

Como sucede con los protocolos de exploración, existe una gran variedad de flujos de preparación de las imágenes. Aunque existe un acuerdo general en la literatura sobre los pasos obligatorios que se deben incluir en un estudio de radiómica, no se dispone de un consenso universal sobre los métodos y

especificaciones. En la práctica, la gran variedad de protocolos de adquisición ha conducido a la customización ad-hoc de los flujos de preparación en cada proyecto, como es nuestro caso, sin una uniformidad que posibilite de forma fiable la obtención de resultados de alta calidad y consistentes en conjuntos de datos arbitrarios (190). También, como en el resto de los procesos, este paso se beneficiaría de una estandarización que permitiese una mayor homogeneidad de los datos y reproducibilidad de los estudios.

Mediante el procesado de las imágenes se obtiene información cuantificable que no es identificable visualmente. A todas estas características objetivables que pueden ser analizadas cuantitativamente se denomina radiómica. Tanto para el preparado como para el procesado de las imágenes se ha desarrollado un flujo de trabajo automatizado que permite el ahorro de tiempo y eliminación de posibles errores.

En el procesado hemos utilizado técnicas de todo el encéfalo, es decir las métricas se extraen de todo el encéfalo y no de una región de interés concreta. Esto permite evaluar todas las regiones del cerebro y es especialmente relevante en una enfermedad multisistémica, en la que, por ejemplo, no solo es interesante evaluar la afectación del sistema neuromotor sino también el deterioro cognitivo u otras deficiencias.

En esta Tesis Doctoral hemos empleado con éxito las siguientes técnicas de procesado para la valoración estructural y cuantificación de hierro en todos los pacientes y sujetos incluidos: análisis volumétrico cerebral mediante VBM, espesor cortical mediante SBM, cuantificación de hierro mediante la secuencia multieco T2* y mediante la valoración visual de la secuencia SWAN.

Como hemos visto anteriormente, la utilización de la secuencia SWAN supone una importante limitación ya que no permite la obtención de QSM que explota las imágenes de fase. No obstante, esta limitación la hemos entendido como una oportunidad y hemos desarrollado una escala visual de fácil aplicación y

exenta de todos los procesos avanzados que pueden no estar disponibles en instituciones no académicas. En un trabajo pudimos demostrar que esta escala se relacionaba con la afectación de MNS, con la región de inicio bulbar y que la distribución en las diferentes regiones del homúnculo se relacionaba con la región de inicio de los síntomas (55). Es más, esta escala se ha incluido con éxito en el modelo de diagnóstico desarrollado en esta Tesis.

En el protocolo de RM se ha incluido la secuencia DTI, que posibilita la caracterización detallada de la microestructura de la sustancia blanca. Las principales métricas derivadas incluyen la fracción de anisotropía, difusividad axial y radial, y difusividad media. Estas métricas se relacionan con la integridad, densidad y paralelismo de las fibras de la sustancia blanca. Su análisis computacional tradicional se ha llevado a cabo mediante la elección de regiones de interés que requieren de su elección manual e introducen variabilidad relacionada con su número, localización, y forma, que pueden influenciar negativamente en la reproducibilidad y fiabilidad de los análisis (191). Los nuevos métodos de todo el cerebro basados en los vóxeles u orientación de los tractos superan estas limitaciones, automatizando el proceso y permitiendo la evaluación de todo el cerebro (192).

Existe extensa literatura al respecto de la firma de la DTI en la enfermedad consistente en la degeneración con disminución de la fracción de anisotropía de los tractos corticoespinales, brazos posteriores de cápsulas internas y cuerpo calloso (75,78). A pesar de este patrón neuroanatómico de afectación constante, su papel como biomarcador fiable a nivel individual todavía está por determinar y no han tenido relevancia en la práctica clínica. Aunque algún trabajo con muestras muy pequeñas ha demostrado buena sensibilidad y especificidad en la discriminación de pacientes y controles (193), el mayor meta-análisis de pacientes y controles sanos demostró una insuficiente precisión diagnóstica a nivel individual de la DTI de forma aislada (194). Los modelos multiparamétricos más actuales en los que además de la DTI se utilizan

atributos morfométricos con volumen y espesor cortical, mejoran significativamente la precisión diagnóstica, aunque se dispone de pocos trabajos que incluyan la clase *mimic* necesaria para evaluar su especificidad (195–197).

En esta Tesis Doctoral no se han incluido las métricas derivadas de la DTI en los modelos estadísticos porque no formaban parte del diseño inicial del proyecto. No obstante, como hemos descrito previamente, su inclusión en modelos multiparamétricos presenta un gran potencial y su incorporación futura para el desarrollo y perfeccionamiento de los modelos se considera necesaria.

También se ha incluido en el protocolo una secuencia de valoración funcional en estado de reposo. Todavía no se ha llevado a cabo su análisis y como en el caso anterior, su incorporación a los modelos estadísticos es lógica y se prevé realizarla próximamente. Se trata de una secuencia eco de gradiente, cuyo contraste se basa en las diferencias de oxigenación de la sangre. Esta técnica se realiza en reposo y permite valorar la conectividad funcional mediante la evaluación de las fluctuaciones aleatorias relacionadas con la actividad cerebral espontánea. En la ELA varios estudios han demostrado diferentes alteraciones en la conectividad incluyendo anomalías en la red sensoriomotora y red por defecto (198–201). En escasos trabajos se ha evaluado su potencial diagnóstico que han demostrado de forma aislada valores discretos de precisión para la discriminación entre pacientes ELA y controles (202), en otro trabajo multimodal en el que se valoraron conjuntamente la información funcional y estructural del DTI los resultados mejoraron, alcanzando la precisión diagnóstica el 80% (203). Pese a la escasa literatura y modestos resultados, también pensamos que nuestros modelos multiparamétricos se pueden enriquecer con los resultados del análisis de la conectividad e igualmente sería interesantes de este modo evaluar su impacto y valor como biomarcador.

3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para esta Tesis Doctoral se utilizarán técnicas de aprendizaje automático (*machine learning*) para el desarrollo de modelos de diagnóstico, pronóstico y estratificación de pacientes.

La principal diferencia entre los modelos aprendizaje automático y los modelos estadísticos tradicionales son su propósito, los de aprendizaje automático se diseñan para realizar las predicciones lo más precisas posibles, mientras que los modelos diagnósticos clásicos se diseñan para inferir las relaciones entre las variables. Es decir, mientras que la estadística tradicional se centra en el análisis de datos y la inferencia estadística para probar una hipótesis formulada a priori, el aprendizaje automático construye modelos que pueden aprender patrones y hacer predicciones sin ser programados explícitamente (123).

Los métodos de clasificación y biomarcadores de imagen están teniendo un gran impacto en la medicina actual con un número exponencial de esfuerzos dedicados a su desarrollo (124). Clásicamente el análisis de biomarcadores de imagen se ha basado en estudios descriptivos de estadística tradicional, pero la aplicación de la Inteligencia Artificial es una oportunidad idónea para el desarrollo de modelos de clasificación que se utilicen como herramientas diagnósticas de ayuda computarizada basadas en las firmas patológicas específicas y radiómica de las enfermedades. Así, para los fines de este trabajo, que es el desarrollo de una herramienta de ayuda al diagnóstico, el uso de modelos de aprendizaje automático se ha considerado el idóneo.

La aplicación clínica de estos modelos está fuera de duda y los resultados cuantitativos de probabilidad diagnóstica ofrecen una importante herramienta en la toma de decisiones junto con el resto de los datos clínicos y paraclínicos.

No obstante, estos modelos no están exentos de limitaciones y su aplicación requiere de un gran entendimiento de los factores que determinan el rendimiento de cada técnica y sus debilidades específicas (123).

Una de las principales limitaciones para la aplicación de estos modelos son los tamaños muestrales pequeños, como ocurre en nuestro caso, a pesar de tratarse de una de las mayores muestras de la literatura (204). Para paliar este obstáculo, resulta adecuada la explotación de estudios multicéntricos, aunque como hemos visto, la falta de estandarización en la adquisición de imágenes, preparado y procesado de las imágenes, conlleva con frecuencia una falta de armonización de los datos que imposibilita su aplicación.

Una de las críticas recurrentes a estos modelos es su falta de transparencia, si no se explica detalladamente el funcionamiento de los algoritmos se genera un lógico escepticismo que obstaculiza su aplicación (205). En nuestro caso todas las técnicas utilizadas son explicables y su funcionamiento es comprensible, también se razona y justifica el desarrollo y modificación del flujo de trabajo. Este punto es verdaderamente relevante para su interpretación clínica.

Otro inconveniente de estas técnicas es la referente a la asunción de causalidad. La inferencia de causalidad basada en estos modelos puede ser engañosa, no siendo recomendable establecer la causalidad entre las características y los resultados basándose exclusivamente en las correlaciones significativas en el conjunto de datos, especialmente con muestras pequeñas no representativas de la población (123).

En cualquier caso, hemos seguido en todo el proceso las recomendaciones generales y específicas de buena práctica clínica en la aplicación de modelos de aprendizaje automático en la ELA (123).

1. Hemos incluido en el desarrollo del modelo la validación, cuyo objetivo es demostrar que el modelo es apto para el propósito indicado y evaluar el posible sobreajuste que impida la generalización de su aplicación, especialmente frecuente en los casos de muestras pequeñas y un número elevado de atributos (123,204). De forma general disponemos de dos tipos de validación, de retención y cruzada. En la validación de

retención el conjunto de datos se divide en dos, un primer subconjunto para el entrenamiento y un segundo de validación como prueba para comprobar el funcionamiento del modelo con datos no analizados previamente. La validación cruzada es una mejora del anterior método (123). En esta validación en K iteraciones los datos se dividen en K subconjuntos, $(K - 1)$ subconjuntos se utilizan como datos de entrenamiento y uno como validación, proceso que se repite durante k iteraciones con un subconjunto diferente excluido del entrenamiento y reservado para la validación cada vez. Finalmente se realiza la media de cada iteración para obtener un único resultado. En nuestro caso, hemos optado por la validación cruzada con 10 iteraciones. Aunque ha supuesto mayor potencia computacional y tiempo, el tamaño de la muestra es pequeño y la precisión de esta técnica es mayor, ya que permite entrenar al modelo con múltiples divisiones de entrenamiento lo que posibilita evaluar con mayor fiabilidad su funcionamiento con datos no analizados previamente.

2. En el desarrollo del modelo es fundamental diseñar un proceso de selección de atributos para limitar el ratio muestra/atributos y la complejidad del mismo (123,204). En nuestro modelo diagnóstico hemos incluido técnicas de filtrado automatizado y reducción de dimensionalidad. Para el filtrado de variables se ha utilizado el umbral de varianza y el percentil estadístico F , mediante su aplicación se descartan las variables de menor relevancia desde un punto de vista univariante. Para la reducción de dimensionalidad se ha utilizado PCA y kernel PCA. Su uso permite concentrar la información disponible en un número más reducido de variables. Además, en los modelos predictivos también se llevó a cabo de forma adicional una selección manual de características basada en el conocimiento a priori de la enfermedad.

3. Para la evaluación del rendimiento de los modelos se han utilizado todas las métricas recomendadas (123,205): sensibilidad, especificidad, precisión (*accuracy*) y área bajo la curva (AUC). La utilización de estas métricas para la valoración del modelo y sus variaciones es fundamental para poder evaluarlos y compararlos.

Para el desarrollo del modelo diagnóstico se ha diseñado una secuencia estructurada automatizable desde una perspectiva de mejora iterativa, se analizan los resultados de cada arquitectura y se identifican los puntos de mejora. Los conjuntos de hiperparámetros de todas las técnicas incluidas en el modelo se optimizan para garantizar el mejor rendimiento posible y facilitar el análisis comparativo entre las combinaciones de técnicas. Esta optimización de hiperparámetros se ha llevado a cabo mediante una búsqueda en rejilla con validación cruzada. Mediante esta técnica con validación cruzada de 10 iteraciones se prueban todas las combinaciones de hiperparámetros posibles y se selecciona la que mejores métricas presente. Además, se han evaluado diferentes subconjuntos de datos en gran parte de las arquitecturas para evaluar de forma individual las fortalezas y potencial de cada uno, estos subconjuntos han incluido: variables de volumetría, de espesor cortical, de relajatividad, automatizables, de análisis visual de SWAN y todas las variables. Esta metodología la consideramos muy innovadora, escasamente explorada hasta el momento, y marcadamente rigurosa siguiendo todas las recomendaciones en su aplicación.

3.1 MODELO DIAGNÓSTICO

En el análisis exploratorio inicial, de forma general, las distribuciones fueron normales para la mayoría de variables de morfometría y exponenciales para la mayoría de variables de hierro. En el análisis de componentes ya se pone de manifiesto la dificultad para diferenciar las clases, al menos linealmente.

Cuando se analizan los datos mediante Hotelling T2 se identifica una cantidad muy elevada de puntos anómalos tanto en el grupo de paciente ELA como en el grupo de *mimic*, en cotraposición a los controles sanos y portadores asintomáticos que constituían grupos marcadamente homogéneos.

Como ya se sabe, la ELA comprende un grupo de enfermedades que constituyen un amplio espectro con una base común que presenta gran heterogeneidad clínica y biológica, tanto patológica como genética (41–43,206,207). Esta heterogeneidad se traslada a la firma radiómica y se traduce en una cierta correlación entre el tipo y distribución de la afectación radiológica y el fenotipo clínico (206,207). Nuestro análisis corrobora de nuevo esta heterogeneidad de la ELA, siendo notoria la disparidad de esta clase con gran cantidad de puntos anómalos.

De igual modo, la idiosincrasia de la clase *mimic* es marcadamente variada, recordamos que se trata de un amplio grupo de condiciones cuya presentación y características clínicas puede aparentar ELA inicialmente, dentro de este grupo se incluyen: un elevado número de enfermedades cerebrales, lesiones de base de cráneo, mielopatía espondilótica cervical, otras mielopatías, lesiones del cono medular y radiculopatías (42,208). De nuevo, nuestros resultados son coherentes con la heterogeneidad propia de esta clase.

El modelo diagnóstico se enfoca como una tarea de clasificación binaria entre pacientes con ELA y el resto de las clases. El modelo se plantea como una arquitectura secuencial automatizable que incluye técnicas de escalado y centrado, filtrado de variables, reducción de dimensionalidad y clasificador. Este flujo de trabajo se aborda desde una perspectiva de mejora iterativa: para cada arquitectura propuesta se identifican y aplican los puntos de mejora. Así, se obtuvieron más de 140 modelos para cada una de las propuestas, pero solo se

muestran y analizan los resultados del mejor modelo para cada tipo de clasificador con cada conjunto de tipos de variable.

Para la arquitectura inicial con utilización de todas las variables automatizables el mejor modelo estaba compuesto, obviando el centrado y escalado, por: sin método de filtrado, PCA (varianza retenida 0.95) y SVC (C=10, kernel lineal, gamma escalada a varianza). Sus métricas fueron *accuracy* de 0.735, AUC 0.799, sensibilidad de 0.781 y especificidad de 0.68. Desde el inicio los problemas más significativos fueron el sobreajuste y la dificultad para clasificar la clase *mimic*. Por otra parte, ya se observa la incuestionable superioridad de los modelos multiparamétricos respecto a los que utilizan solo un tipo de variable.

La primera técnica de mejora que se aplica es el sobremuestreo que no funciona como se preveía, las métricas son peores y persiste la limitación para clasificar adecuadamente a la clase *mimic*. Aunque un modelo LogReg con ADASYN, es el primero que parece posibilitar la correcta identificación de la clase *mimic*. En este punto se descomponen las variables por coeficientes y se comprueba que las de mayor coeficiente y superior peso en el modelo son las de espesor cortical.

La segunda técnica que se utiliza es el doble filtrado de variables, se depuran las variables que solo introducen ruido haciendo uso solo de aquellas que presentan mayor relevancia (*feature importance*) a través de coeficientes de Log Reg. De esta forma, se mejoran significativamente los resultados, lo que confirma la existencia de ruido en los datos.

A la arquitectura de base y doble filtrado incorporamos las 6 variables de la valoración visual de la secuencia SWAN. La mejoría obtenida es ostensible, el mejor método vuelve a ser SVC con todas las variables, obteniendo una fiabilidad de 0.872, AUC de 0.94, sensibilidad de 0.886 y especificidad de 0.856; y lo que es especialmente relevante es el progreso en la clasificación de la clase *mimic* con una especificidad de 0.8. También es especialmente llamativo el valor

individual de las variables de análisis visual, con las que se obtienen unas métricas de fiabilidad de 0.886, AUC de 0.808, sensibilidad de 0.763 y especificidad de 0.856, sorprendentemente superiores a las de la arquitectura con todas las variables automatizables.

En este punto del desarrollo del modelo se considera razonable pensar que la producción de un clasificador que agrupe las predicciones de los mejores clasificadores puede optimizar los resultados, utilizando un clasificador por votación suave que combina los cinco mejores modelos con doble filtrado aplicado a todas las variables automatizables sin y con análisis visual. Los resultados para el conjunto de todas las variables automatizables incluyendo las de análisis visual son las mejores obtenidas, este modelo final obtiene una *accuracy* de 0.896, una AUC 0.929, una sensibilidad de 0.886 y una especificidad de 0.907. Además, es el modelo que mayor capacidad predictiva para la clase *mimic* con una especificidad de 0.844.

En la Tabla 14 se recogen los principales trabajos en los que se ha aplicado el aprendizaje automático para el desarrollo de modelos diagnósticos basados en biomarcadores de imagen en la ELA (195–197,202,203,209–212). Pese a que su número es bastante limitado, la mayor parte obtiene resultados prometedores con valores de precisión y sensibilidad por encima del 80% (123). Vamos a detallar ahora las principales características de estos trabajos y otros que han estudiado otro tipo de biomarcadores y los compararemos con esta Tesis:

	Año	Sujetos ELA/CS/mimic/otros				Variables de imagen	Modelo	Rendimiento			
		Acc	AUC	Sens	Esp						
<i>Welsh et al. (202)</i>	2013	32	31	-	-	RMf	SVM	71.5 %	0.71	-	-
<i>Sarica et al. (209)</i>	2016	24	24	-	-	ITD	RF	80 %	-	-	-
<i>Schuster et al. (196)</i>	2016	81	66	-	-	VBM ITD	Regresión logística	78.37 %	-	90 %	62.5 %
<i>Bede et al. (195)</i>	2017	75	75	-	-	ITD Volumen GGBB IS sustancia gris	Función discriminante	90 %	-	90 %	90 %
<i>Ferraro et al. (197)</i>	2017	123	78	20	44	Espesor cortical ITD	RF	<i>CS / mimic</i> 0.9 / 0.87	-	<i>CS / mimic</i> 0.9 / 0.92	<i>CS / mimic</i> 0.9 / 0.75
<i>Fratello et al. (203)</i>	2017	41	43	-	37	RMf ITD	RF	80 %	-	-	-
<i>D'hulst et al. (210)</i>	2018	175 195	20 40	-	-	FDG - PET	SVM	74.2 %	-	85 %	52.5 %
<i>Querin et al. (211)</i>	2018	16	45	-	-	ITD médula	RF	86.5%	0.96	88 %	85%
<i>Kocar et al. (212)</i>	2021	404	98	-	-	ITD Textura	SVC MLP	-	<i>SVC / MLP</i> 0.87/0.88	<i>SVC / MLP</i> 80%/79%	<i>SVC / MLP</i> 80%/84%

CS: control sano; RMf: resonancia magnética funcional; ITD: imagen tensor difusión; VBM: morfometría basada en vóxel; GGBB: ganglios de la base; IS: intensidad de señal; SVM y SVC: máquinas y clasificadores de vectores soporte; RF: bosques aleatorios; MLP: perceptrón multicapa; Acc: *accuracy*; AUC: área bajo la curva ROC; Sens: sensibilidad; Esp: especificidad.

Tabla 14: Resumen de los principales trabajos en los que se han aplicados técnicas de aprendizaje automático a variables radiómicas para el desarrollo de modelos diagnósticos.

1. Población a estudio

Como se puede ver en la tabla los tamaños muestrales pequeños son un problema generalizado, aunque esta limitación es un obstáculo muy importante en *Welsh et al. (202)*, *Sarica et al. (209)*, *Fratello et al. (203)* y *Querin et al. (211)*, donde la cohorte de pacientes ELA no alcanza los 50 casos. En nuestro caso, aunque la muestra es superior a la mediana de estudios similares publicados los últimos años, este problema sigue siendo una de las principales limitaciones. Otra limitación añadida es el desequilibrio de clases, para lo que se aplicó la técnica de sobremuestreo aunque con ella no se mejoraron los resultados del modelo. También se comparte otra contrariedad muy común, los datos provienen exclusivamente de un solo centro y el modelo no ha sido validado con datos externos adquiridos en otros centros. Los grandes repositorios de imágenes como el de la *Neuroimaging Society in ALS* son una excelente oportunidad para evaluar estos modelos de clasificación y además permiten la confección de muestras mayores en las que se puede caracterizar la heterogeneidad de la enfermedad con mayor fiabilidad (213,214).

En la mayor parte de estudios previos solo se ha reclutado a controles sanos como grupo de referencia frente a pacientes ELA; exclusivamente *Ferraro et al. (197)* incluyó 20 pacientes con enfermedades ELA-*mimic* con síntomas de presentación superpuestos y *Fratello et al. (203)* incluyó 37 pacientes con enfermedad de Parkinson. Además, en ninguno de los trabajos se especifica en qué momento se realizó la RM a los pacientes, asumiendo que se trata de pacientes en diferentes momentos evolutivos. La verdadera utilidad de un modelo clasificación radica en proporcionar información en el proceso clínico

real para evitar los diagnósticos erróneos y el retraso en el diagnóstico. Para ello, es necesario incluir a pacientes en fases iniciales y pacientes con enfermedades similares a la ELA que planteen un dilema veraz. Este aspecto es especialmente relevante en la ELA, donde la tasa de diagnósticos erróneos e intervenciones innecesarias en las etapas precoces de la enfermedad no son despreciables (72,215–217). Recordemos de nuevo la importancia desde la perspectiva clínica de que el modelo diagnóstico presente una alta sensibilidad que permita el diagnóstico precoz ELA y una alta especificidad que le permita diferenciarla de otras enfermedades *mimic*.

En esta Tesis Doctoral se incluyó de forma consecutiva a todos los pacientes que fueron derivados a nuestro centro por sospecha de ELA. En algunos de ellos, con la evolución, se acabó confirmando el diagnóstico de ELA, mientras que otros fueron diagnosticados de *mimic*. Además, el tamaño muestral supera ampliamente a la mayoría de los trabajos previos, y este análisis se considera fundamental para valorar la verdadera utilidad clínica de nuestro modelo de clasificación diagnóstica.

2. Variables de imagen

En nuestro modelo diagnóstico hemos integrado información cuantitativa multiparamétrica de RM que incluye: volumetría, espesor cortical, y hierro local mediante técnicas de relajatividad y susceptibilidad. El potencial de la RM multiparamétrica cuantitativa en el proceso diagnóstico de la ELA está ampliamente reconocida (212,218). Tanto los modelos de estadística tradicional como los de aprendizaje automático funcionan mejor con datos multiparamétricos, en la ELA se ha demostrado en repetidas ocasiones que el enfoque multiparamétrico mejora significativamente la precisión diagnóstica en comparación con el uso de cada modalidad de forma individual (197,211). Anteriormente, la integración de la información multiparamétrica para el

desarrollo de modelos de clasificación diagnóstica resultaba muy complejo, pero con el desarrollo de la inteligencia artificial los modelos de aprendizaje automático parecen la solución ideal (212).

En la literatura existe una moderada variedad de biomarcadores aplicados a los modelos diagnósticos, el más frecuentemente utilizado es la imagen con tensor difusión. En una de las revisiones más recientes de elección de modalidad de RM en la ELA señalaban que junto a la morfometría se trataba de la característica más robusta y fiable (219). Otras variables de imagen con resultados favorables y también incorporadas en estos modelos son la RMf y la textura. Tanto la imagen tensor difusión como la RMf han sido incluidos en el protocolo que hemos diseñado para valoración de MNS, por lo que su incorporación al modelo diagnóstico se considera el siguiente paso lógico en su desarrollo y optimización.

3. Modelos de aprendizaje automático

Los modelos de aprendizaje automático más frecuentemente utilizados han sido máquinas de vectores soporte (SVM, del acrónimo inglés *Support Vector Machines*), RF y LogReg (123). En la literatura actual, las estructuras de modelado estadístico y aprendizaje automático son sencillas y apenas existe combinación de técnicas. En la mayor parte de trabajos similares se utiliza exclusivamente un modelo clasificador excepto *Kocar et al.* (212) que empleó la SVM para el cálculo por tratarse de un modelo muy robusto y MLP para verificar los resultados.

Como hemos visto anteriormente, nuestra aproximación es más sofisticada, aplicamos una metodología de modelado secuenciada automatizable desde una perspectiva de mejora iterativa utilizando varias técnicas de filtrado, de reducción de dimensionalidad, de sobremuestreo y de clasificación que incluyen LogReg, SVM, KMN y RF. Para cada arquitectura propuesta, se analizan los

resultandos, se identifican los posibles puntos de mejora y se corrigen los errores, repitiendo este proceso reiterativamente.

4. Resultados

A la hora de analizar los resultados de los trabajos publicados previamente, es especialmente llamativa la incompletitud de los mismos, solo *Querin et al.* (211) incluye todas las métricas recomendadas para evaluar el rendimiento de los modelos de clasificación. De forma general, los resultados son favorables y prometedores con valores de fiabilidad en un intervalo entre el 70 y el 90 %. Si bien hay que recordar de nuevo que solo *Ferraro et al.* (197) incorpora como grupo de referencia además de controles sanos, la clase *mimic*.

Especialmente positivos son los resultados de: *Bede et al.* (195) con *accuracy*, sensibilidad y especificidad del 90%; *Ferraro et al.* (197) con valores próximos al 90% en todas las métricas, excepto en la especificidad con el grupo *mimic* que desciende al 75%; y *Kocar et al.* (212) con métricas entre el 80 y el 90%. El resultado de *Querin et al.* (211) pese a que es uno de los mejores no se enmarca en este grupo por su exigua muestra de pacientes.

Los puntos en común de estos modelos con mejores resultados son su aproximación multiparamétrica y la selección de las variables de imagen, todas incluyen técnicas de análisis de la sustancia blanca con la imagen con tensor difusión, que permite la valoración de su microestructura de la sustancia blanca, y técnicas de análisis de la sustancia gris más variadas como volumetría, espesor cortical, intensidad de señal y textura.

Nuestro modelo final obtiene las siguientes métricas: fiabilidad de 0.896, una AUC 0.929, una sensibilidad de 0.886 y una especificidad de 0.907. Este modelo adelanta a los mejores modelos previamente publicados, y además lo que lo hace verdaderamente relevante desde un punto de vista clínico, es su alta

capacidad predictiva para la clasificación de la clase *mimic* con una especificidad de 0.844.

5. Inferencia individual de variables

Pese a que, como ya hemos visto, la aproximación multiparamétrica es la más ventajosa en la confección de un modelo diagnóstico, merece la pena resaltar varios hallazgos del análisis de la inferencia individual de cada tipo de variable.

En cuanto a las técnicas las morfométricas, de forma general, en el análisis descompuesto, las variables de espesor cortical muestran mayores coeficientes y presentan mayor peso que las de volumetría en el modelo. Este hallazgo es sobradamente coincidente con la literatura, en la que se ha expuesto en numerosas ocasiones la superioridad del espesor cortical respecto a la volumetría para la valoración de los efectos degenerativos en la ELA (94,96,220,221). Este hallazgo parece lógico ya que la SBM descompone el volumen cortical en espesor y área de superficie respetando la topología cortical, y de esta manera aumenta la fiabilidad y la sensibilidad de las métricas (93). Además, el espesor cortical depende del número de células por columna mientras que el área depende del número de columnas, e histológicamente se considera más probable que las enfermedades neurodegenerativas afecten de forma primaria al número de células y consecuentemente al espesor cortical (96,222).

En lo referente al grado de inferencia de las dos técnicas de valoración del hierro cerebral, por una parte, las variables derivadas de la técnica de relajometría presentan bajo coeficiente con escasa repercusión en el modelo, y por otra parte la incorporación de las variables de la valoración visual de SWI mejoran significativamente el modelo e incluso de forma individual presentan métricas más que aceptables con *accuracy* de 0,886, AUC 0,808, sensibilidad 0,763 y especificidad 0,856. Nuestros resultados vienen a confirmar la

superioridad de la SWI sobre las técnicas de relajometría en la valoración de hierro en el sistema nervioso central (184–186), y posiblemente más si cabe en la ELA donde el acúmulo patológico de hierro se da preferentemente en el córtex y parece que la secuencia de relajometría presenta menor precisión en este territorio.

A modo de resumen, se puede concluir que las métricas de espesor cortical son superiores a las de volumetría y las de SWI a las de relajatividad en la evaluación diagnóstica de los pacientes con ELA. En el hipotético contexto en el que se debieran seleccionar parámetros, basándonos en el conocimiento actual y resultados propios, el espesor cortical y la imagen de susceptibilidad parecen ser las características más robustas (219).

6. Otro tipo de variables

También existen trabajos con similares diseños de clasificación que han utilizado otro tipo de variables como biomarcadores clínicos, electrofisiológicos, biológicos, genéticos o proteómicos.

Li et al. (223) utilizó exclusivamente técnicas de excitabilidad nerviosa con las que obtuvo un modelo con un buen rendimiento, logrando una sensibilidad del 68% y una especificidad del 94%; aunque se utilizaron otras enfermedades como grupo de referencia, el tamaño muestral era muy pequeño con solo 25 casos de enfermedad de motoneurona. Existe mayor número de trabajos basados en métricas electrofisiológicas derivadas de la EMG como *Tannemaat et al.* (224), que presenta resultados prometedores, aunque no tan favorables, con una AUC entre pacientes ELA y otras miopatías de solo 0,689. Todos estos trabajos también presentan la gran limitación de contar con tamaños muestrales muy pequeños, sumado a las desventajas intrínsecas de la técnica como la dificultad para realizarla en todas las regiones anatómicas, la molestia que ocasiona, y su baja sensibilidad para la detección de fasciculaciones,

especialmente en los grupos musculares en los que es difícil conseguir el reposo muscular.

En *Lawton et al.* (225) se utilizaron biomarcadores de fluido en plasma, mediante la aplicación de estos biomarcadores proteómicos el modelo obtuvo una AUC de 0.76, una especificidad de 0.81 y una sensibilidad de 0.65 para la discriminación de pacientes ELA y pacientes-*mimic*; y una AUC de 0.81, una especificidad de 0.90, y una sensibilidad de 0.58 filtrando un subconjunto de variables candidatas a biomarcadores. La principal desventaja de este modelo es su baja sensibilidad, especialmente relevante en la ELA en la que existe un retraso significativo en el diagnóstico. En otro trabajo en el que se utilizaron biomarcadores en plasma relacionados con la homeostasis del hierro para diferenciar pacientes ELA de controles sanos (226), se obtuvo una accuracy de 0.784 y una sensibilidad de 0.857. Un último trabajo destacable dentro de este grupo de biomarcadores es el de *Taguchi et al.* (227) en el que se utilizaron microRNA en el suero y permitió seleccionar hasta 50 potenciales biomarcadores que permitían discriminar pacientes ELA de controles sanos. Estos trabajos también presentan tamaños muestrales pequeños y, respecto a la radiómica, estos biomarcadores son menos accesibles y se necesita de maniobras invasivas para su obtención.

En general la utilización de otras ómicas es menos frecuente en el desarrollo de modelos de clasificación diagnóstica, no obstante, algunos resultados son prometedores y su combinación con las métricas de neuroimagen puede ser una vía interesante a explorar y previsiblemente mejore los rendimientos de manera similar a como lo hace en los modelos predictivos y de estratificación (123).

3.2 MODELOS PRONÓSTICOS Y DE ESTRATIFICACIÓN

Los modelos pronósticos de supervivencia y progresión de la enfermedad no obtienen resultados favorables, no logrando algoritmos que funcionen como indicadores pronósticos de la supervivencia y velocidad de desarrollo de los déficits funcionales.

Nuestros modelos se basan en biomarcadores de RM de cabeza con los que no se valora la afectación de MNI, que es uno de los principales factores que determina una progresión más rápida y una supervivencia más corta (228). Esto es porque la degeneración de la MNI es la causa primaria de la debilidad muscular progresiva que es la afectación que suele dominar el cuadro clínico, y en última instancia causar la muerte por la implicación de la musculatura respiratoria (228–230).

En contraposición a los modelos diagnósticos que preferentemente utilizan biomarcadores de imagen, la mayor parte de modelos predictivos de la literatura emplean métricas clínicas para determinar el pronóstico de la enfermedad (231–238). Existe un número considerable de trabajos que combinan estas métricas clínicas con biológicas y genéticas (238–245) y tan solo tres que incorporan adicionalmente métricas de imagen (126,127,246).

De estos últimos, *Schuster et al.* (126) en un modelo de supervivencia con métricas clínicas obtuvo resultados mediocres, con métricas de imagen los resultados fueron mejores con una *accuracy* de 77.08%, una sensibilidad de 79.16% y una especificidad de 75%, y el mejor rendimiento se consiguió combinando ambos tipos de variables alcanzando una *accuracy* de 79.17%, una sensibilidad de 75%, y una especificidad de 83.34%. *Hannelore et al.* (127) con un diseño similar con características clínicas obtuvo una *accuracy* de 68.5%, con características de imagen consiguió con las de conectividad 62.5% y con las morfológicas estructurales también un 62.5%, y cuando combinó las tres características la *accuracy* aumentó hasta el 84.4%. Y, por último, *Agosta et al.* (246) diseñó un modelo de predicción de supervivencia, con variables clínicas

obtuvo una AUC de 0.62, y combinándolas con variables de imagen morfométricas y de conectividad la AUC alcanzaba 0.77.

Nuestros resultados y los de la literatura orientan a que el enfoque multimodal combinando variables clínicas y otro tipo de variables entre las que se incluyen las de imagen, es el más conveniente para el desarrollo de modelos predictivos. Aunque se deben tener en cuenta otras alternativas, como la investigación de otros potenciales biomarcadores de fluidos como los neurofilamentos, cuya aportación al pronóstico de la enfermedad parece fundamental (247).

El modelo de estratificación de pacientes con ELA según el grado de afectación clínica de MNS tampoco obtiene resultados favorables. La mayor parte de modelos de estratificación de la literatura se utilizan con el propósito de predecir el pronóstico de la enfermedad, y las estrategias que se han utilizado hasta el momento son limitadas y no utilizan técnicas de agrupación (123). Existen escasos trabajos que correlacionen la valoración clínica y radiológica de la afectación de la MNS, y ninguno de ellos ha aplicado modelos de aprendizaje automático.

En algunos trabajos se ha demostrado una correlación lineal entre las variables radiómicas y las escalas clínicas de afectación de MNS, aunque estos resultados no han sido confirmados en otros artículos y existe dispersión en cuanto a las métricas y el grado y tipo de correlación clínica (248,249).

También se debe tener en cuenta la limitada precisión y sensibilidad de las escalas clínicas, como la que se ha utilizado como referencia. Incluso, un artículo reciente sugiere que las métricas de imagen son más sensibles para la detección de la afectación de MNS, hasta en las etapas preclínicas (250).

El desarrollo de este tipo de modelos de estratificación se considera de gran relevancia, ya que permiten mejorar el diseño de los ensayos clínicos y tienen el potencial de identificar subtipos de la enfermedad que sean clínicamente relevantes. Nuestros resultados vienen a corroborar la imprecisión de los

modelos de estratificación, y como en los modelos predictivos, probablemente la combinación de varios tipos de variables tenga el potencial de mejorar su rendimiento.

4. INFORME ESTRUCTURADO

Se ha diseñado e implementado un informe radiológico estructurado singularizado para casos a los que se le realiza el protocolo específico de RM de de cabeza para la valoración de ELA. Se trata de una plantilla con despleables que incluye toda la información pactada en el equipo multidisciplinar responsable de la ELA del que se forma parte. El informe recoge toda la información del análisis visual, información sobre las escalas utilizadas y pictogramas explicativos.

Además, se ha colaborado en el desarrollo del informe cuantitativo que incluye la información de los biomarcadores de volumetría, espesor cortical y hierro R2*, considerados relevantes para la evaluación del diagnóstico y expresión de la enfermedad. El proceso está automatizado y se elaboran plantillas con los resultados que se anexan a las imágenes.

También se ha proyectado un prototipo de aplicación diagnóstica que permite la elección de biomarcadores y modelos de clasificación, y ofrece como resultado final un porcentaje de probabilidad de padecer la enfermedad y el valor de incertidumbre de esta predicción.

Las ventajas de la estructuración digital e informatizada de los informes radiológicos están ampliamente descritas en la literatura, incluyendo mayor claridad y concisión de la información, estandarización de la terminología, disminución de las incertidumbres por imposibilidad de utilización de lenguaje evasivo, y disminución de errores gramaticales y de reconocimiento de voz (178,251,252).

Los informes cuantitativos, además incluyen en su estructura información sobre el resultado radiómico y de los biomarcadores que se obtienen de forma automatizada.

Además, la información de los campos indexados y las métricas radiómicas puede ser recogida y almacenada de forma automatizada, lo que posibilita su explotación para tareas de investigación y gestión departamental, fundamentalmente empleando herramientas de analítica predictiva e inteligencia artificial (178,253).

Por otra parte, el prototipo de la aplicación clínica presenta los resultados del modelo de clasificación diagnóstica, estos resultados presentan la ventaja de ofrecer información cuantitativa sobre el riesgo de padecer la enfermedad y el valor de incertidumbre, lo que permite al clínico interpretar los resultados en el amplio contexto del paciente.

Un aspecto importante en el desarrollo de los informes estructurados es la determinación de la información que se debe incluir, debiendo ser acordada por el grupo de trabajo multidisciplinar encargado de la enfermedad empleando niveles de evidencia (254).

En la ELA, tan solo en un trabajo propio se ha sugerido qué información debe comprender el informe estructurado e incluía la valoración visual del córtex motor primario y tracto corticoespinal en SWI y FLAIR respectivamente, espesor cortical del córtex motor primario, y métricas de DTI de tracto corticoespinal y cuerpo calloso (75).

El siguiente paso razonable es la integración del informe estructurado, informe estructurado cuantitativo y resultado de la aplicación diagnóstica en un único informe radiológico. El informe radiológico es la herramienta de comunicación final con el clínico, y lo lógico sería que se presentara como un informe único y completo, ya que su fragmentación puede acarrear limitaciones en la comprensión y en la concepción global del resultado. El proceso tendría que

comenzar con un proceso automatizado ejecutable por defecto que obtenga y presente los resultados de los biomarcadores. En segundo lugar, después de examinados estos resultados, el radiólogo puede llevar a cabo el análisis visual en la plantilla de despleables. Y, por último, lanzar la aplicación para que se calcule la probabilidad de enfermedad.

Por último, otra potencial mejora podría resultar de la integración en el informe del resto de métricas relevantes de la exploración clínica, pruebas de laboratorio, y demás pruebas paraclínicas, para favorecer una transmisión de información global y contextualizada al clínico.

FORTALEZAS Y LIMITACIONES

1. FORTALEZAS

Una fortaleza fundamental del estudio es su diseño prospectivo, que simula la situación clínica real y permite valorar la auténtica especificidad del modelo de clasificación de pacientes en fases iniciales frente a *mimics* reales.

Además, en nuestro modelo hemos integrado información radiómica multiparamétrica junto con los datos demográficos del paciente, demostrando que se obtienen mejores resultados con esta aproximación que individualmente con cada modalidad.

Para el desarrollo del modelo diagnóstico se utiliza una metodología de aprendizaje automático, secuenciada y automatizable, desde una perspectiva de mejora iterativa utilizando varias técnicas de filtrado, de reducción de dimensionalidad, de sobremuestreo y de clasificación. Esta arquitectura es mucho más sofisticada que las utilizadas hasta el momento que son sencillas y apenas emplean combinación de técnicas, lo que ha favorecido la obtención de unas métricas superiores a las de estudios previos y a las obtenidas con otras ómicas.

2. LIMITACIONES

Una limitación generalizada en los trabajos de esta enfermedad rara, es el tamaño muestral pequeño.

Se deben valorar las principales limitaciones del protocolo de RM de cabeza. Este protocolo no es inflexible y debe estar abierto a las mejoras mediante revisiones periódicas, reexaminando regularmente la literatura y nuestros propios resultados. Sería interesante investigar el enriquecimiento de los

modelos con otras técnicas de imagen como la espectroscopia aunque sus métricas no se consideren actualmente las más fiables. Otra contrariedad que se debería subsanar es la relativa a la secuencia de susceptibilidad, mediante la secuencia SWAN no se pueden obtener los mapas cuantitativos de susceptibilidad. Esto supone una importante deficiencia en un proceso que se desea que sea lo más automatizado posible y completo en la evaluación de todo el encéfalo.

En esta Tesis Doctoral no se han incluido las métricas derivadas de la DTI y su incorporación en los modelos multiparamétricos se considera una de las principales prioridades para su optimización ya que se trata de una de las técnicas con mejores resultados. También, sería interesante y potencialmente beneficiosa, la inclusión en los modelos de las métricas de la conectividad funcional.

La arquitectura de los modelos estadísticos también es susceptible de mejora. En el modelo diagnóstico, visto el buen funcionamiento de las técnicas de filtrado, se podrían incorporar métodos adicionales de este tipo o utilizar otras técnicas diferentes de clasificación o reducción de dimensionalidad. Las técnicas utilizadas y su orden también se podrían variar para intentar mejorar los resultados, las técnicas de sobremuestreo podrían utilizarse para generar mayor número de puntos sintéticos después de una selección de variables más exhaustiva para minimizar el ruido introducido por estos datos.

Otra importante limitación, es la falta de validación externa del modelo diagnóstico con datos de otros centros o mediante la utilización de los grandes repositorios que están aumentando. Para llevarla a cabo es necesario un proceso de estandarización en la adquisición de imágenes, preparado y procesado de las mismas para obtener una armonización de los datos.

Además, los modelos se podrían enriquecer con variables clínicas como el lugar de inicio de los síntomas, la tasa de progresión, etc. Especialmente en los

modelos pronósticos y de estratificación se considera imprescindible aplicar un enfoque multimodal utilizando de forma combinada otras métricas clínicas, biológicas o genéticas, para mejorar su rendimiento y potencial aplicabilidad clínica.

Respecto al informe estructurado sería interesante difundir su utilización para poder estandarizar su contenido y terminología, lo que favorecería la recogida y explotación de la información uniforme.

Una potencial mejora y el siguiente paso razonable en la elaboración del informe radiológico es la integración del informe estructurado, informe estructurado cuantitativo y resultado de la aplicación diagnóstica en un único documento. La estructura podría ser similar a la que se ha mostrado en la presentación de los resultados, comenzando con el análisis visual, después el análisis de biomarcadores, seguido por el resultado de la aplicación de diagnóstico y finalizar con una conclusión común en la que se recoja: la impresión diagnóstica, biomarcadores significativos para la enfermedad o anormales, y probabilidad de enfermedad.

CONCLUSIONES

1. En esta Tesis Doctoral se ha desarrollado un protocolo de RM de cabeza singularizado para pacientes con sospecha de ELA. El protocolo incluye: secuencia FLAIR-FSE; secuencia T1 de alta resolución espacial para la obtención de métricas morfométricas; secuencia SWAN y secuencia T2* multi-eco para la detección y cuantificación de hierro; secuencia BOLD EPI T2* para la valoración de la conectividad funcional en estado de reposo; y DTI para la evaluación de la sustancia blanca.

2. En esta Tesis Doctoral se ha establecido un flujo de trabajo automatizado para la preparación y procesado de las imágenes de RM. El preparado de las imágenes incluye: eliminación de ruido, corrección de inhomogeneidades, corrección de registro, eliminación de artefactos, normalización espacial, segmentación, suavizado y parcelación con atlas. Se han implementado las técnicas de análisis volumétrico mediante VBM, cálculo de espesor cortical mediante SBM, y cuantificación de hierro local mediante el cálculo de relajatividad y el análisis visual de la secuencia SWAN.

3. En esta Tesis Doctoral se han extraído de las exploraciones de RM los biomarcadores de volumetría, espesor cortical y hierro local mediante técnicas de relajatividad y análisis visual de la secuencia SWAN.

4. La principal aportación de esta Tesis Doctoral es la elaboración de un modelo diagnóstico basado en biomarcadores de imagen mediante la aplicación de técnicas de aprendizaje automático. Se ha construido como una arquitectura

secuencial estructurada que integra la información cuantitativa multiparamétrica de RM de volumetría, espesor cortical, y hierro local mediante técnicas de relajatividad y susceptibilidad. Esta arquitectura combina diferentes técnicas de filtrado, reducción de dimensionalidad, sobremuestreo, y clasificación, y se plantea desde una perspectiva de mejora iterativa. El modelo con mejor rendimiento se obtuvo utilizando todas las variables, presentó una fiabilidad de 0.896, una AUC de 0.929, una sensibilidad de 0.886 y una especificidad de 0.907. También es el modelo con mayor capacidad predictiva para la clase *ELA-mimic*, con una especificidad de 0.844. Además, el modelo predice de forma individual y cuantitativa el riesgo de padecer la enfermedad y su valor de incertidumbre.

5. Los modelos predictivos de supervivencia y progresión de la enfermedad basados en los mismos biomarcadores de RM no han obtenido resultados favorables, no logrando algoritmos que funcionen como indicadores pronósticos de la supervivencia ni de la velocidad de desarrollo de los déficits funcionales. Tampoco el modelo de estratificación de pacientes según el grado de afectación clínica de MNS obtuvo resultados viables para obtener endofenotipos basados en las características radiómicas con diferente grado de afectación de MNS.

6. Se ha diseñado e implementado un informe estructurado que recoge toda la información del análisis visual de la exploración, además de incluir información sobre las escalas utilizadas y pictogramas explicativos.

7. En esta Tesis Doctoral se ha colaborado en el desarrollo del proceso automatizado de producción de plantillas singularizadas con la información

cuantitativa de los biomarcadores de imagen de volumetría, espesor cortical y hierro R2*.

8. Finalmente, en esta Tesis Doctoral, se ha diseñado una interfaz de una aplicación clínica basada en el modelo diagnóstico de clasificación que permite la selección de biomarcadores y clasificadores, y ofrece como resultado final el porcentaje de probabilidad de padecer la enfermedad y el valor de incertidumbre de esta predicción.

BIBLIOGRAFÍA

1. Charcot J-M. Amytrophies spinales deuteropathiques sclérose latérale amyotrophique & Sclérose latérale amyotrophique. *Bur du Progrès Médical*. 1874;2:234–66.
2. Hardiman O, Al-Chalabi A, Chio A, Corr EM, Logroscino G, Robberecht W, et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Dis Prim* [Internet]. 2017;3(1):17071. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.71>
3. Lloyd CM, Richardson MP, Brooks DJ, Al-Chalabi A, Leigh PN. Extramotor involvement in ALS: PET studies with the GABA(A) ligand [11C]flumazenil. *Brain*. 2000;123(11):2289–96.
4. Murphy J, Henry R, Lomen-Hoerth C. Establishing subtypes of the continuum of frontal lobe impairment in amyotrophic lateral sclerosis. Vol. 64, *Archives of Neurology*. *Arch Neurol*; 2007. p. 330–4.
5. Phukan J, Pender NP, Hardiman O. Cognitive impairment in amyotrophic lateral sclerosis. Vol. 6, *Lancet Neurology*. *Lancet Neurol*; 2007. p. 994–1003.
6. Longinetti E, Fang F. Epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: An update of recent literature. Vol. 32, *Current Opinion in Neurology*. Lippincott Williams and Wilkins; 2019. p. 771–6.
7. Longinetti E, Regodón Wallin A, Samuelsson K, Press R, Zachau A, Ronnevi L-O, et al. The Swedish motor neuron disease quality registry. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener* [Internet]. 2018 Oct 2;19(7–8):528–37. Available from: <https://doi.org/10.1080/21678421.2018.1497065>
8. Leighton DJ, Newton J, Stephenson LJ, Colville S, Davenport R, Gorrie G, et al. Changing epidemiology of motor neurone disease in Scotland. *J Neurol* [Internet]. 2019;266(4):817–25. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00415-019-09190-7>
9. Pradas J, Puig T, Rojas-García R, Viguera ML, Gich I, Logroscino G. Amyotrophic lateral sclerosis in Catalonia: A population based study. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener* [Internet]. 2013 May 1;14(4):278–83. Available from: <https://doi.org/10.3109/21678421.2012.749915>
10. Barceló MA, Povedano M, Vázquez-Costa JF, Franquet Á, Solans M, Saez M. Estimation of the prevalence and incidence of motor neuron diseases in two Spanish regions: Catalonia and Valencia. *Sci Rep* [Internet]. 2021;11(1):6207. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85395-z>
11. van Es MA, Hardiman O, Chio A, Al-Chalabi A, Pasterkamp RJ, Veldink JH,

- et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet* [Internet]. 2017 Nov 4;390(10107):2084–98. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31287-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31287-4)
12. Marin B, Fontana A, Arcuti S, Copetti M, Boumédiène F, Couratier P, et al. Age-specific ALS incidence: a dose–response meta-analysis. *Eur J Epidemiol* [Internet]. 2018;33(7):621–34. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10654-018-0392-x>
 13. Kiernan MC, Vucic S, Cheah BC, Turner MR, Eisen A, Hardiman O, et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet* [Internet]. 2011 Mar 12 [cited 2018 Apr 22];377(9769):942–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21296405>
 14. Beghi E, Logroscino G, Chiò A, Hardiman O, Mitchell D, Swingler R, et al. The epidemiology of ALS and the role of population-based registries. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* [Internet]. 2006 Nov [cited 2018 Apr 22];1762(11–12):1150–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17071060>
 15. Talbot K. Amyotrophic lateral sclerosis: cell vulnerability or system vulnerability? *J Anat* [Internet]. 2014 Jan 1;224(1):45–51. Available from: <https://doi.org/10.1111/joa.12107>
 16. Byrne S, Bede P, Elamin M, Kenna K, Lynch C, McLaughlin R, et al. Proposed criteria for familial amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler* [Internet]. 2011 May 1;12(3):157–9. Available from: <https://doi.org/10.3109/17482968.2010.545420>
 17. Boylan K. Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurol Clin* [Internet]. 2015;33(4):807–30. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733861915000584>
 18. Zou Z-Y, Zhou Z-R, Che C-H, Liu C-Y, He R-L, Huang H-P. Genetic epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* [Internet]. 2017 Jul [cited 2018 Apr 22];88(7):540–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28057713>
 19. Cady J, Allred P, Bali T, Pestronk A, Goate A, Miller TM, et al. Amyotrophic lateral sclerosis onset is influenced by the burden of rare variants in known amyotrophic lateral sclerosis genes. *Ann Neurol* [Internet]. 2015 Jan 1;77(1):100–13. Available from: <https://doi.org/10.1002/ana.24306>
 20. Zufiría M, Gil-Bea FJ, Fernández-Torrón R, Poza JJ, Muñoz-Blanco JL, Rojas-García R, et al. ALS: A bucket of genes, environment, metabolism and unknown ingredients. *Prog Neurobiol* [Internet]. 2016;142:104–29. Available from:

- <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301008215300903>
21. Al-Chalabi A, Calvo A, Chio A, Colville S, Ellis CM, Hardiman O, et al. Analysis of amyotrophic lateral sclerosis as a multistep process: a population-based modelling study. *Lancet Neurol* [Internet]. 2014 Nov 1;13(11):1108–13. Available from: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70219-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70219-4)
 22. Mejzini R, Flynn LL, Pitout IL, Fletcher S, Wilton SD, Akkari PA. ALS Genetics, Mechanisms, and Therapeutics: Where Are We Now? Vol. 13, *Frontiers in Neuroscience*. Frontiers Media S.A.; 2019.
 23. Ferraiuolo L, Kirby J, Grierson AJ, Sendtner M, Shaw PJ. Molecular pathways of motor neuron injury in amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Neurol* [Internet]. 2011 Nov 1 [cited 2018 Apr 22];7(11):616–30. Available from: <http://www.nature.com/articles/nrneurol.2011.152>
 24. Cluskey S, Ramsden DB. Mechanisms of neurodegeneration in amyotrophic lateral sclerosis. *Mol Pathol* [Internet]. 2001 Dec 1;54(6):386 LP – 392. Available from: <http://mp.bmj.com/content/54/6/386.abstract>
 25. Saberi S, Stauffer JE, Schulte DJ, Ravits J. Neuropathology of Amyotrophic Lateral Sclerosis and Its Variants. *Neurol Clin* [Internet]. 2015 Nov;33(4):855–76. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26515626>
 26. Ince PG, Evans J, Knopp M, Forster G, Hamdalla HHM, Wharton SB, et al. Corticospinal tract degeneration in the progressive muscular atrophy variant of ALS. *Neurology* [Internet]. 2003 Apr 22;60(8):1252 LP – 1258. Available from: <http://n.neurology.org/content/60/8/1252.abstract>
 27. Roccatagliata L, Bonzano L, Mancardi G, Canepa C, Caponnetto C. Detection of motor cortex thinning and corticospinal tract involvement by quantitative MRI in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler* [Internet]. 2009 Feb 10 [cited 2018 Apr 22];10(1):47–52. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17482960802267530>
 28. Boillée S, Vande Velde C, Cleveland DW. ALS: a disease of motor neurons and their nonneuronal neighbors. *Neuron* [Internet]. 2006 Oct;52(1):39–59. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.09.018>
 29. McGeer PL, McGeer EG. Inflammatory processes in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* [Internet]. 2002 Oct 1;26(4):459–70. Available from: <https://doi.org/10.1002/mus.10191>
 30. Kwan JY, Jeong SY, Van Gelderen P, Deng H-X, Quezado MM, Danielian LE, et al. Iron accumulation in deep cortical layers accounts for MRI signal abnormalities in ALS: correlating 7 tesla MRI and pathology. Ashizawa T, editor. *PLoS One* [Internet]. 2012 Apr 17 [cited 2018 Apr 22];7(4):e35241.

- Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0035241>
31. Burrell JR, Halliday GM, Kril JJ, Ittner LM, Götz J, Kiernan MC, et al. The frontotemporal dementia-motor neuron disease continuum. *Lancet* [Internet]. 2016 Aug 27;388(10047):919–31. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00737-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00737-6)
 32. Robberecht W, Philips T. The changing scene of amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2013;14(4):248–64. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrn3430>
 33. Belaidi AA, Bush AI. Iron neurochemistry in Alzheimer's disease and Parkinson's disease: targets for therapeutics. *J Neurochem* [Internet]. 2016 Oct 1;139(S1):179–97. Available from: <https://doi.org/10.1111/jnc.13425>
 34. Golko-Perez S, Amit T, Bar-Am O, Youdim MBH, Weinreb O. A Novel Iron Chelator-Radical Scavenger Ameliorates Motor Dysfunction and Improves Life Span and Mitochondrial Biogenesis in SOD1G93A ALS Mice. *Neurotox Res* [Internet]. 2017;31(2):230–44. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12640-016-9677-6>
 35. Moreau C, Danel V, Devedjian JC, Grolez G, Timmerman K, Laloux C, et al. Could Conservative Iron Chelation Lead to Neuroprotection in Amyotrophic Lateral Sclerosis? *Antioxid Redox Signal* [Internet]. 2018/02/08. 2018 Sep 10;29(8):742–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29287521>
 36. Gajowiak A, Styś A, Starzyński RR, Staroń R, Lipiński P. Misregulation of iron homeostasis in amyotrophic lateral sclerosis. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* [Internet]. 2016 [cited 2022 Apr 17];70(0):709–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27356602/>
 37. Veyrat-Durebex C, Corcia P, Mucha A, Benzimra S, Mallet C, Gendrot C, et al. Iron Metabolism Disturbance in a French Cohort of ALS Patients. *Dumont AS, editor. Biomed Res Int* [Internet]. 2014;2014:485723. Available from: <https://doi.org/10.1155/2014/485723>
 38. Hadzhieva M, Kirches E, Wilisch-Neumann A, Pachow D, Wallesch M, Schoenfeld P, et al. Dysregulation of iron protein expression in the G93A model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroscience* [Internet]. 2013;230:94–101. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306452212011323>
 39. Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, et al. Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Nonapoptotic Cell Death. *Cell* [Internet]. 2012 May 25;149(5):1060–72. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>

40. Petillon C, Hergesheimer R, Puy H, Corcia P, Vourc'h P, Andres C, et al. The Relevancy of Data Regarding the Metabolism of Iron to Our Understanding of Deregulated Mechanisms in ALS; Hypotheses and Pitfalls [Internet]. Vol. 12, *Frontiers in Neuroscience* . 2019. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2018.01031>
41. Ravits JM, La Spada AR. ALS motor phenotype heterogeneity, focality, and spread: deconstructing motor neuron degeneration. *Neurology* [Internet]. 2009 Sep 8 [cited 2018 Apr 22];73(10):805–11. Available from: <http://www.neurology.org/cgi/doi/10.1212/WNL.0b013e3181b6bbbd>
42. Agosta F, Chiò A, Cosottini M, De Stefano N, Falini A, Mascalchi M, et al. The present and the future of neuroimaging in amyotrophic lateral sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol* [Internet]. 2010 Nov [cited 2018 Apr 22];31(10):1769–77. Available from: <http://www.ajnr.org/lookup/doi/10.3174/ajnr.A2043>
43. Al-Chalabi A, Hardiman O, Kiernan MC, Chiò A, Rix-Brooks B, van den Berg LH. Amyotrophic lateral sclerosis: moving towards a new classification system. *Lancet Neurol* [Internet]. 2016 Oct [cited 2018 Apr 22];15(11):1182–94. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1474442216301995>
44. Turner MR, Kiernan MC. Does interneuronal dysfunction contribute to neurodegeneration in amyotrophic lateral sclerosis? *Amyotroph Lateral Scler* [Internet]. 2012 May 8 [cited 2018 Apr 25];13(3):245–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22424125>
45. Caga J, Hsieh S, Lillo P, Dudley K, Mioshi E. The Impact of Cognitive and Behavioral Symptoms on ALS Patients and Their Caregivers [Internet]. Vol. 10, *Frontiers in Neurology* . 2019. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fneur.2019.00192>
46. Strong MJ, Abrahams S, Goldstein LH, Woolley S, Mclaughlin P, Snowden J, et al. Amyotrophic lateral sclerosis - frontotemporal spectrum disorder (ALS-FTSD): Revised diagnostic criteria. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener* [Internet]. 2017 Apr 3;18(3–4):153–74. Available from: <https://doi.org/10.1080/21678421.2016.1267768>
47. van der Graaff MM, de Jong JMBV, Baas F, de Visser M. Upper motor neuron and extra-motor neuron involvement in amyotrophic lateral sclerosis: A clinical and brain imaging review. *Neuromuscul Disord* [Internet]. 2009 Jan 1;19(1):53–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2008.10.002>
48. Hammad M, Silva A, Glass J, Sladky JT, Benatar M. Clinical, electrophysiologic, and pathologic evidence for sensory abnormalities in ALS. *Neurology* [Internet]. 2007 Dec 11;69(24):2236 LP – 2242. Available

- from: <http://n.neurology.org/content/69/24/2236.abstract>
49. Ravits J, Paul P, Jorg C. Focality of upper and lower motor neuron degeneration at the clinical onset of ALS. *Neurology* [Internet]. 2007 May 8;68(19):1571 LP – 1575. Available from: <http://n.neurology.org/content/68/19/1571.abstract>
 50. Brooks BR, Miller RG, Swash M, Munsat TL, World Federation of Neurology Research Group on Motor Neuron Diseases. El Escorial revisited: revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* [Internet]. 2000 Dec [cited 2018 Apr 22];1(5):293–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11464847>
 51. Shefner JM, Al-Chalabi A, Baker MR, Cui L-Y, de Carvalho M, Eisen A, et al. A proposal for new diagnostic criteria for ALS. *Clin Neurophysiol* [Internet]. 2020;131(8):1975–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1388245720301383>
 52. Pugdahl K, Camdessanché J-P, Cengiz B, de Carvalho M, Liguori R, Rossatto C, et al. Gold Coast diagnostic criteria increase sensitivity in amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neurophysiol* [Internet]. 2021;132(12):3183–9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1388245721007185>
 53. de Carvalho M, Dengler R, Eisen A, England JD, Kaji R, Kimura J, et al. Electrodiagnostic criteria for diagnosis of ALS. *Clin Neurophysiol* [Internet]. 2008 Mar [cited 2018 Apr 22];119(3):497–503. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18164242>
 54. Swash M. Why are upper motor neuron signs difficult to elicit in amyotrophic lateral sclerosis? *J Neurol Neurosurg & Psychiatry* [Internet]. 2012 Jun 1;83(6):659 LP – 662. Available from: <http://jnnp.bmj.com/content/83/6/659.abstract>
 55. Vázquez-Costa JF, Mazón M, Carreres-Polo J, Hervás D, Pérez-Tur J, Martí-Bonmatí L, et al. Brain signal intensity changes as biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Scand* [Internet]. 2018 Feb [cited 2018 Apr 22];137(2):262–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29082510>
 56. Huynh W, Simon NG, Grosskreutz J, Turner MR, Vucic S, Kiernan MC. Assessment of the upper motor neuron in amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neurophysiol* [Internet]. 2016 Jul [cited 2018 Apr 22];127(7):2643–60. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1388245716300529>
 57. Misawa S, Noto Y, Shibuya K, Iose S, Sekiguchi Y, Nasu S, et al.

- Ultrasonographic detection of fasciculations markedly increases diagnostic sensitivity of ALS. *Neurology* [Internet]. 2011 Oct 18;77(16):1532 LP – 1537. Available from: <http://n.neurology.org/content/77/16/1532.abstract>
58. Vázquez-Costa JF, Campins-Romeu M, Martínez-Payá JJ, Tembl JI, del Baño-Aledo ME, Ríos-Díaz J, et al. New insights into the pathophysiology of fasciculations in amyotrophic lateral sclerosis: An ultrasound study. *Clin Neurophysiol* [Internet]. 2018;129(12):2650–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1388245718312355>
59. Turner MR, Talbot K. Mimics and chameleons in motor neurone disease. *Pract Neurol* [Internet]. 2013 Jun 1;13(3):153 LP – 164. Available from: <http://pn.bmj.com/content/13/3/153.abstract>
60. Pinto S, Swash M, Carvalho M de. Does surgery accelerate progression of amyotrophic lateral sclerosis? *J Neurol Neurosurg & Psychiatry* [Internet]. 2014 Jun 1;85(6):643 LP – 646. Available from: <http://jnnp.bmj.com/content/85/6/643.abstract>
61. Petrov D, Mansfield C, Moussy A, Hermine O. ALS Clinical Trials Review: 20 Years of Failure. Are We Any Closer to Registering a New Treatment? [Internet]. Vol. 9, *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2017. p. 68. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnagi.2017.00068>
62. Sawada H. Clinical efficacy of edaravone for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *Expert Opin Pharmacother* [Internet]. 2017 May 3;18(7):735–8. Available from: <https://doi.org/10.1080/14656566.2017.1319937>
63. Berry JD, Miller R, Moore DH, Cudkowicz ME, Van Den Berg LH, Kerr DA, et al. The Combined Assessment of Function and Survival (CAFS): A new endpoint for ALS clinical trials. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener* [Internet]. 2013 Apr 1;14(3):162–8. Available from: <https://doi.org/10.3109/21678421.2012.762930>
64. Martí-Bonmatí L. La Radiómica y los Biomarcadores de Imagen. *An RANM*. 2019;136(01):34–42.
65. Martí Bonmatí L, Alberich-Bayarri A, García-Martí G, Sanz Requena R, Pérez Castillo C, Carot Sierra JM, et al. Biomarcadores de imagen, imagen cuantitativa y bioingeniería. *Radiologia* [Internet]. 2012 May [cited 2018 May 3];54(3):269–78. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0033833811001123>
66. Turner MR, Benatar M. Ensuring continued progress in biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* [Internet]. 2015 Jan 1;51(1):14–8. Available from: <https://doi.org/10.1002/mus.24470>

67. Joyce NC, Carter GT. Electrodiagnosis in Persons With Amyotrophic Lateral Sclerosis. *PM&R* [Internet]. 2013 May 1;5(5S):S89–95. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pmrj.2013.03.020>
68. Rocha AJ da, Maia Junior ACM. Is magnetic resonance imaging a plausible biomarker for upper motor neuron degeneration in amyotrophic lateral sclerosis/primary lateral sclerosis or merely a useful paraclinical tool to exclude mimic syndromes? A critical review of imaging applicability. *Arq Neuropsiquiatr*. 2012;70(7):532–9.
69. Vázquez-Costa JF, Martínez-Molina M, Fernández-Polo M, Fornés-Ferrer V, Frasquet-Carrera M, Sevilla-Mantecón T. Analysis of the pathway and diagnostic delay of amyotrophic lateral sclerosis in Valencian Community. *Neurologia*. 2018;In press.
70. Turner MR, Hardiman O, Benatar M, Brooks BR, Chio A, de Carvalho M, et al. Controversies and priorities in amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet Neurol* [Internet]. 2013;12(3):310–22. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S147444221370036X>
71. Simon NG, Turner MR, Vucic S, Al-Chalabi A, Shefner J, Lomen-Hoerth C, et al. Quantifying disease progression in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* [Internet]. 2014/09/30. 2014 Nov;76(5):643–57. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25223628>
72. Zoccolella S, Beghi E, Palagano G, Fraddosio A, Samarelli V, Lamberti P, et al. Predictors of delay in the diagnosis and clinical trial entry of amyotrophic lateral sclerosis patients: A population-based study. *J Neurol Sci* [Internet]. 2006 Dec 1 [cited 2018 Apr 22];250(1–2):45–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16920152>
73. de Carvalho M. Testing upper motor neuron function in amyotrophic lateral sclerosis: the most difficult task of neurophysiology. *Brain* [Internet]. 2012 Sep 1;135(9):2581–2. Available from: <https://doi.org/10.1093/brain/aws228>
74. Chew S, Atassi N. Positron Emission Tomography Molecular Imaging Biomarkers for Amyotrophic Lateral Sclerosis [Internet]. Vol. 10, *Frontiers in Neurology*. 2019. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fneur.2019.00135>
75. Mazón M, Vázquez Costa JF, Ten-Esteve A, Martí-Bonmatí L. Imaging Biomarkers for the Diagnosis and Prognosis of Neurodegenerative Diseases. The Example of Amyotrophic Lateral Sclerosis [Internet]. Vol. 12, *Frontiers in Neuroscience*. 2018. p. 784. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2018.00784>
76. Mezzapesa DM, Ceccarelli A, Dicuonzo F, Carella A, De Caro MF, Lopez M,

- et al. Whole-brain and regional brain atrophy in amyotrophic lateral sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol* [Internet]. 2007 Feb [cited 2018 Apr 22];28(2):255–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17296989>
77. Ashburner J, Friston KJ. Voxel-Based Morphometry—The Methods. *Neuroimage* [Internet]. 2000 Jun [cited 2018 Apr 22];11(6):805–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10860804>
78. Grolez G, Moreau C, Danel-Brunaud V, Delmaire C, Lopes R, Pradat PF, et al. The value of magnetic resonance imaging as a biomarker for amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review. *BMC Neurol* [Internet]. 2016 Aug 27 [cited 2018 Apr 22];16(1):155. Available from: <http://bmcneurol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12883-016-0672-6>
79. Menke RAL, Agosta F, Grosskreutz J, Filippi M, Turner MR. Neuroimaging Endpoints in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurotherapeutics* [Internet]. 2017 Jan 17 [cited 2018 May 15];14(1):11–23. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s13311-016-0484-9>
80. Ellis CM, Suckling J, Amaro E, Bullmore ET, Simmons A, Williams SC, et al. Volumetric analysis reveals corticospinal tract degeneration and extramotor involvement in ALS. *Neurology* [Internet]. 2001 Nov 13 [cited 2018 Apr 22];57(9):1571–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11706094>
81. Chang JL, Lomen-Hoerth C, Murphy J, Henry RG, Kramer JH, Miller BL, et al. A voxel-based morphometry study of patterns of brain atrophy in ALS and ALS/FTLD. *Neurology* [Internet]. 2005 Jul 12 [cited 2018 Apr 22];65(1):75–80. Available from: <http://www.neurology.org/cgi/doi/10.1212/01.wnl.0000167602.38643.29>
82. Kassubek J, Unrath A, Huppertz H-J, Lulé D, Ethofer T, Sperfeld A-D, et al. Global brain atrophy and corticospinal tract alterations in ALS, as investigated by voxel-based morphometry of 3-D MRI. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* [Internet]. 2005 Dec 10 [cited 2018 Apr 22];6(4):213–20. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14660820510038538>
83. Grosskreutz J, Kaufmann J, Frädrich J, Dengler R, Heinze H-J, Peschel T. Widespread sensorimotor and frontal cortical atrophy in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *BMC Neurol* [Internet]. 2006 Apr 25 [cited 2018 Apr 22];6(1):17. Available from: <http://bmcneurol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2377-6-17>
84. Agosta F, Pagani E, Rocca MA, Caputo D, Perini M, Salvi F, et al. Voxel-based morphometry study of brain volumetry and diffusivity in

- amyotrophic lateral sclerosis patients with mild disability. *Hum Brain Mapp* [Internet]. 2007 Dec [cited 2018 Apr 22];28(12):1430–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/hbm.20364>
85. Thivard L, Pradat P-F, Lehericy S, Lacomblez L, Dormont D, Chiras J, et al. Diffusion tensor imaging and voxel based morphometry study in amyotrophic lateral sclerosis: relationships with motor disability. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* [Internet]. 2007 Aug 1 [cited 2018 Apr 22];78(8):889–92. Available from: <http://jnnp.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jnnp.2006.101758>
 86. Menke RAL, Körner S, Filippini N, Douaud G, Knight S, Talbot K, et al. Widespread grey matter pathology dominates the longitudinal cerebral MRI and clinical landscape of amyotrophic lateral sclerosis. *Brain* [Internet]. 2014 Sep [cited 2018 Apr 23];137(Pt 9):2546–55. Available from: <https://academic.oup.com/brain/article-lookup/doi/10.1093/brain/awu162>
 87. Zhang Q, Mao C, Jin J, Niu C, Bai L, Dang J, et al. Side of Limb-Onset Predicts Laterality of Gray Matter Loss in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Biomed Res Int* [Internet]. 2014 [cited 2018 Apr 22];2014:1–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25093168>
 88. Devine MS, Pannek K, Coulthard A, McCombe PA, Rose SE, Henderson RD. Exposing asymmetric gray matter vulnerability in amyotrophic lateral sclerosis. *NeuroImage Clin* [Internet]. 2015 [cited 2018 Apr 22];7:782–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213158215000480>
 89. Kiernan JA, Hudson AJ. Frontal lobe atrophy in motor neuron diseases. *Brain* [Internet]. 1994 Aug [cited 2018 Apr 22];117 (Pt 4):747–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7922462>
 90. Raaphorst J, van Tol MJ, de Visser M, van der Kooij AJ, Majoie CB, van den Berg LH, et al. Prose memory impairment in amyotrophic lateral sclerosis patients is related to hippocampus volume. *Eur J Neurol* [Internet]. 2015 Mar [cited 2018 Apr 22];22(3):547–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25557180>
 91. Bede P, Hardiman O. Lessons of ALS imaging: Pitfalls and future directions - A critical review. *NeuroImage Clin* [Internet]. 2014 [cited 2018 Apr 22];4:436–43. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213158214000291>
 92. Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2000 Sep 26 [cited 2018 Apr 22];97(20):11050–5. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.200033797>

93. Pereira JB, Ibarretxe-Bilbao N, Marti M-J, Compta Y, Junqué C, Bargallo N, et al. Assessment of cortical degeneration in patients with Parkinson's disease by voxel-based morphometry, cortical folding, and cortical thickness. *Hum Brain Mapp* [Internet]. 2012 Nov 1;33(11):2521–34. Available from: <https://doi.org/10.1002/hbm.21378>
94. Verstraete E, Veldink JH, Hendrikse J, Schelhaas HJ, van den Heuvel MP, van den Berg LH. Structural MRI reveals cortical thinning in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* [Internet]. 2012 Apr [cited 2018 Apr 22];83(4):383–8. Available from: <http://jnnp.bmj.com/lookup/doi/10.1136/jnnp-2011-300909>
95. Verstraete E, van den Heuvel MP, Veldink JH, Blanken N, Mandl RC, Hulshoff Pol HE, et al. Motor Network Degeneration in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Structural and Functional Connectivity Study. Zhan W, editor. *PLoS One* [Internet]. 2010 Oct 27 [cited 2018 Apr 22];5(10):e13664. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21060689>
96. Agosta F, Valsasina P, Riva N, Copetti M, Messina MJ, Prella A, et al. The Cortical Signature of Amyotrophic Lateral Sclerosis. Le W, editor. *PLoS One* [Internet]. 2012 Aug 6 [cited 2018 Apr 22];7(8):e42816. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22880116>
97. d'Ambrosio A, Gallo A, Trojsi F, Corbo D, Esposito F, Cirillo M, et al. Frontotemporal cortical thinning in amyotrophic lateral sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol* [Internet]. 2014 Feb 1 [cited 2018 May 3];35(2):304–10. Available from: <http://www.ajnr.org/cgi/doi/10.3174/ajnr.A3753>
98. Mioshi E, Lillo P, Yew B, Hsieh S, Savage S, Hodges JR, et al. Cortical atrophy in ALS is critically associated with neuropsychiatric and cognitive changes. *Neurology* [Internet]. 2013 Mar 19 [cited 2018 Apr 22];80(12):1117–23. Available from: <http://www.neurology.org/cgi/doi/10.1212/WNL.0b013e31828869da>
99. Schuster C, Kasper E, Dyrba M, Machts J, Bittner D, Kaufmann J, et al. Cortical thinning and its relation to cognition in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging* [Internet]. 2014 Jan [cited 2018 Apr 22];35(1):240–6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0197458013003254>
100. Petri S, Körner S, Kiaei M. Nrf2/ARE Signaling Pathway: Key Mediator in Oxidative Stress and Potential Therapeutic Target in ALS. *Neurol Res Int* [Internet]. 2012 [cited 2018 Apr 23];2012:878030. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/nri/2012/878030/>
101. Jomova K, Vondrakova D, Lawson M, Valko M. Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders. *Mol Cell Biochem* [Internet]. 2010 Dec

- 22 [cited 2018 Apr 23];345(1–2):91–104. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11010-010-0563-x>
102. Oba H, Araki T, Ohtomo K, Monzawa S, Uchiyama G, Koizumi K, et al. Amyotrophic lateral sclerosis: T2 shortening in motor cortex at MR imaging. *Radiology* [Internet]. 1993 Dec [cited 2018 Apr 22];189(3):843–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8234713>
103. Waragai M. MRI and clinical features in amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroradiology* [Internet]. 1997 Dec [cited 2018 May 3];39(12):847–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9457707>
104. Cheung G, Gawel MJ, Cooper PW, Farb RI, Ang LC, Gawal MJ. Amyotrophic lateral sclerosis: correlation of clinical and MR imaging findings. *Radiology* [Internet]. 1995 Jan [cited 2018 Apr 23];194(1):263–70. Available from: <http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiology.194.1.7997565>
105. Hecht MJ, Fellner F, Fellner C, Hilz MJ, Neundörfer B, Heuss D. Hyperintense and hypointense MRI signals of the precentral gyrus and corticospinal tract in ALS: a follow-up examination including FLAIR images. *J Neurol Sci* [Internet]. 2002 Jul 15 [cited 2018 Apr 23];199(1–2):59–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12084444>
106. Ishikawa K, Nagura H, Yokota T, Yamanouchi H. Signal loss in the motor cortex on magnetic resonance images in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* [Internet]. 1993 Feb [cited 2018 Apr 23];33(2):218–22. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ana.410330214>
107. Thorpe JW, Moseley IF, Hawkes CH, MacManus DG, McDonald WI, Miller DH. Brain and spinal cord MRI in motor neuron disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* [Internet]. 1996 Sep [cited 2018 Apr 23];61(3):314–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8795607>
108. Hecht MJ, Fellner C, Schmid A, Neundörfer B, Fellner FA. Cortical T2 signal shortening in amyotrophic lateral sclerosis is not due to iron deposits. *Neuroradiology* [Internet]. 2005 Nov 21 [cited 2018 Apr 23];47(11):805–8. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00234-005-1421-5>
109. Ignjatović A, Stević Z, Lavrnjić S, Daković M, Bačić G. Brain iron MRI: A biomarker for amyotrophic lateral sclerosis. *J Magn Reson Imaging* [Internet]. 2013 Dec [cited 2018 May 3];38(6):1472–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23564606>
110. Cervo A, Coccozza S, Saccà F, Giorgio SMDA, Morra VB, Tedeschi E, et al. The combined use of conventional MRI and MR spectroscopic imaging increases the diagnostic accuracy in amyotrophic lateral sclerosis. *Eur J Radiol* [Internet]. 2015 Jan [cited 2018 Apr 23];84(1):151–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0720048X14005038>

111. Langkammer C, Krebs N, Goessler W, Scheurer E, Ebner F, Yen K, et al. Quantitative MR imaging of brain iron: a postmortem validation study. *Radiology* [Internet]. 2010 Nov [cited 2018 Apr 23];257(2):455–62. Available from: <http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiol.10100495>
112. Langkammer C, Enzinger C, Quasthoff S, Grafenauer P, Soellinger M, Fazekas F, et al. Mapping of iron deposition in conjunction with assessment of nerve fiber tract integrity in amyotrophic lateral sclerosis. *J Magn Reson Imaging* [Internet]. 2010 Jun 24 [cited 2018 Apr 23];31(6):1339–45. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jmri.22185>
113. Minnerop M, Specht K, Ruhlmann J, Grothe C, Wüllner U, Klockgether T. In vivo voxel-based relaxometry in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol* [Internet]. 2009 Jan 16 [cited 2018 Apr 23];256(1):28–34. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00415-009-0947-6>
114. Sheelakumari R, Madhusoodanan M, Radhakrishnan A, Ranjith G, Thomas B. A Potential Biomarker in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Can Assessment of Brain Iron Deposition with SWI and Corticospinal Tract Degeneration with DTI Help? *AJNR Am J Neuroradiol* [Internet]. 2016 Feb [cited 2018 Apr 23];37(2):252–8. Available from: <http://www.ajnr.org/lookup/doi/10.3174/ajnr.A4524>
115. Conte G, Sbaraini S, Morelli C, Casale S, Caschera L, Contarino VE, et al. A susceptibility-weighted imaging qualitative score of the motor cortex may be a useful tool for distinguishing clinical phenotypes in amyotrophic lateral sclerosis. *Eur Radiol* [Internet]. 2021;31(3):1281–9. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00330-020-07239-0>
116. Kakeda S, Yoneda T, Ide S, Miyata M, Hashimoto T, Futatsuya K, et al. Zebra sign of precentral gyri in amyotrophic lateral sclerosis: A novel finding using phase difference enhanced (PADRE) imaging-initial results. *Eur Radiol* [Internet]. 2016 Nov 28 [cited 2018 May 14];26(11):4173–83. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00330-016-4219-4>
117. Haacke EM, Ayaz M, Khan A, Manova ES, Krishnamurthy B, Gollapalli L, et al. Establishing a baseline phase behavior in magnetic resonance imaging to determine normal vs. abnormal iron content in the brain. *J Magn Reson Imaging* [Internet]. 2007 Aug [cited 2018 Apr 23];26(2):256–64. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jmri.22987>
118. Canna A, Trojsi F, Di Nardo F, Caiazzo G, Tedeschi G, Cirillo M, et al. Combining structural and metabolic markers in a quantitative MRI study of motor neuron diseases. *Ann Clin Transl Neurol* [Internet]. 2021 Sep 1;8(9):1774–85. Available from: <https://doi.org/10.1002/acn3.51418>
119. Conte G, Contarino VE, Casale S, Morelli C, Sbaraini S, Scola E, et al.

- Amyotrophic lateral sclerosis phenotypes significantly differ in terms of magnetic susceptibility properties of the precentral cortex. *Eur Radiol* [Internet]. 2021;31(7):5272–80. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00330-020-07547-5>
120. Wasano K, Kanzaki S, Ogawa K. Bilateral Congenital Conductive Hearing Loss Due to Ossification of the Stapedius Tendon. *Otol Neurotol* [Internet]. 2014;35(3). Available from: https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2014/03000/Bilateral_Congenital_Conductive_Hearing_Loss_Due.34.aspx
121. Acosta-Cabronero J, Machts J, Schreiber S, Abdulla S, Kollewé K, Petri S, et al. Quantitative Susceptibility MRI to Detect Brain Iron in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Radiology* [Internet]. 2018 Jul 24;289(1):195–203. Available from: <https://doi.org/10.1148/radiol.2018180112>
122. Dean KE, Shen B, Askin G, Schweitzer AD, Shahbazi M, Wang Y, et al. A specific biomarker for amyotrophic lateral sclerosis: Quantitative susceptibility mapping. *Clin Imaging* [Internet]. 2021 Jul 1;75:125–30. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinimag.2020.12.018>
123. Grollemund V, Pradat P-F, Querin G, Delbot F, Le Chat G, Pradat-Peyre J-F, et al. Machine Learning in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Achievements, Pitfalls, and Future Directions [Internet]. Vol. 13, *Frontiers in Neuroscience*. 2019. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2019.00135>
124. Bede P. From qualitative radiological cues to machine learning: MRI-based diagnosis in neurodegeneration. *Future Neurol* [Internet]. 2017 Jan 20;12(1):5–8. Available from: <https://doi.org/10.2217/fnl-2016-0029>
125. Müller H-P, Turner MR, Grosskreutz J, Abrahams S, Bede P, Govind V, et al. A large-scale multicentre cerebral diffusion tensor imaging study in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg & Psychiatry* [Internet]. 2016 Jun 1;87(6):570 LP – 579. Available from: <http://jnnp.bmj.com/content/87/6/570.abstract>
126. Schuster C, Hardiman O, Bede P. Survival prediction in Amyotrophic lateral sclerosis based on MRI measures and clinical characteristics. *BMC Neurol* [Internet]. 2017;17(1):73. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12883-017-0854-x>
127. van der Burgh HK, Schmidt R, Westeneng H-J, de Reus MA, van den Berg LH, van den Heuvel MP. Deep learning predictions of survival based on MRI in amyotrophic lateral sclerosis. *NeuroImage Clin* [Internet]. 2017 [cited 2018 Aug 6];13:361–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213158216301899>

128. Devine MS, Kiernan MC, Heggie S, McCombe PA, Henderson RD. Study of motor asymmetry in ALS indicates an effect of limb dominance on onset and spread of weakness, and an important role for upper motor neurons. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener* [Internet]. 2014 Dec 1;15(7–8):481–7. Available from: <https://doi.org/10.3109/21678421.2014.906617>
129. Cedarbaum JM, Stambler N, Malta E, Fuller C, Hilt D, Thurmond B, et al. The ALSFRS-R: a revised ALS functional rating scale that incorporates assessments of respiratory function. *J Neurol Sci* [Internet]. 1999 Oct 31;169(1):13–21. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0022-510X\(99\)00210-5](https://doi.org/10.1016/S0022-510X(99)00210-5)
130. Labra J, Menon P, Byth K, Morrison S, Vucic S. Rate of disease progression: a prognostic biomarker in ALS. *J Neurol Neurosurg & Psychiatry* [Internet]. 2016 Jun 1;87(6):628 LP – 632. Available from: <http://jnnp.bmj.com/content/87/6/628.abstract>
131. Kollwe K, Mauss U, Krampfl K, Petri S, Dengler R, Mohammadi B. ALSFRS-R score and its ratio: A useful predictor for ALS-progression. *J Neurol Sci* [Internet]. 2008 Dec 15;275(1):69–73. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jns.2008.07.016>
132. Byrne S, Walsh C, Lynch C, Bede P, Elamin M, Kenna K, et al. Rate of familial amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol Neurosurg & Psychiatry* [Internet]. 2011 Jun 1;82(6):623 LP – 627. Available from: <http://jnnp.bmj.com/content/82/6/623.abstract>
133. Radvansky J, Ficek A, Minarik G, Palffy R, Kadasi L. Effect of Unexpected Sequence Interruptions to Conventional PCR and Repeat Primed PCR in Myotonic Dystrophy Type 1 Testing. *Diagnostic Mol Pathol* [Internet]. 2011;20(1). Available from: https://journals.lww.com/molecularpathology/Fulltext/2011/03000/Effect_of_Unexpected_Sequence_Interruptions_to.7.aspx
134. Fischl B. FreeSurfer. *Neuroimage* [Internet]. 2012/01/10. 2012 Aug 15;62(2):774–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22248573>
135. Penny W, Friston K, Ashburner J, Kiebel S, Nichols T. *Statistical Parametric Mapping: The Analysis of Functional Brain Images. Statistical Parametric Mapping: The Analysis of Functional Brain Images*. 2007.
136. Woolrich MW, Jbabdi S, Patenaude B, Chappell M, Makni S, Behrens T, et al. Bayesian analysis of neuroimaging data in FSL. *Neuroimage* [Internet]. 2009;45(1, Supplement 1):S173–86. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811908012044>

137. Avants BB, Tustison NJ, Song G, Cook PA, Klein A, Gee JC. A reproducible evaluation of ANTs similarity metric performance in brain image registration. *Neuroimage* [Internet]. 2010/09/17. 2011 Feb 1;54(3):2033–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20851191>
138. Saladi S, Amutha Prabha N. Analysis of denoising filters on MRI brain images. *Int J Imaging Syst Technol* [Internet]. 2017 Sep 1;27(3):201–8. Available from: <https://doi.org/10.1002/ima.22225>
139. Tustison NJ, Avants BB, Cook PA, Zheng Y, Egan A, Yushkevich PA, et al. N4ITK: improved N3 bias correction. *IEEE Trans Med Imaging* [Internet]. 2010/04/08. 2010 Jun;29(6):1310–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20378467>
140. Ashburner J, Friston K. Multimodal image coregistration and partitioning - A unified framework. *Neuroimage*. 1997 Oct 1;6(3):209–17.
141. Ashburner J, Friston KJ. Nonlinear spatial normalization using basis functions. *Hum Brain Mapp* [Internet]. 1999;7(4):254–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10408769>
142. Razlighi QR, Kehtarnavaz N, Yousefi S. Evaluating Similarity Measures for Brain Image Registration. *J Vis Commun Image Represent* [Internet]. 2013 Oct;24(7):977–87. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24039378>
143. Yang T, Tang Q, Li L, Song J, Zhu C, Tang L. Nonrigid registration of medical image based on adaptive local structure tensor and normalized mutual information. *J Appl Clin Med Phys* [Internet]. 2019/05/23. 2019 Jun;20(6):99–110. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31124248>
144. Klein S, Staring M, Murphy K, Viergever MA, Pluim JPW. elastix: A Toolbox for Intensity-Based Medical Image Registration. *IEEE Trans Med Imaging*. 2010;29(1):196–205.
145. Zhuo J, Gullapalli RP. MR Artifacts, Safety, and Quality Control. *RadioGraphics* [Internet]. 2006 Jan 1;26(1):275–97. Available from: <https://doi.org/10.1148/rg.261055134>
146. Sewonu A, Hossu G, Felblinger J, Anxionnat R, Pasquier C. An automatic MRI quality control procedure: Multisite reports for slice thickness and geometric accuracy. In: *IRBM*. Elsevier Masson; 2013. p. 300–5.
147. Zaitsev M, Maclaren J, Herbst M. Motion artifacts in MRI: A complex problem with many partial solutions. *J Magn Reson Imaging* [Internet]. 2015/01/28. 2015 Oct;42(4):887–901. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25630632>

148. Artifact Detection Tools (RRID:SCR_005994).
149. Tailarch J, Tournoux P. Co-planar stereotaxic atlas of the human brain 3-Dimensional proportional system An approach to cerebral imaging. Thieme Medical Publishers, Inc., New York. - References - Scientific Research Publishing [Internet]. Thieme Medical Publishers, editor. New York; 1988 [cited 2021 Apr 10]. 132 p. Available from: [https://www.scirp.org/\(S\(351jmbntvnsjt1aadkposzje\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1011829](https://www.scirp.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkposzje))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1011829)
150. Mazziotta JC, Toga AW, Evans A, Fox P, Lancaster J. A Probabilistic Atlas of the Human Brain: Theory and Rationale for Its Development: The International Consortium for Brain Mapping (ICBM). *Neuroimage* [Internet]. 1995;2(2, Part A):89–101. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811985710129>
151. Maintz JBA, Viergever MA. A survey of medical image registration. *Med Image Anal* [Internet]. 1998;2(1):1–36. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1361841501800268>
152. Makris N, Goldstein JM, Kennedy D, Hodge SM, Caviness VS, Faraone S V., et al. Decreased volume of left and total anterior insular lobule in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2006 Apr 1;83(2–3):155–71.
153. Giorgio A, De Stefano N. Clinical use of brain volumetry. *J Magn Reson Imaging* [Internet]. 2013 Jan 1;37(1):1–14. Available from: <https://doi.org/10.1002/jmri.23671>
154. Kurth F, Gaser C, Luders E. A 12-step user guide for analyzing voxel-wise gray matter asymmetries in statistical parametric mapping (SPM). *Nat Protoc* [Internet]. 2015 Jan 15 [cited 2018 Apr 22];10(2):293–304. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25591011>
155. Friston KJ, Holmes AP, Poline JB, Grasby PJ, Williams SCR, Frackowiak RSJ, et al. Analysis of fMRI time-series revisited. *Neuroimage*. 1995 Mar 1;2(1):45–53.
156. Nakamura K, Fox R, Fisher E. CLADA: cortical longitudinal atrophy detection algorithm. *Neuroimage* [Internet]. 2010/07/30. 2011 Jan 1;54(1):278–89. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20674750>
157. Clarkson MJ, Cardoso MJ, Ridgway GR, Modat M, Leung KK, Rohrer JD, et al. A comparison of voxel and surface based cortical thickness estimation methods. *Neuroimage* [Internet]. 2011;57(3):856–65. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811911005611>
158. Govindarajan ST, Cohen-Adad J, Sormani MP, Fan AP, Louapre C, Mainero C. Reproducibility of T2 * mapping in the human cerebral cortex in vivo at

- 7 tesla MRI. *J Magn Reson Imaging* [Internet]. 2014/11/19. 2015 Aug;42(2):290–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25407671>
159. Hodel J, Rodallec M, Gerber S, Blanc R, Maraval A, Caron S, et al. Séquences IRM « SWAN, SWI et VenobOLD » exploitant le phénomène de susceptibilité magnétique : principes techniques et applications cliniques. *J Neuroradiol* [Internet]. 2012;39(2):71–86. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0150986111001416>
160. Yousry TA, Schmid UD, Alkadhi H, Schmidt D, Peraud A, Buettner A, et al. Localization of the motor hand area to a knob on the precentral gyrus. A new landmark. *Brain* [Internet]. 1997 Jan 1;120(1):141–57. Available from: <https://doi.org/10.1093/brain/120.1.141>
161. Lotze M, Erb M, Flor H, Huelsmann E, Godde B, Grodd W. fMRI Evaluation of Somatotopic Representation in Human Primary Motor Cortex. *Neuroimage* [Internet]. 2000;11(5):473–81. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811900905561>
162. Weiss C, Nettekoven C, Rehme AK, Neuschmelting V, Eisenbeis A, Goldbrunner R, et al. Mapping the hand, foot and face representations in the primary motor cortex — Retest reliability of neuronavigated TMS versus functional MRI. *Neuroimage* [Internet]. 2013;66:531–42. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S105381191201049X>
163. Alkadhi H, Crelier GR, Boendermaker SH, Golay X, Hepp-Reymond M-C, Kollias SS. Reproducibility of Primary Motor Cortex Somatotopy Under Controlled Conditions. *Am J Neuroradiol* [Internet]. 2002 Oct 1;23(9):1524 LP – 1532. Available from: <http://www.ajnr.org/content/23/9/1524.abstract>
164. Mazzucchi S, Frosini D, Costagli M, Del Prete E, Donatelli G, Cecchi P, et al. Quantitative susceptibility mapping in atypical Parkinsonisms. *NeuroImage Clin* [Internet]. 2019;24:101999. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213158219303493>
165. Van Rossum G, Drake FL. *Python 3 Reference Manual*. Scotts Valley, CA: CreateSpace; 2009.
166. McKinney W, Van Der Walt S, Millman J. *Proceedings of the 9th Python in Science Conference*. Austin, Texas; 2010. p. 51–6.
167. Harris CR, Millman KJ, van der Walt SJ, Gommers R, Virtanen P, Cournapeau D, et al. Array programming with NumPy. *Nature* [Internet]. 2020;585(7825):357–62. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2649-2>

168. Pedregosa F, Varoquaux G, Gramfort A, Michel V, Thirion B, Grisel O, et al. Scikit-Learn: Machine Learning in Python. *J Mach Learn Res*. 2011 Nov;12(null):2825–2830.
169. Hunter JD. Matplotlib: A 2D Graphics Environment. *Comput Sci Eng*. 2007;9(3):90–5.
170. Waskom ML. seaborn: statistical data visualization. *J Open Source Softw* [Internet]. 2021 Apr 6 [cited 2022 Dec 11];6(60):3021. Available from: <https://joss.theoj.org/papers/10.21105/joss.03021>
171. Inc PT. Collaborative data sciencee. Montreal, QC: Plotly Technologies Inc.; 2015.
172. Lemaître G, Nogueira F, Aridas CK. Imbalanced-Learn: A Python Toolbox to Tackle the Curse of Imbalanced Datasets in Machine Learning. *J Mach Learn Res*. 2017 Jan;18(1):559–563.
173. R Core Team. A Language and Environment for Statistical Computing [Internet]. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2020. Available from: <https://www.r-project.org/>
174. Gil Chong PO. Desarrollo de biomarcadores de imagen médica para ELA (Esclerosis Lateral Amiotrófica) con técnicas estadísticas multivariantes y de machine learning [Internet]. Universitat Politècnica de València; 2022. Available from: <http://hdl.handle.net/10251/188004>
175. Chawla N V, Bowyer KW, Hall LO, Kegelmeyer WP. SMOTE: Synthetic Minority over-Sampling Technique. *J Artif Int Res*. 2002 Jun;16(1):321–357.
176. He H, Bai Y, Garcia EA, Li S. ADASYN: Adaptive synthetic sampling approach for imbalanced learning. In: 2008 IEEE International Joint Conference on Neural Networks (IEEE World Congress on Computational Intelligence). 2008. p. 1322–8.
177. Tibshirani R. Regression Shrinkage and Selection Via the Lasso. *J R Stat Soc Ser B* [Internet]. 1996 Jan 1;58(1):267–88. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1996.tb02080.x>
178. Martí-Bonmatí L, Alberich-Bayarri Á, Torregrosa A. El informe radiológico. Estructura, estilo y contenido. *Radiologia* [Internet]. 2022;64:186–93. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-radiologia-119-articulo-el-informe-radiologico-estructura-estilo-S0033833822000510>
179. Wattjes MP, Ciccarelli O, Reich DS, Banwell B, de Stefano N, Enzinger C, et al. 2021 MAGNIMS-CMSC-NAIMS consensus recommendations on the use of MRI in patients with multiple sclerosis. *Lancet Neurol* [Internet]. 2021 Aug 1;20(8):653–70. Available from: [167](https://doi.org/10.1016/S1474-</div><div data-bbox=)

4422(21)00095-8

180. Kalra S. Magnetic Resonance Spectroscopy in ALS [Internet]. Vol. 10, *Frontiers in Neurology*. 2019. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2019.00482>
181. Haacke EM, Mittal S, Wu Z, Neelavalli J, Cheng Y-CN. Susceptibility-Weighted Imaging: Technical Aspects and Clinical Applications, Part 1. *Am J Neuroradiol* [Internet]. 2009 Jan 1;30(1):19 LP – 30. Available from: <http://www.ajnr.org/content/30/1/19.abstract>
182. Haacke EM, Xu Y, Cheng Y-CN, Reichenbach JR. Susceptibility weighted imaging (SWI). *Magn Reson Med* [Internet]. 2004 Sep 1;52(3):612–8. Available from: <https://doi.org/10.1002/mrm.20198>
183. Rauscher A, Barth M, Herrmann K-H, Witoszynskij S, Deistung A, Reichenbach JR. Improved elimination of phase effects from background field inhomogeneities for susceptibility weighted imaging at high magnetic field strengths. *Magn Reson Imaging* [Internet]. 2008;26(8):1145–51. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0730725X08000544>
184. Ruetten PPR, Gillard JH, Graves MJ. Introduction to Quantitative Susceptibility Mapping and Susceptibility Weighted Imaging. *Br J Radiol* [Internet]. 2019 Jul 26;92(1101):20181016. Available from: <https://doi.org/10.1259/bjr.20181016>
185. Zheng W, Nichol H, Liu S, Cheng Y-CN, Haacke EM. Measuring iron in the brain using quantitative susceptibility mapping and X-ray fluorescence imaging. *Neuroimage* [Internet]. 2013;78:68–74. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811913003509>
186. Liu T, Eskreis-Winkler S, Schweitzer AD, Chen W, Kaplitt MG, Tsiouris AJ, et al. Improved Subthalamic Nucleus Depiction with Quantitative Susceptibility Mapping. *Radiology* [Internet]. 2013 Oct 1;269(1):216–23. Available from: <https://doi.org/10.1148/radiol.13121991>
187. Schweitzer AD, Liu T, Gupta A, Zheng K, Seeding S, Shtilbans A, et al. Quantitative susceptibility mapping of the motor cortex in amyotrophic lateral sclerosis and primary lateral sclerosis. *AJR Am J Roentgenol* [Internet]. 2015 May [cited 2018 Apr 23];204(5):1086–92. Available from: <http://www.ajronline.org/doi/10.2214/AJR.14.13459>
188. Costagli M, Donatelli G, Biagi L, Caldarazzo Ienco E, Siciliano G, Tosetti M, et al. Magnetic susceptibility in the deep layers of the primary motor cortex in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *NeuroImage Clin* [Internet]. 2016 Feb [cited 2018 Apr 23];12:965–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213158216300742>

189. Carré A, Klausner G, Edjlali M, Lerousseau M, Briend-Diop J, Sun R, et al. Standardization of brain MR images across machines and protocols: bridging the gap for MRI-based radiomics. *Sci Rep* [Internet]. 2020;10(1):12340. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69298-z>
190. Esteban O, Markiewicz CJ, Blair RW, Moodie CA, Isik AI, Erramuzpe A, et al. fMRIPrep: a robust preprocessing pipeline for functional MRI. *Nat Methods* [Internet]. 2019;16(1):111–6. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41592-018-0235-4>
191. Kanaan RA, Shergill SS, Barker GJ, Catani M, Ng VW, Howard R, et al. Tract-specific anisotropy measurements in diffusion tensor imaging. *Psychiatry Res Neuroimaging* [Internet]. 2006;146(1):73–82. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925492705001976>
192. Smith SM, Jenkinson M, Johansen-Berg H, Rueckert D, Nichols TE, Mackay CE, et al. Tract-based spatial statistics: Voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *Neuroimage* [Internet]. 2006 Jul 15 [cited 2018 Apr 22];31(4):1487–505. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16624579>
193. Ben Bashat D, Artzi M, Tarrasch R, Nefussy B, Drory VE, Aizenstein O. A potential tool for the diagnosis of ALS based on diffusion tensor imaging. *Amyotroph Lateral Scler* [Internet]. 2011 Nov 1;12(6):398–405. Available from: <https://doi.org/10.3109/17482968.2011.582646>
194. Foerster BR, Dwamena BA, Petrou M, Carlos RC, Callaghan BC, Churchill CL, et al. Diagnostic Accuracy of Diffusion Tensor Imaging in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Systematic Review and Individual Patient Data Meta-Analysis. *Acad Radiol* [Internet]. 2013 Sep 1;20(9):1099–106. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.acra.2013.03.017>
195. Bede P, Iyer PM, Finegan E, Omer T, Hardiman O. Virtual brain biopsies in amyotrophic lateral sclerosis: Diagnostic classification based on in vivo pathological patterns. *NeuroImage Clin* [Internet]. 2017;15:653–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213158217301420>
196. Schuster C, Hardiman O, Bede P. Development of an Automated MRI-Based Diagnostic Protocol for Amyotrophic Lateral Sclerosis Using Disease-Specific Pathognomonic Features: A Quantitative Disease-State Classification Study. *PLoS One* [Internet]. 2016 Dec 1;11(12):e0167331. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167331>
197. Ferraro PM, Agosta F, Riva N, Copetti M, Spinelli EG, Falzone Y, et al. Multimodal structural MRI in the diagnosis of motor neuron diseases.

- NeuroImage Clin [Internet]. 2017 [cited 2018 May 4];16:240–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213158217301924>
198. Zhou F, Gong H, Li F, Zhuang Y, Zang Y, Xu R, et al. Altered motor network functional connectivity in amyotrophic lateral sclerosis: a resting-state functional magnetic resonance imaging study. *Neuroreport* [Internet]. 2013 Aug 21 [cited 2018 Apr 25];24(12):657–62. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00001756-201308210-00004>
199. Mohammadi B, Kollwe K, Samii A, Krampfl K, Dengler R, Münte TF. Changes of resting state brain networks in amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol* [Internet]. 2009 May [cited 2018 Apr 25];217(1):147–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19416664>
200. Jelsone-Swain LM, Fling BW, Seidler RD, Hovatter R, Gruis K, Welsh RC. Reduced Interhemispheric Functional Connectivity in the Motor Cortex during Rest in Limb-Onset Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Front Syst Neurosci* [Internet]. 2010 [cited 2018 Apr 25];4:158. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnsys.2010.00158/abstract>
201. Fekete T, Zach N, Mujica-Parodi LR, Turner MR. Multiple kernel learning captures a systems-level functional connectivity biomarker signature in amyotrophic lateral sclerosis. Zang Y-F, editor. *PLoS One* [Internet]. 2013 Dec 31 [cited 2018 Apr 25];8(12):e85190. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0085190>
202. Welsh R, Jelsone-Swain L, Foerster B. The Utility of Independent Component Analysis and Machine Learning in the Identification of the Amyotrophic Lateral Sclerosis Diseased Brain [Internet]. Vol. 7, *Frontiers in Human Neuroscience*. 2013. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnhum.2013.00251>
203. Fratello M, Caiazzo G, Trojsi F, Russo A, Tedeschi G, Tagliaferri R, et al. Multi-View Ensemble Classification of Brain Connectivity Images for Neurodegeneration Type Discrimination. *Neuroinformatics* [Internet]. 2017;15(2):199–213. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12021-017-9324-2>
204. Pestov V. An axiomatic approach to intrinsic dimension of a dataset. *Neural Networks* [Internet]. 2008;21(2):204–13. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0893608007002511>
205. Moons KGM, Altman DG, Reitsma JB, Ioannidis JPA, Macaskill P, Steyerberg EW, et al. Transparent Reporting of a multivariable prediction model for Individual Prognosis Or Diagnosis (TRIPOD): Explanation and Elaboration. *Ann Intern Med* [Internet]. 2015 Jan 6;162(1):W1–73. Available from: <https://doi.org/10.7326/M14-0698>

206. Goyal NA, Berry JD, Windebank A, Staff NP, Maragakis NJ, van den Berg LH, et al. Addressing heterogeneity in amyotrophic lateral sclerosis CLINICAL TRIALS. *Muscle Nerve* [Internet]. 2020 Aug 1;62(2):156–66. Available from: <https://doi.org/10.1002/mus.26801>
207. Ahmed RM, Bocchetta M, Todd EG, Tse NY, Devenney EM, Tu S, et al. Tackling clinical heterogeneity across the amyotrophic lateral sclerosis–frontotemporal dementia spectrum using a transdiagnostic approach. *Brain Commun* [Internet]. 2021 Oct 1;3(4):fcab257. Available from: <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcab257>
208. Kwan J, Vullaganti M. Amyotrophic lateral sclerosis mimics. *Muscle Nerve* [Internet]. 2022 Sep 1;66(3):240–52. Available from: <https://doi.org/10.1002/mus.27567>
209. Sarica A, Cerasa A, Valentino P, Yeatman J, Trotta M, Barone S, et al. The corticospinal tract profile in amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Brain Mapp* [Internet]. 2017 Feb 1;38(2):727–39. Available from: <https://doi.org/10.1002/hbm.23412>
210. D’hulst L, Van Weehaeghe D, Chiò A, Calvo A, Moglia C, Canosa A, et al. Multicenter validation of [18F]-FDG PET and support-vector machine discriminant analysis in automatically classifying patients with amyotrophic lateral sclerosis versus controls. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener* [Internet]. 2018 Oct 2;19(7–8):570–7. Available from: <https://doi.org/10.1080/21678421.2018.1476548>
211. Querin G, El Mendili M-M, Bede P, Delphine S, Lenglet T, Marchand-Pauvert V, et al. Multimodal spinal cord MRI offers accurate diagnostic classification in ALS. *J Neurol Neurosurg & Psychiatry* [Internet]. 2018 Nov 1;89(11):1220 LP – 1221. Available from: <http://jnnp.bmj.com/content/89/11/1220.abstract>
212. Kocar TD, Behler A, Ludolph AC, Müller H-P, Kassubek J. Multiparametric Microstructural MRI and Machine Learning Classification Yields High Diagnostic Accuracy in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Proof of Concept [Internet]. Vol. 12, *Frontiers in Neurology*. 2021. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2021.745475>
213. Turner MR, Grosskreutz J, Kassubek J, Abrahams S, Agosta F, Benatar M, et al. Towards a neuroimaging biomarker for amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet Neurol* [Internet]. 2011 May 1;10(5):400–3. Available from: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70049-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70049-7)
214. Arbabshirani MR, Plis S, Sui J, Calhoun VD. Single subject prediction of brain disorders in neuroimaging: Promises and pitfalls. *Neuroimage* [Internet]. 2017;145:137–65. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S105381191600210X>

215. Cortés-Vicente E, Pradas J, Marín-lahoz J, De Luna N, Clarimón J, Turon-Sans J, et al. Early diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis mimic syndromes: pros and cons of current clinical diagnostic criteria. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener* [Internet]. 2017 Jul 3;18(5–6):333–40. Available from: <https://doi.org/10.1080/21678421.2017.1316408>
216. Traynor BJ, Codd MB, Corr B, Forde C, Frost E, Hardiman O. Amyotrophic Lateral Sclerosis Mimic Syndromes: A Population-Based Study. *Arch Neurol* [Internet]. 2000 Jan 1;57(1):109–13. Available from: <https://doi.org/10.1001/archneur.57.1.109>
217. Cellura E, Spataro R, Taiello AC, La Bella V. Factors affecting the diagnostic delay in amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg* [Internet]. 2012;114(6):550–4. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0303846711003921>
218. Kassubek J, Müller H-P. Advanced neuroimaging approaches in amyotrophic lateral sclerosis: refining the clinical diagnosis. *Expert Rev Neurother* [Internet]. 2020 Mar 3;20(3):237–49. Available from: <https://doi.org/10.1080/14737175.2020.1715798>
219. Kocar TD, Müller H-P, Ludolph AC, Kassubek J. Feature selection from magnetic resonance imaging data in ALS: a systematic review. *Ther Adv Chronic Dis* [Internet]. 2021 Jan 1;12:20406223211051000. Available from: <https://doi.org/10.1177/20406223211051002>
220. Walhout R, Westeneng H-J, Verstraete E, Hendrikse J, Veldink JH, van den Heuvel MP, et al. Cortical thickness in ALS: towards a marker for upper motor neuron involvement. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* [Internet]. 2015 Mar 1 [cited 2018 May 15];86(3):288–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25121571>
221. Hutton C, Draganski B, Ashburner J, Weiskopf N. A comparison between voxel-based cortical thickness and voxel-based morphometry in normal aging. *Neuroimage* [Internet]. 2009;48(2):371–80. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S105381190900679X>
222. Mountcastle VB. The columnar organization of the neocortex. *Brain* [Internet]. 1997 Apr 1;120(4):701–22. Available from: <https://doi.org/10.1093/brain/120.4.701>
223. Li T, Howells J, Lin CSY, Garg N, Kiernan MC, Park SB. 8. Predicting motor disorders from nerve excitability studies. *Clin Neurophysiol* [Internet]. 2018;129(4):e4. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1388245717312087>
224. Tannemaat MR, Kefalas M, Geraedts VJ, Remijn-Nelissen L, Verschuuren

- AJM, Koch M, et al. Distinguishing normal, neuropathic and myopathic EMG with an automated machine learning approach. *Clin Neurophysiol* [Internet]. 2023;146:49–54. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1388245722009622>
225. Lawton KA, Brown M V, Alexander D, Li Z, Wulff JE, Lawson R, et al. Plasma metabolomic biomarker panel to distinguish patients with amyotrophic lateral sclerosis from disease mimics. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener* [Internet]. 2014 Sep 1;15(5–6):362–70. Available from: <https://doi.org/10.3109/21678421.2014.908311>
226. Mitchell RM, Simmons Z, Beard JL, Stephens HE, Connor JR. Plasma biomarkers associated with ALS and their relationship to iron homeostasis. *Muscle Nerve* [Internet]. 2010 Jul 1;42(1):95–103. Available from: <https://doi.org/10.1002/mus.21625>
227. Taguchi Y -h., Wang H. Exploring microRNA Biomarker for Amyotrophic Lateral Sclerosis. Vol. 19, *International Journal of Molecular Sciences*. 2018.
228. Zakharova MN, Abramova AA. Lower and upper motor neuron involvement and their impact on disease prognosis in amyotrophic lateral sclerosis. *Neural Regen Res* [Internet]. 2022;17(1). Available from: https://journals.lww.com/nrronline/Fulltext/2022/01000/Lower_and_upper_motor_neuron_involvement_and_their.11.aspx
229. Dengler R. Amyotrophic lateral sclerosis: Who has the lead, the upper or the lower motor neuron? *Clin Neurophysiol* [Internet]. 2011;122(3):433–4. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1388245710006012>
230. Brown RH, Al-Chalabi A. Amyotrophic Lateral Sclerosis. *N Engl J Med* [Internet]. 2017 Jul 13;377(2):162–72. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMra1603471>
231. Marin B, Couratier P, Arcuti S, Copetti M, Fontana A, Nicol M, et al. Stratification of ALS patients' survival: a population-based study. *J Neurol* [Internet]. 2016;263(1):100–11. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00415-015-7940-z>
232. Rong P, Yunusova Y, Wang J, Green JR. Predicting Early Bulbar Decline in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Speech Subsystem Approach. Costa J, editor. *Behav Neurol* [Internet]. 2015;2015:183027. Available from: <https://doi.org/10.1155/2015/183027>
233. Tortelli R, Copetti M, Panza F, Cortese R, Capozzo R, Errico E, et al. Time to generalisation as a predictor of prognosis in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg & Psychiatry* [Internet].

- 2016 Jun 1;87(6):678 LP – 679. Available from:
<http://jnnp.bmj.com/content/87/6/678.abstract>
234. Wolf J, Safer A, Wöhrle JC, Palm F, Nix WA, Maschke M, et al. Factors Predicting Survival in ALS Patients - Data from a Population-Based Registry in Rhineland-Palatinate, Germany. *Neuroepidemiology* [Internet]. 2015;44(3):149–55. Available from:
<https://www.karger.com/DOI/10.1159/000381625>
235. Knibb JA, Keren N, Kulka A, Leigh PN, Martin S, Shaw CE, et al. A clinical tool for predicting survival in ALS. *J Neurol Neurosurg & Psychiatry* [Internet]. 2016 Dec 1;87(12):1361 LP – 1367. Available from:
<http://jnnp.bmj.com/content/87/12/1361.abstract>
236. Reniers W, Schrooten M, Claeys KG, Tilkin P, D'Hondt A, Van Reijen D, et al. Prognostic value of clinical and electrodiagnostic parameters at time of diagnosis in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener* [Internet]. 2017 Jul 3;18(5–6):341–50. Available from: <https://doi.org/10.1080/21678421.2017.1288254>
237. Gomeni R, Fava M. Amyotrophic lateral sclerosis disease progression model. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener* [Internet]. 2014 Mar 1;15(1–2):119–29. Available from:
<https://doi.org/10.3109/21678421.2013.838970>
238. Taylor AA, Fournier C, Polak M, Wang L, Zach N, Keymer M, et al. Predicting disease progression in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Clin Transl Neurol* [Internet]. 2016 Nov 1;3(11):866–75. Available from:
<https://doi.org/10.1002/acn3.348>
239. Hothorn T, Jung HH. RandomForest4Life: A Random Forest for predicting ALS disease progression. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener* [Internet]. 2014 Sep 1;15(5–6):444–52. Available from:
<https://doi.org/10.3109/21678421.2014.893361>
240. Ko KD, El-Ghazawi T, Kim D, Morizono H. Predicting the severity of motor neuron disease progression using electronic health record data with a cloud computing Big Data approach. In: 2014 IEEE Conference on Computational Intelligence in Bioinformatics and Computational Biology. 2014. p. 1–6.
241. Beaulieu-Jones BK, Greene CS. Semi-supervised learning of the electronic health record for phenotype stratification. *J Biomed Inform* [Internet]. 2016;64:168–78. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S153204641630140X>
242. Huang Z, Zhang H, Boss J, Goutman SA, Mukherjee B, Dinov ID, et al. Complete hazard ranking to analyze right-censored data: An ALS survival

- study. *PLOS Comput Biol* [Internet]. 2017 Dec 18;13(12):e1005887. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005887>
243. Jahandideh S, Taylor AA, Beaulieu D, Keymer M, Meng L, Bian A, et al. Longitudinal modeling to predict vital capacity in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener* [Internet]. 2018 Apr 3;19(3–4):294–302. Available from: <https://doi.org/10.1080/21678421.2017.1418003>
244. Ong M-L, Tan PF, Holbrook JD. Predicting functional decline and survival in amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One* [Internet]. 2017 Apr 13;12(4):e0174925. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174925>
245. Seibold H, Zeileis A, Hothorn T. Individual treatment effect prediction for amyotrophic lateral sclerosis patients. *Stat Methods Med Res* [Internet]. 2017 Feb 21;27(10):3104–25. Available from: <https://doi.org/10.1177/0962280217693034>
246. Agosta F, Spinelli EG, Riva N, Fontana A, Basaia S, Canu E, et al. Survival prediction models in motor neuron disease. *Eur J Neurol* [Internet]. 2019 Sep 1;26(9):1143–52. Available from: <https://doi.org/10.1111/ene.13957>
247. Poesen K, Van Damme P. Diagnostic and Prognostic Performance of Neurofilaments in ALS [Internet]. Vol. 9, *Frontiers in Neurology* . 2019. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2018.01167>
248. Iwata NK, Kwan JY, Danielian LE, Butman JA, Tovar-Moll F, Bayat E, et al. White matter alterations differ in primary lateral sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis. *Brain* [Internet]. 2011 Sep 1 [cited 2018 Apr 22];134(Pt 9):2642–55. Available from: <https://academic.oup.com/brain/article-lookup/doi/10.1093/brain/awr178>
249. Woo JH, Wang S, Melhem ER, Gee JC, Cucchiara A, McCluskey L, et al. Linear Associations between Clinically Assessed Upper Motor Neuron Disease and Diffusion Tensor Imaging Metrics in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *PLoS One* [Internet]. 2014 Aug 21;9(8):e105753. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105753>
250. Nitert AD, Tan HHG, Walhout R, Knijnenburg NL, van Es MA, Veldink JH, et al. Sensitivity of brain MRI and neurological examination for detection of upper motor neurone degeneration in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg & Psychiatry* [Internet]. 2022 Jan 1;93(1):1 LP – 11. Available from: <http://jnnp.bmj.com/content/93/1/1.1.abstract>
251. Ganeshan D, Duong P-AT, Probyn L, Lenchik L, McArthur TA, Retrouvey M,

- et al. Structured Reporting in Radiology. *Acad Radiol* [Internet]. 2018 Jan 1;25(1):66–73. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.acra.2017.08.005>
252. Schwartz LH, Panicek DM, Berk AR, Li Y, Hricak H. Improving Communication of Diagnostic Radiology Findings through Structured Reporting. *Radiology* [Internet]. 2011 Jul 1;260(1):174–81. Available from: <https://doi.org/10.1148/radiol.11101913>
253. Kahn Jr CE, Heilbrun ME, Applegate KE. From Guidelines to Practice: How Reporting Templates Promote the Use of Radiology Practice Guidelines. *J Am Coll Radiol* [Internet]. 2013 Apr 1;10(4):268–73. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jacr.2012.09.025>
254. Martí-Bonmatí L. Evidence levels in radiology: the insights into imaging approach. *Insights Imaging* [Internet]. 2021;12(1):45. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13244-021-00995-7>