

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús estableties per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



Tesis doctoral presentada por

**Yanisleydis Hernández Villegas**

**Desarrollo de Técnicas de Control de Calidad  
Automatizado para la Mejora de la Clasificación de  
Tumores Cerebrales a partir de sus Espectros de  
Resonancia Magnética Usando Convex NMF**

**Directores**

Dr. M<sup>a</sup>. Margarita Julià Sapé, Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER) y

Universitat Autònoma de Barcelona (UAB)

Dr. Alfredo Vellido Alcacena, Universidad Politécnica de Cataluña (UPC) y

Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER)

Programa de Doctorado en Bioquímica, Biología Molecular y Biomedicina

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

20 de Agosto de 2021

Memoria presentada por la Sra. Yanisleydis Hernández Villegas, para optar al Doctorado en Bioquímica, Biología Molecular y Biomedicina de la Universidad Autónoma de Barcelona.

El trabajo se ha realizado en el Instituto de Biotecnología y Biomedicina (IBB), en el Grupo de Aplicaciones Biomédicas de la Resonancia Magnética Nuclear (GABRMN) y en calidad de becaria predoctoral de la AGAUR-FI-2017, supervisada por los Dres. M<sup>a</sup>. Margarita Julià Sapé y Alfredo Vellido Alcacena.

Firma de los directores

---

Dr. M<sup>a</sup>. Margarita Julià Sapé

---

Dr. Alfredo Vellido Alcacena

Firma del autor de la Tesis de Doctorado

---

Yanisleydis Hernández Villegas

Cerdanyola del Vallès 20 de Agosto 2021

## Dedicatoria

A mi hija,

«Nada en la vida es para ser temido, es sólo para ser comprendido. Ahora es el momento de entender más, de modo que podamos temer menos» **Marie Curie**

## Agradecimientos

Quiero agradecer al Grupo de Aplicaciones Biomédicas para la Resonancia Magnética (GABRMN) por su acogida desde hace 6 años. A Carles por su apoyo incondicional y sabiduría. Ana Paula, Pilar, Sandra, otros miembros del grupo y colaboradores por el tiempo y por compartir sus conocimientos.

A mis directores Marga y Alfredo, por la paciencia, por llevarme de la mano en muchas ocasiones. Porque a pesar de que el camino no ha sido fácil, lo han hecho más llevadero, siempre desde el profesionalismo y el rigor científico.

A mis padres, que han estado ahí sin condiciones, por confiar y creer en mí.

Agradecer a mis amigos y familiares que han puesto su granito de arena y emocionalmente me han supuesto un soporte para seguir adelante.

Y no por ser los últimos son los menos importantes, al contrario, a mi hija, Yeni Yilian y mi esposo, Adrian, que sin ellos no hubiese sido posible llegar hasta aquí. Que soportaron mis días de alegría, así como los días que me pensaba rendir, o aquellos días en los que no tenía tiempo para compartir con ellos. Porque supieron estar más que a la altura durante estos años.

A todos, gracias

## **Abstract**

Currently, 9.6 million people die annually from cancer in the world, of which 2.5% correspond to deaths from brain or central nervous system tumors. The fact that brain tumors do not show symptoms in the early stages often leads to cancer detection at an advanced stage. Lack of diagnosis and treatment are common problems that result in increased mortality. That is why the development of non-invasive diagnostic methods is of great importance.

Magnetic resonance spectroscopy (MRS) is a non-invasive technique that offers us important biochemical information of tissues and that can be used for the preoperative or follow-up assessment of brain tumors. Unfortunately, the presence of artifacts in spectral information can lead to incorrect interpretation and classification of brain tumors based on the MRS data.

This thesis presents the development of a pipeline for the control of the quality of spectral patterns extracted from two large databases of more than 2,000 spectra of brain tumors, INTERPRET and eTUMOUR, using an unsupervised methodology (Convex Nonnegative Matrix Factorization, CNMF). The quality of the signal sources extracted with CNMF is evaluated, both quantitatively and through expert spectroscopists to check for the presence or not of artifacts in the analyzed databases. The presence of numerous artifacts in such data, for example poor water suppression, noise, or spurious echoes, among others, suggested the potential of filtering these artifacts and reconstructing individually each of the spectra of the databases using the same CNMF method. This integrated approach includes visual assessment and the use of supervised pattern recognition programs (SpectraClassifier and INTERPRET) to validate the reconstructions.

## Resumen

Actualmente mueren anualmente 9,6 millones de personas por cáncer en el mundo, de los cuales un 2,5% corresponden a muertes por tumores cerebrales o del sistema nervioso central. El hecho de que los tumores cerebrales no muestren síntomas en las fases iniciales lleva a menudo a que la detección del cáncer se realice en una fase avanzada. La falta de diagnóstico y tratamiento son problemas frecuentes que redundan en el aumento de la mortalidad. Es por ello que el desarrollo de métodos de diagnóstico no invasivos es de gran importancia.

La espectroscopia de resonancia magnética (ERM) es una técnica no invasiva que nos ofrece importante información bioquímica de los tejidos y que puede ser usada para la evaluación diagnóstica o pronóstica de tumores cerebrales. Desafortunadamente, la presencia de artefactos en la informaciónpectral puede conllevar la incorrecta interpretación y clasificación de los tumores cerebrales.

En esta tesis se presenta una descripción general de un sistema de control de calidad espectral de los patrones extraídos de dos grandes bases de datos, INTERPRET y eTUMOUR, con un total de unos 2,000 espectros de tumores cerebrales, utilizando métodos no supervisados de factorización de matrices concretamente el método *Convex Nonnegative Matrix Factorization* (CNMF). Se evalúa, tanto cuantitativamente como con la ayuda de expertos espectroscopistas, la calidad de las fuentes de señal extraídas mediante CNMF para comprobar la presencia o no de artefactos en las bases de datos analizadas. La presencia de numerosos artefactos en tales datos, entre los cuales se pueden enumerar la mala supresión de agua, el ruido, o la presencia de ecos espurios, sugirió la posibilidad de filtrar los artefactos y reconstruir individualmente cada uno de los espectros de las bases de datos utilizando el mismo método de CNMF. Para validar la reconstrucción, se realizó una evaluación visual, así como programas de reconocimiento de patrones por métodos supervisados (*SpectraClassifier* e INTERPRET) para validar dichas reconstrucciones.

## Acrónimos

**AS:** Aprendizaje supervisado

**ANS:** Aprendizaje no supervisado

**BC:** Buena calidad

**CC:** Coeficientes de codificación

**CCA:** Control de calidad automatizado.

**CNMF:** *Convex non-negative matrix factorization*

**Co:** Colina

**Cr:** Creatina

**DE (+/-):** Desviación estándar (más / menos)

**ERM:** Espectroscopía de resonancia magnética

**FID:** *Free induction decay*

**ICA:** *Independent component analysis*

**IERM:** Imagen ERM

**INTERPRET:** *International Network for Pattern Recognition of Tumors Using Magnetic Resonance*

**kNN:** *k-Nearst Neighbor*

**Lac:** Lactato

**Lip:** Lípidos

**NAA:** N-acetil aspartato

**NMF:** *Non-negative matrix factorization*

**ns:** no significativo

**ml:** Myo-inositol

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**PCA:** *Principal component analysis*

**ppm:** Partes por millón

**PRESS:** *Point-resolved spectroscopy*

**RF:** *Random forest*

**RNC:** Red neuronal convolucional

**ROC:** *receiver operating characteristic*

**RP:** Reconocimiento de patrones

**RSR:** Relación señal ruido

**SC:** *SpectraClassifier*

**scV:** *SpectraClassifier\_Visualizer*

**SFC:** Separación de fuente ciega

**STEAM:** *Stimulated echo acquisition mode*

**SV:** *Single voxel*

**TEC:** Tiempo de eco corto

**TEL:** Tiempo de eco largo

**ua:** Unidades arbitrarias

**VOI:** *Volume of interest*

## Glosario

**Aggressive:** Agresivo

**Arbitrary units:** unidades arbitrarias

**Borderline:** Límite

**Boxplot:** Diagrama de caja y bigote

**Clustering:** Agrupamiento

**Dataset:** Conjunto de datos

**Deep learning:** Aprendizaje profundo

**Free induction decay:** Decaimiento por inducción libre

**Ghost artifact:** Artefacto fantasma

**Independent component analysis:** Análisis de componentes independientes

**k- means:** k- medias

**Linear Discriminant analysis:** Análisis de discriminante lineal

**Line shape:** Forma de línea

**Linewidth:** Ancho de línea

**Low grade:** Bajo grado

**Non-negative matrix factorization:** Factorización de matrices no-negativas

**Machine learning:** Aprendizaje automático

**Off-resonance:** Pulsos fuera de resonancia

**Outlier:** Valor atípico

**Phasing:** Ajuste de fase

**Resonance frequency:** Frecuencia de la resonancia

**Sequential forward:** secuencial hacia adelante

**Single voxel:** Vóxel único

**Singular value decomposition:** Descomposición en valores singulares

**Vertex component analysis:** Análisis de componentes de vértices

**Windowing and Filtering:** Ventanas y filtrado

**Zerofilling:** Relleno con ceros de una matriz

# Índice

<b>Resumen</b> .....	6
<b>Acrónimos</b> .....	7
<b>Glosario</b> .....	9
<b>Estructura de la tesis</b> .....	13
<b>1. Introducción</b> .....	14
1.1 Epidemiología.....	14
1.2 Tumores cerebrales.....	15
1.2.1 Síntomas. Medios diagnósticos.....	16
1.3 Imagen de resonancia magnética (IRM) .....	17
1.4 Espectroscopía de resonancia magnética de tumores cerebrales .....	18
1.4.1 Adquisición de ERM .....	19
1.4.2 Procesamiento de los ERM. ....	20
1.4.3 Metabolitos y Tipos de espectros de tumores cerebrales .....	22
1.4.4 Artefactos .....	26
1.5 <i>Machine Learning</i> .....	29
1.5.1 Aprendizaje Supervisado.....	30
1.5.1.1 <i>Linear discriminant analysis</i> (LDA) o análisis discriminante lineal .....	30
1.5.1.2 <i>Support vector machine</i> (SVM) o máquina de soporte vectorial .....	31
1.5.1.3 Otros Algoritmos de AS .....	31
1.5.2 Aprendizaje no supervisado.....	32
1.5.2.1 PCA .....	33
1.5.2.2 ICA.....	34
1.5.2.3 NMF .....	35
1.5.3 Otros enfoques.....	36
1.6 Software para el reconocimiento de patrones en espectroscopía .....	36
1.7 Control de calidad .....	37
<b>Capítulo 2.</b> .....	39
2.1 Introducción .....	40
2.2 Materiales y Métodos .....	43
2.2.1 Adquisición y procesamiento de datos.....	43

2.2.2 Diseño experimental .....	45
2.2.3 Evaluación .....	48
2.3 Resultados .....	49
2.4 Discusión.....	66
<b>Capítulo 3.</b> .....	<b>74</b>
3.1 Introducción .....	74
3.2 Materiales y métodos .....	78
3.2.1 Diseño del estudio .....	78
3.2.2 Filtrado de las fuentes artefactuales.....	81
3.2.3 Evaluación .....	82
3.3 Resultados .....	84
3.3.1. Resultados de la evaluación visual en el subconjunto de diez casos.....	85
3.3.2. Resultados de la evaluación de los histogramas del residuo.....	90
3.3.3. Resultados de la evaluación de las correlaciones con los promedios de las distintas clases.....	90
3.3.4. Resultados de la clasificación de las matrices como grupo de test del clasificador INTERPRET .....	92
3.3.5. La reconstrucción de los meningiomas.....	96
3.4 Discusión.....	99
<b>4. Conclusiones .....</b>	<b>103</b>
<b>Referencias .....</b>	<b>104</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>111</b>
Anexos Capítulo 2 .....	111
Anexos Capítulo 3 .....	120

## **Estructura de la tesis**

Esta tesis está compuesta por:

- Un primer capítulo introductorio que recoge los conceptos principales referentes a tumores cerebrales, espectroscopía de resonancia magnética (ERM), los tipos de artefactos que se pueden encontrar en los ERM y métodos de control de calidad.
- Un segundo capítulo en el que se describe el trabajo experimental realizado para la detección y categorización de fuentes en datos de ERM de tumores cerebrales, mediante un método no supervisado, a partir de un conjunto de datos multicéntricos de referencia, y su discusión.
- El tercer capítulo describe el desarrollo de un método de filtrado de artefactos y reconstrucción de las señales ERM de la misma base de datos, así como la evaluación del mismo y su discusión.
- Por último, en el cuarto capítulo, se recogen brevemente las conclusiones de los resultados obtenidos en los capítulos dos y tres.

## 1. Introducción

El cáncer comprende un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo. Se manifiesta como transformación de células normales en células tumorales; estas células anormales se multiplican rápidamente y se pueden extender más allá de límites anatómicos localizados, propagándose a otros órganos, en un proceso denominado metástasis.

### 1.1 Epidemiología

El cáncer es, hoy en día, la segunda causa de muerte en el mundo. El número de muertes por tumores cerebrales o del sistema nervioso central reportado en 2018 según la Organización Mundial de la Salud (OMS) es de 241,031 personas de ambos sexos y todas las edades, un 2,5 % del total de fallecimientos atribuibles al cáncer (Ver Figura 1)

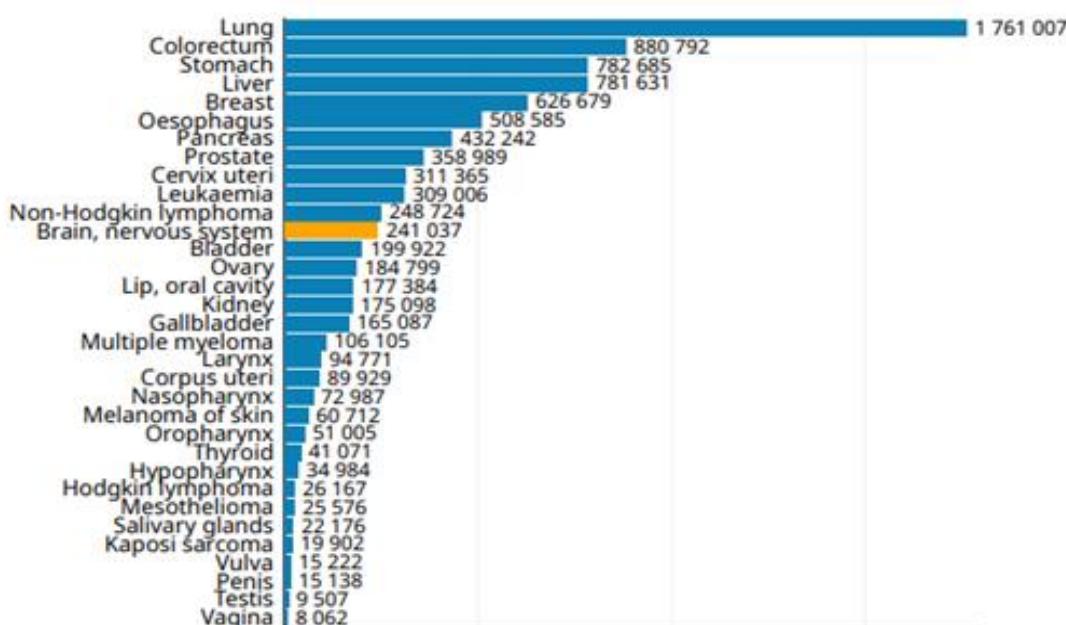


Figura 1. Número de muertes por cáncer en 2018, incluyendo ambos sexos y todas las edades, según GLOBOCAN 2018 [1].

Obsérvese asimismo en la Figura 2 cómo los tumores cerebrales y del sistema nervioso tienen una mayor incidencia y mortalidad en los países desarrollados, en especial en los europeos, lo cual es atribuible al menos parcialmente a que son países con un mejor sistema de detección con respecto a los países en desarrollo con sistemas de salud menos desarrollados.

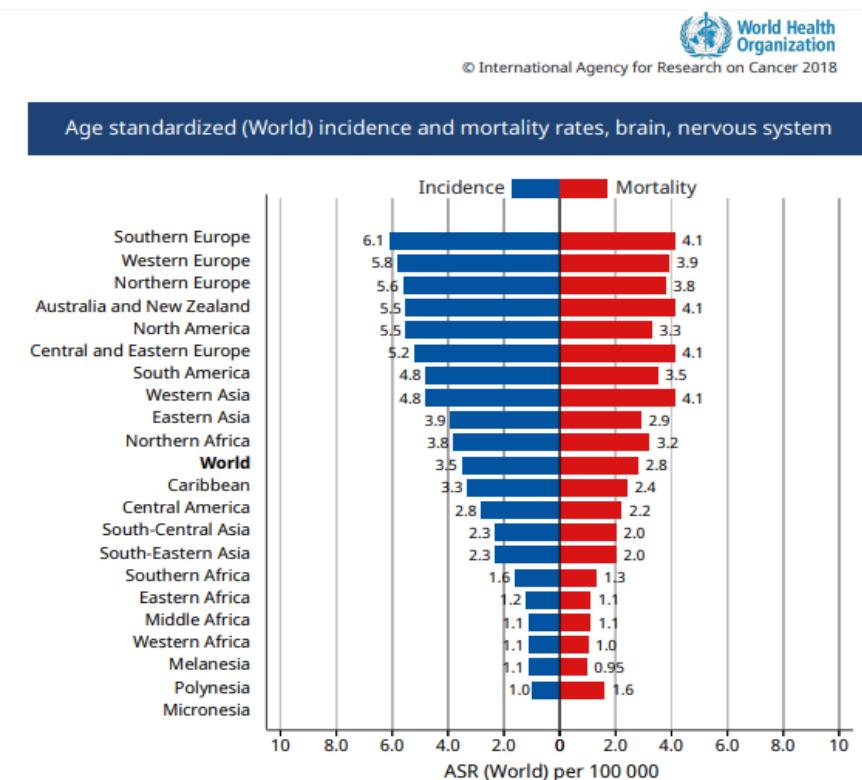


Figura 2. Incidencia de los tumores cerebrales y del sistema nervioso (azul) y mortalidad (rojo) en todas las regiones del mundo [2].

## 1.2 Tumores cerebrales

En general, denominamos tumor cerebral a la presencia de una masa anómala que crece dentro del cerebro. Los tumores cerebrales que se originan en el propio cerebro se denominan primarios y los más frecuentes son el meningioma y el glioblastoma [3], [4]. Los tumores cerebrales denominados secundarios, es decir, los metastásicos, son aquellos tumores que se originan en otra parte del organismo, como por ejemplo el pulmón, la mama, u otra localización y que, en algún momento de su evolución, se extienden al cerebro.

Los tumores cerebrales primarios se clasifican en cuatro grados según la OMS: Se consideran de “bajo grado” aquellos de *grado I* (bajo potencial proliferativo, naturaleza difusa y posible cura mediante resección quirúrgica, por ejemplo, astrocitomas pilocíticos) y *grado II* (infiltrantes con bajo índice mitótico, pero con potencial de recidiva, por ejemplo, oligodendrogliomas). Se consideran como “alto grado” aquellos de *grado III* (evidencia histológica de malignidad, generalmente en forma de actividad mitótica, clara expresión de capacidad infiltrativa y anaplasia) y *grado IV* (elevada actividad mitótica y necrosis, por ejemplo, los glioblastomas) [5]. Esta clasificación permite establecer un pronóstico en cuanto a mortalidad teniendo, en general, los de *grado I* mayor probabilidad de supervivencia y los de *grado IV*, menor probabilidad [5].

Los tumores se pueden clasificar también según el tipo de células por las que están compuestos; por ejemplo: Los tumores de ascendencia glial están formados por células gliales (astrocitos, oligodendrocitos y ependimocitos). Cada uno de estos tipos celulares puede dar origen a tumores como los astrocitomas, oligodendrogliomas, oligoastrocitomas y glioblastomas, siendo estos últimos de crecimiento rápido y unos de los más invasivos. Los meningiomas son tumores originados en las meninges, a partir de células aracnoideas [4]; la mayoría son benignos, no infiltrativos y de lento crecimiento.

### **1.2.1 Síntomas. Medios diagnósticos**

Los tumores cerebrales, en sus inicios, no presentan síntomas. Estos sólo aparecen más tarde debido al efecto masa, es decir, a la compresión de las estructuras cerebrales causada por el crecimiento del tumor [4]. Los síntomas provocados por los tumores cerebrales pueden ser variados e incluir: crisis epilépticas (convulsiones), falta de concentración, lentitud de pensamiento, cambios de carácter, dolor de cabeza, vómitos o alteraciones en los movimientos o del lenguaje, entre otros.

La biopsia es una intervención quirúrgica invasiva. Es la única prueba que permite llevar a cabo el análisis de una muestra del tumor para confirmar con seguridad el diagnóstico definitivo, identificando el tipo de tumor y grado de malignidad [6]. No obstante, en la mayoría de los casos el diagnóstico histopatológico se realiza tras la resección quirúrgica del tumor, ya que la biopsia estereotáctica no está exenta de riesgo [7]. Es por tanto pertinente y necesario realizar un estudio de imagen, con el propósito de caracterizar la localización, tamaño y áreas anatómicas afectadas, entre otras características del tumor. La imagen de resonancia magnética (IRM) es la técnica estándar utilizada para este fin.

### **1.3 Imagen de resonancia magnética (IRM)**

En la IRM, una muestra del cuerpo es sometida a un campo magnético ( $\beta_0$ ) al cual se le aplica un pulso de radiofrecuencia, a la conocida como frecuencia de Larmor o de resonancia ( $\omega_0$ , ecuación 1), que obliga a los protones a alinearse con dicho campo.

$$\omega_0 = \gamma\beta_0, \quad (1)$$

donde  $\gamma$  es la constante específica del núcleo o la constante giromagnética. Los protones de la muestra se estimulan y giran fuera de equilibrio, luchando contra el campo magnético. Cuando se detiene el envío de estos pulsos de radiofrecuencia, los sensores de IRM son capaces de captar el exceso de energía liberada mediante diversos procesos de relajación. Esta liberación energética induce una señal eléctrica en una antena receptora con la que se puede obtener una imagen (IRM, ver Figura 3).

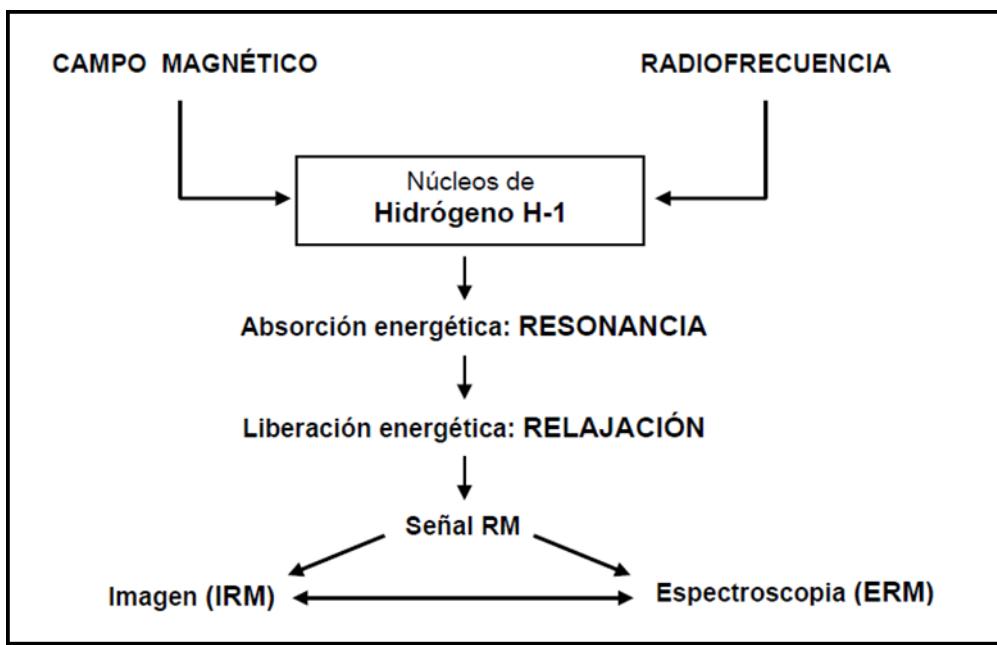


Figura 3. Esquema de la resonancia magnética [2].

#### 1.4 Espectroscopía de resonancia magnética de tumores cerebrales

La ERM constituye un estudio complementario a la información anatómica obtenida de la IRM. La ERM de protones ( $^1\text{H}$ -ERM) en particular permite la identificación y cuantificación de metabolitos presentes en el tejido cerebral analizado, tales como el N-acetil aspartato (NAA), la creatina (Cr), la colina (Co), o los lípidos (Lip), entre muchos otros, y se puede utilizar para caracterizar los cambios metabólicos tumorales [8].

En la ERM, los protones de diferentes moléculas resuenan en frecuencias ligeramente distintas y específicas, lo que también se conoce como desplazamiento químico [9]. La frecuencia de la señal que se detecta en la ERM es proporcional al campo magnético aplicado al núcleo y al entorno electrónico, lo cual determina la posición del metabolito en el espectro. El desplazamiento químico ( $\delta$ , ecuación 2) se encuentra en el rango de decenas a centenares de Hertzios (Hz), mientras que las frecuencias de resonancia se encuentran en el rango de MHz. El valor del desplazamiento químico es bastante bajo, por lo que suele multiplicarse por  $10^6$  y expresarse en partes por millón (ppm) y se calcula:

$$\delta = \frac{V_S - V_R}{V_R} \times 10^6 \quad (2)$$

Donde  $V_S$  es la frecuencia de resonancia del núcleo de interés, la cual se expresa en Hz, y  $V_R$  es la frecuencia del núcleo elegido como referencia, el cual en los datos analizados en nuestra tesis es el núcleo de hidrógeno:  $^1\text{H}$ .

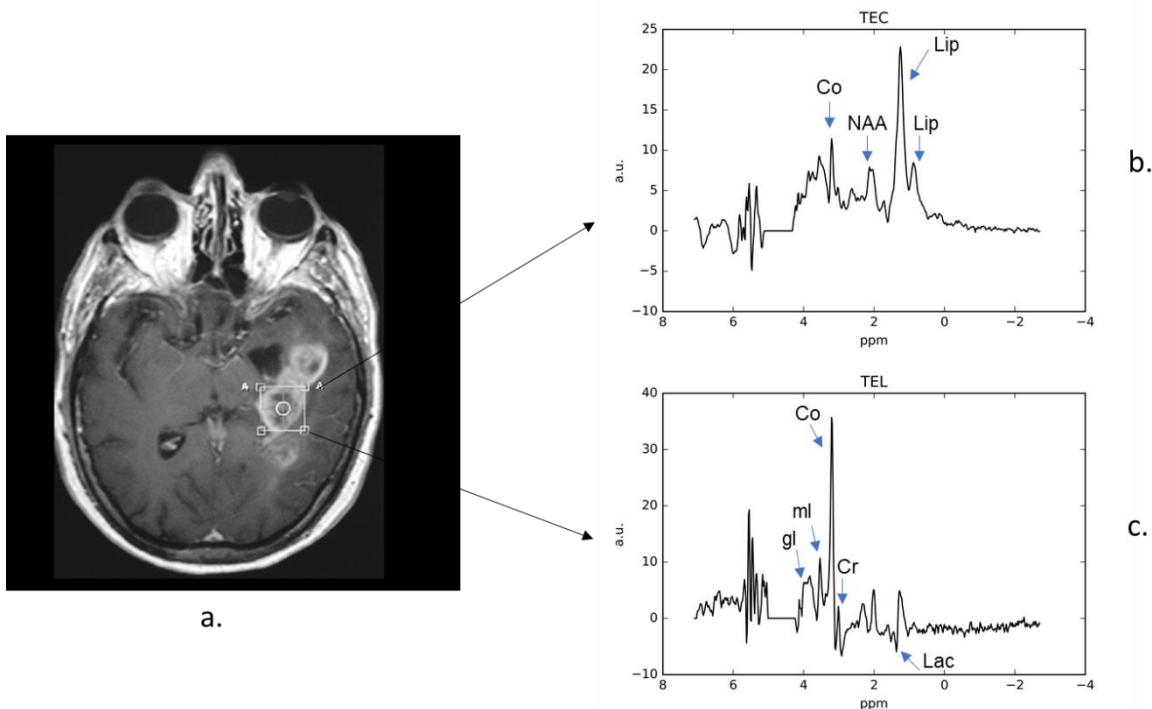
#### 1.4.1 Adquisición de ERM

La adquisición de los espectros de RM generalmente comienza con imágenes anatómicas, seleccionando un volumen de interés (VOI o voxel). Este proceso se repite un número de veces determinado y el resultado final será el promedio de la señal obtenida con todos los pulsos. La señal obtenida está en el dominio del tiempo, y se denomina FID (*free induction decay*). Los espectros de ERM se obtienen llevando la señal al dominio de la frecuencia mediante la función matemática de la transformación de Fourier [10].

Los espectros pueden ser adquiridos utilizando un solo voxel o múltiples voxels y se pueden variar diferentes parámetros para optimizar la adquisición de datos ERM, los cuales determinan la información que se puede extraer del espectro [11].

Uno de los parámetros más relevantes es el tiempo de eco (TE). El TE es esencialmente un tiempo de intervalo entre el final de la excitación de la muestra con el pulso de radiofrecuencia y el inicio de la adquisición de datos de ERM. Estos tiempos de eco generalmente oscilan en el rango 18-288ms en ERM *in vivo*. De acuerdo a ello, los espectros podemos dividirlos de manera general en tiempo de eco corto (TEC, 18-45ms) y tiempo de eco largo (TEL, 120-288ms) [12]. Los espectros a TEL del cerebro pueden inducir que el valor de la intensidad sea negativo en algunos metabolitos como los dobletes de alanina y lactato. En algunos casos las señales de resonancia de un núcleo pueden aparecer desdoblados, debido al acoplamiento spin-spin, efecto que se origina debido a la influencia del campo magnético vecino sobre el aplicado externamente). En contraposición, en el patrón espectral de los tumores obtenidos a TEC, los picos son siempre positivos (Ver Figura 4). En función del TE al que es adquirido el espectro, se

detectarán metabolitos determinados, como por el ejemplo: el mioinositol, ciertos lípidos, glutamina o glutamato aparecerán sólo a TEC.



*Figura 4. a. Imagen de RM de un glioblastoma: caso I0359 de la base de datos INTERPRET [13] b. Espectro SV a TEC (30 ms). c. Espectro SV a TEL (136 ms). Co, colina; NAA, n-acetil aspartato; Lip, lípidos; Cr, creatina; ml, mioinositol; gl, glicina; Lac, lactato.*

En un espectro genérico, la frecuencia se expresa en *Hz*, pero una forma más frecuente de expresarlo en ERM es en unidades de desplazamiento químico en partes por millón (ppm), en el eje de abscisas. En el eje de ordenadas, se registra la intensidad a la que resuenan los metabolitos; en el caso de los espectros que estamos utilizando se expresa en unidades arbitrarias (*ua*), dado que los datos se han normalizado a *unit length*. El área bajo la curva de señalpectral es proporcional, entre otros factores, al número de protones de cada metabolito y representa una medida relativa de su concentración.

#### 1.4.2 Procesamiento de los ERM.

Tras la adquisición de la señal, se realiza un procesado de los datos para mejorar características como: la forma de línea (Lorentziana, Gausiana, Voigt [14]), la frecuencia de resonancia, el ancho de línea y la fase, procedimientos que se describen en [14].

Este procesamiento se puede realizar tanto en el dominio del tiempo como en el dominio de la frecuencia.

A continuación, se detallan brevemente los procedimientos más importantes:

*Transformada de Fourier* (TF) (ver ecuación 3): es un método matemático de transformación lineal que convierte una señal de RM (FID o *free induction decay*,  $f(t)$ ) del dominio del tiempo al dominio de la frecuencia ( $F(\omega)$ ), descomponiendo la FID en una suma de ondas sinusoidales de diferentes frecuencias, fases y amplitudes, conocida como Lorentziana [15].

$$F(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t)e^{-i\omega t} dt \quad (3)$$

*Corrección de corrientes parásitas o Eddy currents*: Se realizan correcciones de artefactos como son las corrientes parásitas causadas por los cambios rápidos de gradientes de los campos magnéticos, utilizando una señal como referencia (por ejemplo la del espectro sin supresión de agua) [9], [14], [16], [17].

*La señal del agua* está presente en los tejidos a concentraciones 10.000 veces más altas que los metabolitos de interés (como NAA, Co, Cr). Debido a que la homogeneidad del campo no es perfecta, también genera una significativa cantidad de agua residual. Cuando solo se analiza la región espectral de 1,0-4,2ppm, la presencia de señal del agua no requiere consideración siempre que no distorsione la línea de base. Sin embargo, en el momento que hay distorsión de la línea de base, o en el algoritmo de ajuste, está incluido todo el espectro de 0-7ppm, y el valor residual del agua debe eliminarse [18]. Para ello, se utilizan técnicas de descomposición de valores singulares como por ejemplo *Hankel-Lanczos Singular Value Decomposition* (HLSVD) [19].

*Ajuste de fase*: debido a los movimientos macroscópicos, se pueden producir cambios de fase de orden cero, por lo que el ajuste de fase se utiliza para corregir la distorsión en la forma del pico de la resonancia. Se adiciona una fase constante a cada punto en

el espectro (fase de orden cero), o se agrega un cambio de fase lineal en función de la frecuencia (fase de primer orden), hasta que el espectro aparece en fase [17].

*Corrección de la línea de base:* Las líneas de resonancia de RMN obtenidas *in vivo* generalmente quedan distorsionadas debido a las corrientes parásitas, la falta de homogeneidad del campo magnético y a la mala supresión de agua, por lo que también es necesaria su corrección [9] [14] [17]. Las distorsiones de la forma de línea producidas por la falta de homogeneidad del campo se pueden eliminar dividiendo la FID entre la señal de agua envolvente una técnica conocida como *Quality* (mejora de la cuantificación convirtiendo la forma de línea a Lorentziana) [18]. Casi todos los paquetes de software para el procesamiento de espectros de RM tienen incorporadas las correcciones de fase y de línea de base [20].

*Windowing and filtering:* se multiplica la señal obtenida en el dominio del tiempo sin procesar, por una función Lorentziana (ecuación 3) con el objetivo de reducir el ruido o eliminar artefactos como el truncamiento, entre otros [9] [14].

*Zerofilling:* en resumen, es la extensión del número de puntos en el dominio del tiempo con puntos de amplitud cero, con el objetivo de tener una buena resolución digital, para mejorar la visualización de los espectros. Una explicación más detallada puede encontrarse en [9] [14].

#### **1.4.3 Metabolitos y Tipos de espectros de tumores cerebrales**

Los metabolitos en el tejido cerebral resuenan a frecuencias diferentes, lo que nos permite diferenciar los ERM de tumores cerebrales entre sí, clasificarlos por tipo de tumor y determinar el grado de malignidad, en base a asumir que diferentes tipos de tumor (o diferentes tipos de tejidos dentro de un mismo tumor) tienen un diferente y diferenciable perfil metabólico. En lo que sigue, se describen en detalle algunos de estos metabolitos, de particular relevancia.

El **n-acetilaspartato** (NAA) resuena a 2,02 ppm [8] y es la señal más intensa que se observa en la ERM del parénquima sano. Es considerado un marcador de viabilidad neuronal. El NAA disminuye en enfermedades que presentan pérdidas de neuronas o axones, como es el caso de tumores cerebrales o enfermedades neurodegenerativas.

La **creatina** (Cr) resuena a 3,0 ppm (creatina + fosfocreatina) y también presenta una segunda resonancia a 3,90 ppm. Es muy importante en el metabolismo energético del cerebro y su intensidad disminuye en tumores cerebrales con respecto al tejido normal. Es la resonancia que menos varia en el cerebro [8].

Los compuestos correspondientes a la **colina** (Co) se observan a 3,23 ppm y se trata en realidad de una combinación de compuestos que contienen colina, como son colina libre, fosforilcolina, glicerofosforilcolina, los cuales participan en el metabolismo fosfolipídico. El pico de Co es considerado como el principal marcador de malignidad y proliferación de un tumor [8].

Los **lípidos** (Lip) resuenan a 0,9 y 1,3 ppm, entre otras frecuencias, y originan resonancias relativamente anchas (en un rango de frecuencia amplio) que son debidas a los grupos metil y metíleno, respectivamente, de la cadena de ácidos grasos [21]. Se relacionan con la presencia de necrosis (metabolismo anaeróbico) y son un hallazgo frecuente en espectros de tumores de alto grado (por ejemplo, *grado IV*).

La **alanina** (Al) es un doblete centrado en 1,47 ppm y es un aminoácido de los denominados *no esenciales*. El doblete se solapa (comparte parcialmente rango de frecuencia) con el pico del lactato y el de los lípidos. Ha sido detectado un aumento del mismo en algunos meningiomas [21].

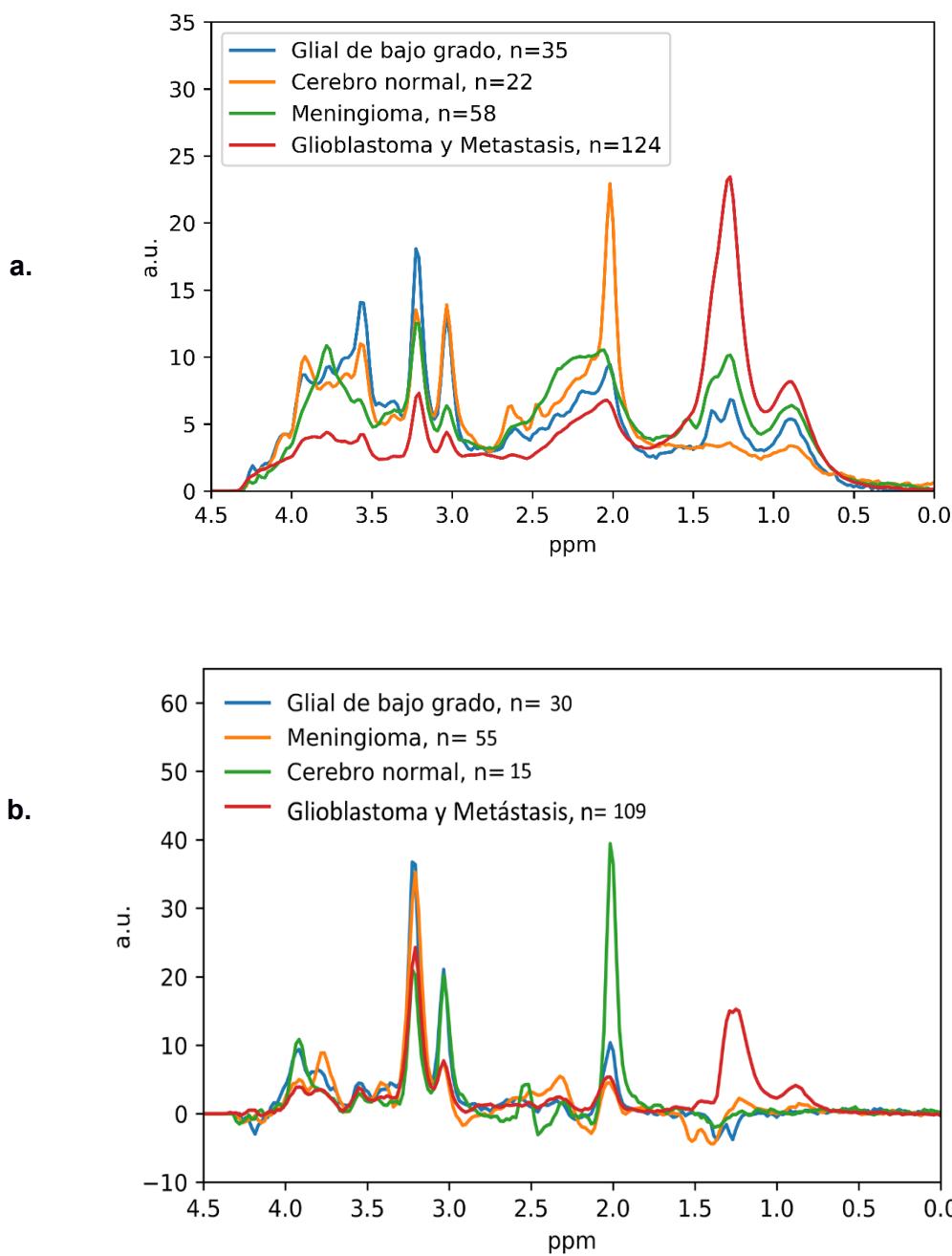
El **lactato** (Lac) se encuentra a 1,35 ppm, y en condiciones normales no se detecta, debido a que su concentración en cerebro adulto normal es baja. Su presencia indica que la respiración oxidativa normal está alterada y que los carbohidratos están siendo catabolizados por vía anaeróbica [21]. Aumenta en lesiones de alto grado.

El **myo-inositol** (ml) resuena principalmente a 3,55 ppm; es un azúcar que forma parte de un tipo de lípidos, fosfatidilinositol [22] y es considerado como un marcador glial. La señal de *ml* aumenta en tumores gliales de alto grado [21] y en inflamación.

La **glicina** resuena a 3,56 ppm y su señal se superpone a la del *ml*, por lo que es conveniente realizar una adquisición a TEL (135-140 ms) para poder diferenciarlos [23], ya que a TEL la señal del *ml* queda atenuada.

### **Diferencias genéricas en el patrón espectral con respecto a un estado patológico**

En el cerebro normal, los compuestos Cr y Co son aproximadamente un tercio de la altura de área de NAA y la intensidad del pico de Co es aproximadamente la misma que el de Cr. En los diferentes estados de los tumores cerebrales, las proporciones de Co, Cr y NAA varían, como se observa en la Figura 5. La disminución de Cr y el aumento de Co se ve asociada a la existencia de un tumor cerebral. Debido a que la intensidad de resonancia de Cr es relativamente constante en todo el tejido cerebral normal, dicho pico se utiliza como el metabolito patrón contra el que se pueden comparar los cambios que ocurran en el resto de la actividad metabólica. En los gliomas de bajo grado (Astrocitomas, Oligodendrogliomas y Oligoastrocitomas) la intensidad de Co es mayor que la de Cr y disminuye considerablemente la intensidad de NAA con respecto a un cerebro normal, además de poderse observar una elevación del pico de *ml*. El patrón espectral de los gliomas de alto grado (glioblastoma y metástasis) muestra resonancias intensas en los Lip (0,9/1,28 ppm) y picos invertidos de Lac a TEL. Los meningiomas se caracterizan por tener espectros donde los metabolitos tienen intensidades semejantes, siendo el pico de Co mayor que el de Cr, además es característico la presencia del pico de alanina.

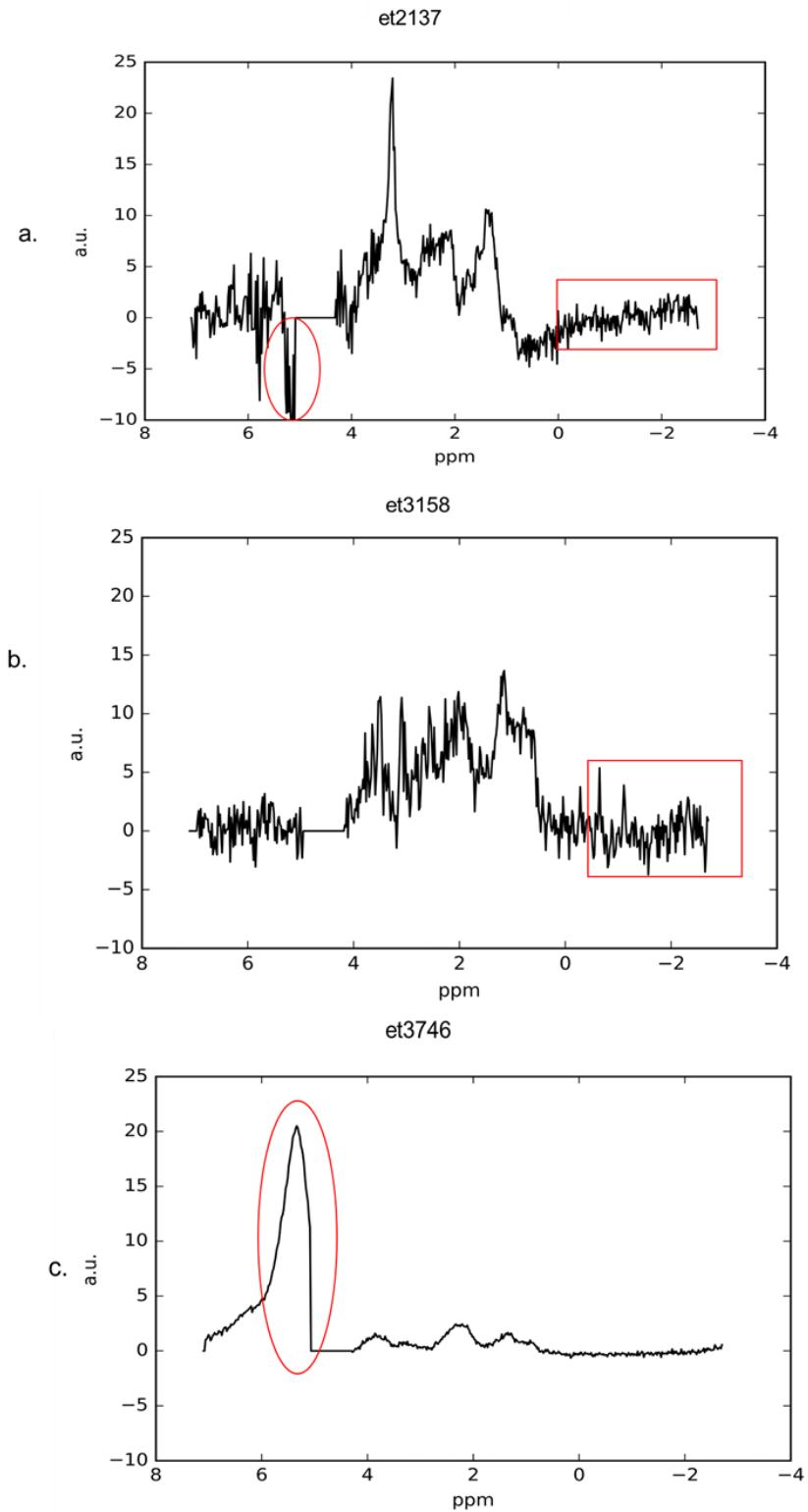


**Figura 5. a.** Espectros promedio de las clases meningioma, cerebro normal y gliales de alto y bajo grado, SV tiempo de eco corto (20-32ms), 1.5T de la base de datos INTERPRET [13]. Espectro promedio de parénquima normal (naranja); Espectro promedio de meningioma (verde); Espectro promedio de gliomas de alto grado, glioblastoma y metástasis (rojo); Espectro promedio de gliales de bajo grado, Astrocytoma, Oligodendrogioma, Oligoastrocytoma (azul). Eje horizontal, frecuencia a la que resuenan los metabolitos en ppm. Eje vertical: intensidad de los metabolitos en a.u. **b.** Espectros promedio de las clases meningioma, cerebro normal y gliales de alto y bajo grado, SV tiempo de eco largo (135-144ms), 1.5T de la base de datos INTERPRET [13]. Espectro promedio de parénquima normal (verde); Espectro promedio de meningioma (naranja); Espectro promedio de gliomas de alto grado, glioblastoma y metástasis (rojo); Espectro promedio de gliales de bajo grado, Astrocytoma, Oligodendrogioma, Oligoastrocytoma (azul). Eje horizontal, frecuencia a la que resuenan los metabolitos en ppm. Eje vertical: intensidad de los metabolitos en a.u.

#### **1.4.4 Artefactos**

Los ERM son propensos a la presencia de artefactos de adquisición y procesamiento, que pueden afectar a su interpretabilidad y reducir su valor clínico. Entre los muy diversos tipos de posibles artefactos, encontramos: movimiento, mala supresión de agua, inhomogeneidad, ecos espurios, baja relación señal ruido, señal de lípidos subcutáneos, artefactos fantasmas y corrientes parásitas, entre otros [24] (Ver Figura 6). Para detectar si un espectro de tumor cerebral contiene artefactos o no, es necesario conocer los espectros de tumores cerebrales y de tejido normal y sus variaciones según la técnica aplicada y la región cerebral. Este control de calidad puede ser una actividad lenta y sujeta a errores subjetivos según el número de casos a evaluar, si dicha evaluación se realiza manualmente [24]–[26].

Los metabolitos cerebrales visibles en ERM se encuentran en concentraciones milimolares. La señal de agua es 100.000 veces mayor que la del resto de los metabolitos y debe suprimirse. La mala supresión de agua se puede identificar por los picos que se encuentran cerca de la región entre 4,31 – 5,11 ppm (la región de interés de la actividad metabólica es entre 0 – 4,1ppm). Para evitar que la señal del agua se superponga a la señal de otros metabolitos, es necesario aplicar técnicas de supresión de agua en la etapa de post-procesamiento del espectro como, por ejemplo, mediante HLSVD [19].



*Figura 6. Espectros de mala calidad con artefactos marcados en rojo: el ruido con un cuadrado y la mala supresión de agua con un óvalo. a. Caso et 2137, meningioma de la base de datos INTERPRET [13] Espectro SV a TEC. b. Caso et3158, meningioma, Espectro SV a TEC. c. Caso et3746, meningioma Espectro SV a TEC.*

La relación señal-ruido (RSR) (ecuación 4), es el cociente entre la altura máxima ( $A_{max}$ ) del vector espectral y la desviación estándar ( $DE$ ) de las alturas extremas del ruido del espectro en una zona en que no se espere tener señal.

$$RSR = \frac{A_{max}}{DE(ruido)} \quad (4)$$

En el caso que nos compete, se definió la intensidad máxima de la señal entre 0 y 3.4 ppm dividida por la desviación estándar del ruido (definida entre 9 y 11 ppm) [26]. Teniendo en cuenta que la intensidad del ruido aumenta proporcionalmente con la raíz cuadrada del número de registros ( $\sqrt{n}$ ), vemos que la *RSR* mejora con el número de registros ( $n$ ) según se muestra en la ecuación 5:

$$RSR \propto \frac{n}{\sqrt{n}} \propto \sqrt{n} \quad (5)$$

El movimiento del paciente mientras se realiza el estudio de ERM puede ocasionar que la región de interés se escoja en una zona errónea y se obtengan espectros con líneas muy anchas, siendo los picos de la intensidad de los metabolitos más bajos o duplicados, en comparación con el espectro deseado [24].

La contaminación lipídica ocurre debido a la grasa del cuero cabelludo, que contiene intensas resonancias de lípidos en comparación con los niveles normales de los metabolitos en los espectros. Los picos de lípidos contaminantes generalmente son más amplios que los picos del agua residual [17] y a menudo producen lípidos no deseados, que pueden alterar la clasificación tumoral.

Los artefactos de truncamiento ocurren debido a la desintegración incompleta del FID durante la ventana de adquisición.

Las corrientes parásitas no compensadas (*Eddy currents*) se pueden describir como líneas asimétricas que distorsionan las formas de línea espectral (Ver ilustración en Figura 7).

Los ecos espurios (Figura 7), suelen ser causados por vías de coherencia no deseadas y casi siempre se originan en tejidos fuera de la región de interés.

Un *ghost artifact* o artefacto fantasma [24] (Figura 7) se puede originar a partir de un eco espurio y a menudo se puede identificar en el espectro como una señal que no es producida por el ruido aleatorio, ni corresponde a la señal de un metabolito. Estos artefactos se superponen con los picos de los metabolitos en diferentes frecuencias.

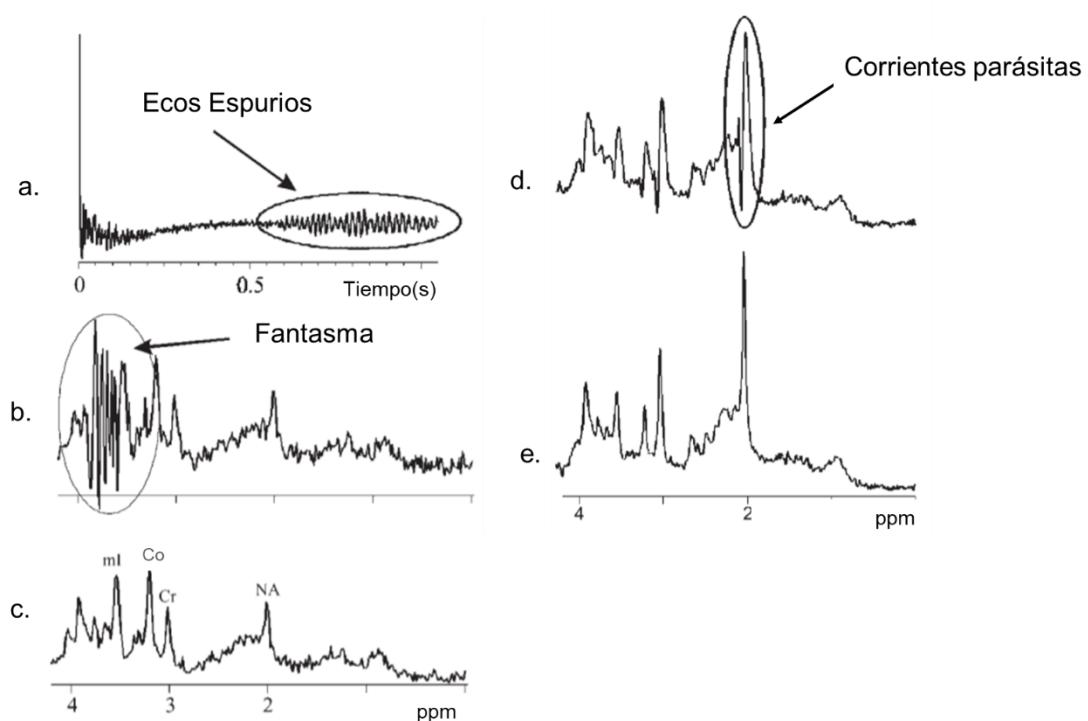


Figura 7. a. Artefacto, ecos espurios. b. Artefacto, Fantasma. c. Espectro sin artefactos de la figura 7b. d. Espectro a TEC, con artefacto, Corrientes parásitas e. El mismo espectro después de la restauración de la forma de línea, espectro de cerebro normal sin artefacto de la figura 7d. (Figura obtenida del artículo [25] ).

## 1.5 Machine Learning

Los algoritmos de aprendizaje automático (del inglés *machine learning*) utilizan métodos computacionales tanto para "aprender" información directamente de los datos, como para identificar patrones o tendencias subyacentes a los datos. Los algoritmos de aprendizaje automático mejoran su rendimiento a medida que aumenta el número de muestras disponibles para el aprendizaje [27], [28].

El aprendizaje automático, en términos generales, utiliza dos enfoques: supervisado y no supervisado [28]:

### **1.5.1 Aprendizaje Supervisado**

El Aprendizaje Supervisado (AS) [28], *entrena* (i.e., genera un proceso de aprendizaje) de un modelo a partir de los datos usando tanto los datos medidos (*de entrada* al algoritmo) como las etiquetas correspondientes a estos datos, que, en el caso de los análisis reportados en esta tesis, son etiquetas de clase (tipo de tumor). El aprendizaje de las relaciones funcionales entre datos y etiquetas de clase es la base del AS, y este tipo de enfoque permite predecir tipos de tumor en datos subsecuentes de ERM con los que el modelo no ha sido entrenado. A continuación, se describen, de manera resumida, algunos algoritmos AS de clasificación de interés en la tesis:

#### **1.5.1.1 *Linear discriminant analysis (LDA) o análisis discriminante lineal***

Es un método estadístico de reducción de la dimensionalidad y clasificación, muy utilizado en neuro-oncología para la clasificación de datos en procesos de reconocimiento de patrones. Proyecta un conjunto de datos en un subespacio de menor dimensión, mientras se mantiene la información discriminatoria de clases [29]. Se puede utilizar para encontrar diferencias entre grupos de datos y también para predecir la clase a la que pertenece un dato nuevo. Se tiene una matriz de datos  $V$  ( $d \times n$  donde  $d$  es la dimensionalidad de los datos y  $n$  es el número de muestras), con  $n_1$  muestras en el subconjunto  $D_1$ , etiqueta  $w_1$  y  $n_2$  muestras en el subconjunto  $D_2$ , etiqueta  $w_2$ ; si formamos una combinación lineal de  $V$ , se obtiene  $Y = W^T V$  ( $Y$  matriz de los componentes LDA;  $W$  es matriz de vectores propios).

### 1.5.1.2 Support vector machine (SVM) o máquina de soporte vectorial

Es un modelo de AS lineal también conocido como método *kernel*, utilizado tanto en problemas de clasificación como de regresión. SVM [30] construye un hiperplano que intenta maximizar la separación entre los puntos pertenecientes a cada clase. Las desventajas de SVM incluyen el hecho de que el algoritmo es propenso al sobreajuste a los datos (*data overfitting*) si la ratio entre características y número de muestras es alto. Este modelo admite varios tipos de kernel  $K$ , entre ellos el lineal, para el aprendizaje de dos clases  $(x_1, x_2)$ :

$$K(x_1, x_2) = (x_1^T x_2) \quad (6)$$

### 1.5.1.3 Otros Algoritmos de AS

Dentro de los algoritmos clásicos de AS se encuentra también ***k-Nearest Neighbors*** (**kNN**) o **k-Vectores Cercanos**, uno de los de los algoritmos de clasificación no paramétricos más simples. Se utiliza para la clasificación de valores buscando los puntos de datos semejantes más cercanos aprendidos en la etapa de entrenamiento, para de esta forma etiquetar los nuevos datos.

Las ***Neural Networks*** o **Redes Neuronales** son una familia de métodos avanzados de AS, inspirados de manera vaga en las funciones biológicas de conectividad cerebral. Los modelos, a grandes rasgos, están compuestos de diferentes capas de unidades (“neuronas”), y sus conexiones. Su entrenamiento consiste en modular sus patrones de conectividad con el objetivo de minimizar una función de error (que puede tomar múltiples formas) [31]. En su forma más avanzada han dado lugar a la familia de métodos de aprendizaje profundo (*Deep learning*).

El perceptrón multicapa (Figura 8) es la forma más simple de una red neuronal usada para la clasificación de un tipo especial de patrones, aquellos que son linealmente separables.

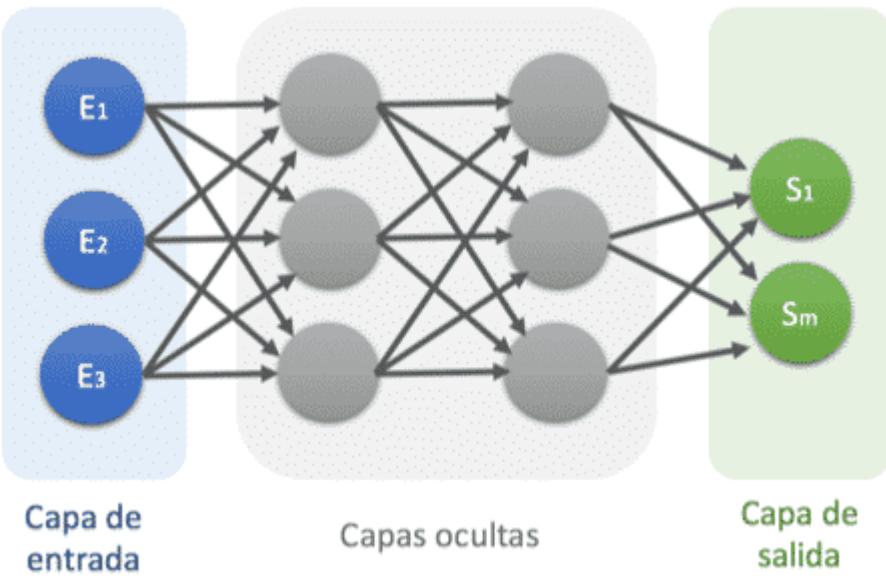


Figura 8. Red neuronal de tipo perceptrón multicapa.  $E_1 \dots E_3$  entradas.  $S_1 \dots S_m$ , salidas.

Podemos distinguir los siguientes elementos en una red neuronal:

- **Capa de entrada:** está formada por los valores que toman las características con las que se va a alimentar la red. En estas neuronas no se produce procesamiento.
- **Capas ocultas:** son una aglomeración de capas en las que cada activación de una salida procede de la suma ponderada de las activaciones de la capa anterior conectadas, más sus correspondientes umbrales (*bias*, o sesgos).
- **Capa de salida:** conecta las capas ocultas con la salida de la red que proporciona los resultados. En regresión la capa de salida está formada por una sola neurona y en clasificación por tantas neuronas como clases excepto en la clasificación binaria, en cuyo caso son hay una neurona.

### 1.5.2 Aprendizaje no supervisado

El aprendizaje no-supervisado (ANS) tiene como objetivo el encontrar patrones ocultos o estructuras intrínsecas en los datos de entrada sin etiquetar. Las técnicas de ANS no modelan la relación funcional entre datos y etiquetas, sino la distribución intrínseca de

los datos, pudiendo tener como objetivo realizar procesos de agrupamiento, reducción de la dimensionalidad y/o visualización de datos, así como (y este es el caso en la presente tesis) la extracción de fuentes de señal a partir de los datos.

En comparación con el AS, el ANS tiene menos modelos y menos métodos de evaluación que se puedan utilizar para asegurarse de que el resultado del modelo es preciso. Como tal, se podría argumentar que el ANS crea un entorno menos controlable.

Los tipos de algoritmo más habituales en el aprendizaje no supervisado son:

- Análisis de componentes principales (*Principal component Analysis*, PCA).
- Descomposición en valores singulares (*Singular value decomposition*, SVD).
- Análisis de componentes independientes (*Independent Component Analysis*, ICA).
- Factorización de matrices no negativas (*Non-negative matrix factorization*, NMF).

#### 1.5.2.1 PCA

PCA [32] es un método estadístico que reduce las dimensiones del espacio de características originales. Permite compactar la información en unas pocas componentes que expliquen la variabilidad en los datos, eliminando las variables menos importantes, sin perder la información más relevante. Cada componente generada por PCA será una combinación lineal de los datos originales, lo cual confiere interpretabilidad al método. Además, PCA se utiliza para la visualización de datos. Los componentes se obtienen a partir de los vectores propios de la matriz de covarianza.

Matemáticamente se tiene una matriz de datos  $V$  ( $d \times n$ , donde  $d$  es la dimensionalidad de los datos y  $n$  el número de muestras), y se encuentra una matriz ortogonal  $P$  (donde las filas son componentes principales),  $Y = PV$  tal que la matriz de covarianza de  $Y\left(\frac{1}{n-1}YY^T\right)$  esté diagonalizada. Las columnas en  $Y$  entonces, son las proyecciones sobre la base de las filas en  $P$ .

### 1.5.2.2 ICA

El análisis de componentes independientes es una de las generalizaciones de análisis de componentes principales PCA. Realizar ICA de un vector aleatorio consiste en buscar una transformación lineal que minimice la dependencia estadística entre sus componentes [33]. El método se ha desarrollado históricamente para realizar una separación y extracción de fuentes ciega. En resumen, ICA permite recuperar fuentes estadísticamente independientes de un conjunto de mezclas lineales de estas fuentes. Esta propiedad puede ser muy útil para datos de ERM. Si suponemos que la señal de ERM de diferentes tejidos es independiente, entonces la aplicación de ICA en una imagen espectroscópica debería dar componentes independientes correspondientes a los espectros de todos los tejidos en la señal ERM.

Investigaciones previas han recurrido a ICA para el análisis de datos de ERM en neuro-oncología incluyendo las reportadas en [34]–[36] y [37]. En [34], se identificaron dos tipos principales de señales, que se parecen mucho al tejido tumoral necrótico. La capacidad de ICA para separar algunos tipos de tejidos se confirmó de forma independiente en [35] y [36]. Por lo contrario, solo en [34] y [37], los resultados de ICA se utilizaron como base para la clasificación.

ICA se puede calcular mediante la ecuación

$$V \approx WH \quad (7)$$

Donde  $V$  es la matriz de datos ( $d \times n$ , donde  $d$  es la dimensión de los datos y  $n$  es el número de observaciones),  $W$  los factores (de dimensiónd  $\times k$ , es la matriz de fuentes, variables latentes o componentes independientes, donde  $k$  es el número de componentes) y  $H$  es la matriz de mezcla (de dimensiones  $k \times n$ ), definición similar a NMF. Para estimar  $W$  y  $H$  se debe asumir que las fuentes son estadísticamente

independientes y tiene distribuciones no gaussianas. Maximizar la no gaussianidad es equivalente a encontrar los componentes independientes.

### 1.5.2.3 NMF

ICA y NMF pueden verse como técnicas funcionalmente similares, utilizadas para la descomposición espectral de los datos de ERM y la extracción de fuentes.

La Bioinformática ha mostrado un gran interés en la técnica de NMF [38]. Este método, y algunas de sus variantes (Semi NMF y Convex NMF [38]), se han aplicado con éxito en la expresión génica, análisis de secuencias, a la caracterización funcional de genes, y la clasificación por imagen de tumores cerebrales [39]. NMF se aplica al análisis multidimensional de datos con el fin de reducir la dimensionalidad, descubrir patrones y ayudar en la interpretación de los datos. NMF [38] factoriza una matriz  $X$  (matriz de datos de los espectros de dimensión  $D \times N$ , donde  $D$  es la dimensión de los datos y  $N$  el número de muestras) en dos matrices:  $F$  (matriz de la Fuente de dimensión  $D \times K$ , donde  $K$  es el número de fuentes y  $G$  (la matriz de mezcla o matriz de codificación, de dimensiones  $N \times K$ ). El producto de estas dos matrices nos ofrece una buena aproximación a la matriz de datos original, en la forma:

$$V \approx F \times G \quad (8)$$

La principal ventaja de usar NMF sobre ICA es que NMF puede recuperar las fuentes sin requerir conocimiento sobre la media estimada y la varianza de las fuentes, y la principal desventaja es que no produce una solución única [41] lo que es una dificultad para elegir las fuentes representativas a partir de varios resultados posibles.

En un estudio anterior [40], se concluyó que el uso de NMF para el análisis de la información de ERM tenía algunas ventajas sobre ICA con respecto a su capacidad para encontrar fuentes claramente compatibles con patrones reconocibles y

radiológicamente interpretables, como tumores en proliferación activa, fuentes con características de necrosis y cerebro normal.

Anteriormente se habían aplicado diferentes variantes de NMF en el contexto de la neuro-oncología para distinguir las masas normales de las anormales, como las propuestas por Lee y Seung [41] utilizada en [42] que requiere que las fuentes y la matriz de mezcla sean no negativas. En cambio, la técnica de CNMF [38] utilizada en esta tesis presenta la ventaja de que se pueden analizar datos con valores positivos y negativos (algo que puede ocurrir al usar datos en TEL).

La técnica NMF se ha aplicado previamente en un contexto similar al análisis de las fuentes de los espectros de los datos de ERM de cerebro humano [43] y a las señales de ERM correspondientes a tumores cerebrales [44].

### 1.5.3 Otros enfoques

El **Aprendizaje semi-supervisado** es la combinación del AS y ANS y puede considerarse como una solución a problemas supervisados en ausencia de suficientes datos etiquetados [45]. En breve, consiste en generar los modelos tanto con datos etiquetados como con datos no etiquetados, de manera que los primeros sirvan para inferir la etiqueta no existente (*missing label*) de los segundos.

## 1.6 Software para el reconocimiento de patrones en espectroscopía

La interpretación de un espectro de RM requiere ciertos conocimientos espectroscópicos y bioquímicos, lo cual implicaría un entrenamiento previo de los radiólogos o neurólogos que han de analizar los datos. Ante esto nuestro grupo de investigación desarrolló algunas herramientas de reconocimiento de patrones para la clasificación de ERM, con el objetivo que fueran de fácil uso para bioquímicos no expertos en aprendizaje de máquina. Entre otros posibles análisis, un sistema de reconocimiento de patrones (semi)automático debería asignar a cada dato su categoría o clase como apoyo a las decisiones diagnósticas o pronósticas del experto humano.

Ejemplos de aplicaciones automatizadas para el reconocimiento de patrones utilizadas en esta tesis, y desarrolladas en el grupo de investigación de la tesista, incluyen:

**Sistema de soporte a la decisión INTERPRET 3.0** [46] es una interfaz de usuario para visualizar espectros de una base de datos multicéntrica [46], los cuales tienen asociados información clínica e imágenes, así como un clasificador de nuevos espectros. Separa los espectros de tumores cerebrales, en las siguientes tres clases: meningiomas (grados I y II de la OMS); gliales de bajo grado (astrocitomas, oligodendrogliomas y oligoastrocitomas grado II de la OMS) y tumores malignos de alto grado (glioblastomas y metástasis grado IV de la OMS).

**SpectraClassifier (SC)**: es una herramienta de software que nos permite importar datos de ERM, para desarrollar clasificadores mediante el entrenamiento de los datos de entrada. Además, se puede usar para visualizar los datos mediante la PCA. Se pueden evaluar la precisión del clasificador mediante la curva ROC (*receiver operating characteristic*), la matriz de confusión, o el porcentaje de acierto para los grupos de entrenamiento y de test, entre otros parámetros.

**SpectraClassifier-Visualizer (scV)**: es un software diseñado para cargar clasificadores que se han obtenido previamente con SpectraClassifier [46], y a su vez testar los clasificadores importados con datos nuevos de ERM.

## 1.7 Control de calidad

Uno de los enfoques para el control de calidad de los espectros de RM es mediante el uso del propio *software* del escáner de obtención de la señal, lo que tiene como ventaja el poder realizar el procesamiento en la propia consola donde se obtienen los datos. Sin embargo, estos paquetes de *software* carecen de algoritmos avanzados para un análisis adecuado de la señal. Por otro lado, los radiólogos realizan un control de calidad visual basado en sus conocimientos, pero no todos ellos tienen el entrenamiento adecuado

para detectar y hacer control de calidad de todos los artefactos que se pueden encontrar en los espectros.

Es posible medir automáticamente parámetros relacionados con la calidad espectral como la baja RSR o la mala supresión de agua, pero esto no es suficiente para detectar la amplia gama de artefactos [24] que existen. En estudios anteriores [47]–[49] la calidad de los espectros de RM se evaluó mediante expertos espectroscopistas y también utilizando métodos semiautomáticos. En [22], cada espectro fue evaluado por dos expertos y etiquetado como de buena o mala calidad si dos de los expertos estaban de acuerdo. Si no, se recurrió a la opinión de un tercer experto, así como identificados sus tipos de artefacto.

Estos métodos están limitados por la subjetividad y las limitaciones de conocimiento humanas; algunos artefactos visualmente se pueden considerar como interpretables, mientras que otros problemas relacionados con la calidad de la adquisición, p.e. baja RSR requieren siempre el cálculo de algún parámetro y el establecimiento de un límite de decisión para considerar dicho dato como de buena o mala calidad.

Para un óptimo control de calidad, se requería un sistema no-supervisado y automático que permita detectar todo tipo de artefactos, filtrarlos y reconstruir las señales originales sin dichos artefactos de forma fidedigna, de manera que se pudiesen usar la mayor parte de los espectros adquiridos.

Éste es pues el objetivo último de la presente tesis, en la que se documentan las estrategias y los resultados obtenidos a dicho fin.

## **Capítulo 2.**

### **Resumen**

A pesar del éxito de los métodos automatizados de reconocimiento de patrones en problemas de clasificación diagnóstica de tumores cerebrales humanos, se ha prestado atención limitada al problema de la evaluación automatizada de la calidad de los datos en el campo de la ERM para la neuro-oncología. Más allá de algunos intentos preliminares para abordar este problema, el estándar actual en la práctica es el control de calidad de ERM a través de la evaluación humana (basada en expertos).

Un aspecto del control de calidad automático es el problema de detectar artefactos en los datos de ERM. Los artefactos, cuya variedad ya ha sido revisada con cierto detalle en el capítulo previo y algunos de los cuales incluso pueden escapar al control de calidad humano, tienen una influencia negativa en los resultados de los métodos de reconocimiento de patrones que intentan ayudar a la caracterización del tumor y por lo tanto a la toma de decisiones médicas. La detección automática de artefactos ERM debería ser beneficiosa para la radiología, ya que garantiza caracterizaciones tumorales más confiables, así como el desarrollo de clasificadores de tumores basados en reconocimiento de patrones y procesos de análisis y procesamiento de datos ERM más robustos.

Los métodos de extracción de características se han utilizado previamente para ayudar a distinguir entre espectros de buena y mala calidad como base previa a la aplicación subsecuente de técnicas de reconocimiento de patrones supervisadas. La idea de base es clara: si un método de clasificación es entrenado con datos que incluyen errores, artefactos y/o atipicidades, el modelo hará de éstos parte integral de su naturaleza, afectando negativamente su capacidad de generalizar con datos futuros. En este capítulo, nos planteamos aplicar la extracción de características de manera diferente: mediante el uso de una variante de un método para la separación de fuentes ciegas, a

saber, factorización de matriz convexa no negativa (*Convex Non-negative Matrix Factorization*, CNMF), se pretende revelar fuentes de señal ERM de una manera enteramente no supervisada. Hipotetizamos que, si bien la mayoría de las fuentes corresponderán a los diferentes patrones tumorales, algunas de ellas reflejarán claramente artefactos de señal. El trabajo experimental reportado en este capítulo consiste en el análisis, base esa perspectiva, de una base de datos  $^1\text{H}$ -ERM de más de 2,000 espectros adquiridos a 1.5T a TEC (20-32ms) y TEL (135-144ms), que corresponden a diferentes tipos de tumores, así como a otras masas anómalas, proporcionando una primera prueba de concepto que apunta a la posible validez de este enfoque.

## 2.1 Introducción

Se ha prestado poca atención al tema de la evaluación automatizada de la calidad de los datos en el campo de la ERM para neuro-oncología [26] y, aunque estudios recientes han comenzado a abordar este problema, a menudo utilizando enfoques de reconocimiento de patrones (RP) supervisados, el estándar actual en práctica es el control de calidad mediante evaluación humana experta [49]. Una razón para esto puede ser la falta del tipo de estándares de gestión de datos biológicos (*biodata curation*) que comienzan a ser comunes en otros campos de las ciencias de la vida como la genómica y, en menor medida, la proteómica [50]. Otras razones incluyen el hecho de que los datos de ERM en esta área son escasos y fragmentados. La fragmentación es tanto geográfica como institucional, ya que el esfuerzo de recopilar datos multicéntricos e internacionales se ve obstaculizado por diferentes barreras. Los centros clínicos que son responsables en última instancia de la adquisición de datos tienen pocos incentivos obvios para transferir, incluso parcialmente, el control de sus datos a terceros, y tales partes, que deberían ser responsables de administrar los datos de varios centros, no existen o carecen de la capacidad para mantener ese papel a largo plazo. Además, los esfuerzos para reunir y administrar bases de datos internacionales a menudo chocan

con las limitaciones legales locales para la transferencia y el intercambio de este tipo de información médica personal.

Dicho esto, también es cierto que se han realizado algunos esfuerzos de investigación para abordar el problema del control de calidad automatizado (CCA) de ERM y que este problema se ha abordado desde diferentes perspectivas. Las primeras preocupaciones sobre cuestiones de calidad espectral en la ERM clínica y la falta de estándares para la definición de las características que hacen que un espectro sea aceptable o no se plantearon, por ejemplo, en [24]. En esta revisión, se compiló una lista de posibles artefactos, muchos de ellos difíciles de detectar incluso por inspección visual experta. Se presentaron varias medidas cuantitativas de evaluación de calidad y se formularon varios criterios para el rechazo de espectros. La necesidad de la definición de requisitos y objetivos de calidad para los datos  $^1\text{H}$ -ERM, así como para la implementación de medidas para garantizar estándares de calidad y el manejo sostenido de la calidad de los datos han sido recientemente enfatizados en la referencia [49].

Parte de los espectros del conjunto de análisis de este capítulo se analizaron en [26], donde la evaluación de la calidad se refería al paso inmediato después de la adquisición de datos mediante la determinación automática de la relación señal / ruido (RSR) en un espectro con supresión de agua y del ancho de línea de la resonancia del agua (ancho de banda del agua, ABA, o “*full width at half maximum*, FWHM”) en el espectro no suprimido correspondiente. Los criterios de umbral para la selección de espectros se determinaron empíricamente y se realizó una detección de artefactos adicional mediante inspección visual humana.

En una investigación reciente [51], el CCA se llevó a un segundo nivel usando bases de datos previamente validadas [9], [20], [21] como punto de partida. En ese estudio, se capacitó a una variedad de clasificadores de RP diferentes para imitar la toma de decisiones humanas sobre la calidad de los espectros a partir de datos transformados

de acuerdo con diferentes métodos de extracción de características. Para realizar esta tarea, los clasificadores utilizaron espectros etiquetados por expertos espectroscopistas locales y multicéntricos. El rendimiento del clasificador se comparó posteriormente con la variación en el juicio humano. Este trabajo a su vez se inspiró en un estudio anterior a pequeña escala [25] en el cual se usaron SVM como clasificadores a partir de características extraídas mediante ICA para aprender a distinguir entre espectros de buena y mala calidad. Este enfoque CCA se extendió recientemente a la  $^1\text{H}$ -IERM [48], donde se entrenó un clasificador de tipo *Random Forest* (RF [47]) con datos IERM previamente etiquetadas como aceptables o no aceptables por dos expertos. Para dar cuenta de posibles efectos de confiabilidad intra-expertos, cada uno de los espectros fue etiquetado tres veces por cada uno de los expertos. Un enfoque similar, también con RF como clasificador, se había usado anteriormente en [47]. Téngase en cuenta que todos estos enfoques tienen como objetivo replicar la decisión humana de una forma automatizada basada en datos.

En [52] se ensayó un abordaje distinto, a través de un análisis de datos atípicos, o *outliers*. Se utilizó una técnica de aprendizaje no supervisado denominada *Generative Topographic Mapping* con distribuciones *t* de *Student* (tGTM) con el objeto de modelar la distribución de datos. Una vez realizado el modelaje, se identificaron y tabularon los espectros que no se ajustaban al modelo desarrollado. El listado de espectros cuantitativamente distintos fue inspeccionado por expertos espectroscopistas, distinguiendo entre espectros naturalmente atípicos y espectros con anomalías relacionadas con la presencia de artefactos. La categorización de los artefactos en esos casos seleccionados se llevó a cabo posteriormente de forma individual y detallada por expertos humanos.

El propósito de este capítulo es el de aplicar un enfoque de RP enteramente no supervisado en la base de datos multicéntrica más grande de espectros *single voxel* (SV) de tumores cerebrales disponibles hasta la fecha para identificar patrones

artefactuales de ERM que sean de fácil interpretación para los expertos. Con este objetivo, se utilizó la extracción de características de una manera diferente basándose en un método de la familia de separación de fuente ciega (a la que también pertenece ICA), a saber, NMF [41] y, más específicamente, una de sus variantes conocida como NMF convexo: CNMF [38]. NMF se desarrolló originalmente [41] como un método para la estimación de las fuentes latentes (no observables) de imagen, pero se puede usar con cualquier tipo de señal que se pueda asumir que consiste en una combinación de tales fuentes. Si se aplica a un espectro de RM, el objetivo es descubrir las fuentes de señal ocultas que lo conforman, ya sean éstas o bien tipos de tejidos, o patrones de artefactos.

El resto del capítulo está estructurado de la siguiente manera: primero se describe el conjunto de datos utilizado en los experimentos, que es la colección multicéntrica más grande hasta la fecha de espectros de tumor cerebral SV a TEC y TEL obtenidos a 1.5T. A continuación, se detalla el diseño experimental, con una breve descripción de cómo funciona el algoritmo CNMF, y cómo se diseñó y evaluó el estudio descriptivo. A continuación, se muestran los resultados para el TEC y el TEL por separado. Finalmente, se extraen algunas conclusiones y se describen posibles líneas de investigación futuras.

## **2.2 Materiales y Métodos**

### **2.2.1 Adquisición y procesamiento de datos**

Los datos analizados en este estudio son los mismos que se describen en [51]. En resumen, se trata de espectros SV de tumores cerebrales humanos, adquiridos en escáneres de 1.5T de tres fabricantes diferentes (GE, Siemens y Philips) y diferentes modelos, durante el período 1994-2009. Se descargaron de las bases de datos multicéntricas INTERPRET [21] y eTUMOUR [53] y se procesaron con el software de manipulación de datos INTERPRET [46], [54], y los parámetros consensuados del

proyecto, con una corrección adicional de realineación [51]. Téngase en cuenta que este procesamiento incluyó la configuración de la región entre [4.2, 5.1] ppm a valores cero. El espectro procesado final consiste en 512 puntos. El número total de espectros TEC (20-32ms) adquiridos con PRESS o STEAM, procesados y disponibles para su posterior análisis fue de 1,180. El número total correspondiente de espectros TEL (135-144 ms) adquiridos con PRESS fue de 977. Para este estudio, no se utilizaron las clasificaciones de calidad originales de los espectroscopistas expertos, aunque estaban disponibles con las matrices de datos de referencia [51]. En cuanto a la calidad evaluada por los paneles de espectroscopistas expertos para TEC, 982 espectros habían sido considerados como de buena calidad y 198 como de mala calidad, mientras que, para TEL, 828 se consideraron de buena calidad y 149 de mala calidad [51] (ver Tabla 1 para detalles).

		TEC				TEL			
Tipo		BUENA CALIDAD	CALIDAD POBRE	MALA CALIDAD	Total	BUENA CALIDAD	CALIDAD POBRE	MALA CALIDAD	Total
Absceso		9	0	2	11	8	1	2	11
Astrocitoma WHO grado III		7	0	0	7	7	0	0	7
Linfoma		16	2	1	19	15	0	3	18
PNET		11	0	0	11	8	0	0	8
Glioblastoma	Agresivo	189	5	18	212	215	9	34	258
Metástasis		87	1	7	95	78	4	10	92
Meningioma		100	4	23	127	87	5	13	105
Astrocitoma	Glial de bajo grado (WHO grado II)	68	2	7	77	60	7	4	73
Oligodendroglioma		27	0	2	29	39	2	2	43
Oligoastrocitoma		12	0	3	15	22	1	1	24
Astrocitoma Pilocítico		27	1	9	37	37	1	9	47
Otras patologías		100	19	10	129	156	25	3	184
No Disponible		304	23	55	382	77	1	12	88
<b>Total</b>		982	49	149	1180	828	38	111	977

Tabla 1. Número de espectros, adquiridos a TEC y TEL, disponibles por tipo de tumor y etiqueta de calidad. Las etiquetas BUENA CALIDAD, CALIDAD POBRE y MALA CALIDAD se toman de la matriz de datos del estudio [51], en el que se asignó la etiqueta intermedia de "mala calidad" (POBRE) a los espectros rechazados que habían sido vistos por tres expertos y habían sido aceptados por uno de ellos. No disponible corresponde a casos que carecen de diagnóstico definitivo / consenso en la base de datos.

Los espectros disponibles corresponden a la variedad de patologías reunidas en las bases de datos. La Tabla 1 muestra la distribución de los espectros por tipo de tumor y tiempo de eco. Algunos de los artefactos que se sabe que están presentes en los espectros incluyen (aunque no se limitan a) baja relación señal ruido (RSR) y/o mala supresión de agua [51]. Para la evaluación, se consideraron siete clases o superclases (agrupaciones de tumores cerebrales): gliomas de bajo grado (incluidos astrocitomas, oligodendroglioma y oligoastrocitoma de grado II según la OMS), tumores agresivos (que incluían glioblastoma y metástasis), meningioma, linfoma, tumores neuroectodérmicos primitivos (PNET), astrocitoma grado III según la OMS, absceso y cerebro normal, como en las referencias [46], [54],[55].

### **2.2.2 Diseño experimental**

Las fuentes o los patrones espetrales arquetípicos se extrajeron usando CNMF [40],[56]. Este método generaliza el NMF al admitir valores negativos en los datos observados. Téngase en cuenta que existe un número importante de espectros en la base de datos que incluyen picos invertidos con tales valores negativos (TEL). El número óptimo de fuentes a extraer no se conoce *a priori* [56]. Aunque éste sería un problema relevante en un entorno experimental más general, no es relevante en este estudio, ya que estamos interesados en la exploración de la existencia de artefactos de señal en una amplia gama de valores para el número de fuentes. Por esta razón, se diseñó un estudio descriptivo para extraer entre 4 y 20 fuentes por TE. Las extracciones comienzan en 4 fuentes como el mínimo necesario para mantener una correspondencia entre las fuentes (o grupos de fuentes) y los principales tipos de tejido, según [56].

CNMF funciona factorizando la matriz de datos  $X$  en dos matrices.

$X$  es una matriz (de dimensiones  $D \times N$ , donde  $D$  es la dimensión de los datos (512 puntos o frecuencias espetrales en nuestro caso) y  $N$  el número de muestras (1,180 espectros en TEC o 977 en TEL)

Las dos matrices son:

- $F$ , la matriz de fuentes extraídas, de dimensiones  $D \times K$ , donde  $K$  es el número de fuentes, de 4 a 20 en los experimentos informados
- $G$ , la matriz de mezcla o matriz de codificación, de dimensiones  $N \times K$ , donde los valores en una columna son los pesos asociados con una fuente o un vector base para cada espectro.

El producto de estas dos matrices proporciona una buena aproximación a la matriz de datos original. Es importante tener en cuenta que los valores en  $G$  no son todos negativos y, por lo tanto, cada espectro puede verse como una combinación ponderada de fuentes que actúan como centroides de datos. Por lo tanto, estamos asumiendo que un espectro RM es la manifestación medible de la combinación ponderada de fuentes de señal no medibles directamente (ocultas o latentes). Además,  $F$  está restringido a estar en el espacio de la columna de los datos de entrada  $X$ , de modo que la fórmula de reconstrucción de datos de CNMF puede escribirse como en la ecuación 9:

$$X_{\pm} \approx FG_{+}^T, \quad (9)$$

donde  $F = X_{\pm}W_{+}$ . Esto lleva a que  $W = G(G^TG)^{-1}$ ; el subíndice  $\pm$  representa una matriz de datos de signo mixto y el subíndice + indica que la matriz es no-negativa.  $W$  (de dimensiones  $N \times K$ ) es una matriz auxiliar de pesos adaptativos que determina totalmente  $G$ .

La matriz  $G$  también se denomina matriz de mezcla, ya que contiene los coeficientes (coeficientes de codificación, CC) para recomponer una muestra de datos específica. Por lo tanto, el valor CC de cada columna en la matriz de mezcla nos proporciona una estimación del grado de contribución de cada una de las fuentes a cada espectro

reconstruido. Cada espectro  $i$  (de  $N$ ) se representa como la combinación lineal de la  $k - \text{ésima}$  fuente (de  $K$ ) y el CC, como se describe en la ecuación 10:

$$X_i = F_1 G_{i1} + \dots + F_k G_{ik} + \dots + F_K G_{iK} \quad (10)$$

Los métodos de NMF inevitablemente convergen a mínimos locales. Como resultado, las fuentes NMF serán diferentes para diferentes inicializaciones. En este estudio, se usó el algoritmo *k-means++* [57] para la inicialización. CNMF se basa en algoritmos iterativos, al igual que el algoritmo NMF original, en el que los factores se actualizan alternativamente hasta la convergencia [40].

El algoritmo funciona de la siguiente manera:

*Paso 1:* Inicializar  $G$  y  $W$ . Esto se logra con el algoritmo *k-means++*, como en la referencia [57], con el objetivo de garantizar que el algoritmo comience desde valores cercanos a los centroides de datos reales.

*Paso 2:* se actualiza  $G$  , dejando  $W$  fijo, usando la regla descrita en la ecuación 11:

$$G_{ik} \leftarrow G_{ik} \sqrt{\frac{[(X^T X)^+ W]_{ik} + [GW^T(X^T X)^- W]_{ik}}{[(X^T X)^- W]_{ik} + [GW^T(X^T X)^+ W]_{ik}}} \quad (11)$$

donde  $(\cdot)^+$  es la parte positiva de la matriz, donde todos los valores negativos se convierten en ceros; y  $(\cdot)^-$  es la parte negativa de la matriz, donde todos los valores positivos se convierten en ceros.

*Paso 3:*  $W$  se actualiza, dejando a  $G$  fijo usando la regla descrita en la ecuación 12:

$$W_{ik} \leftarrow W_{ik} \sqrt{\frac{[(X^T X)^+ G]_{ik} + [(X^T X)^- WG^T G]_{ik}}{[(X^T X)^- G]_{ik} + [(X^T X)^+ WG^T G]_{ik}}} \quad (12)$$

Se llevaron a cabo diez repeticiones del algoritmo para cada una de las 17 extracciones (de 4 a 20 fuentes) en ambos TE, ya que las fuentes extraídas pueden variar debido a la inicialización de *k-means++*. Se consideró que este número de repeticiones era suficiente para calcular la media y la DE de las fuentes extraídas.

Para calcular la media y la DE de las fuentes, primero se agruparon por similitud. Para ello se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson entre cada fuente y todas las fuentes en cada repetición, y aquellos con los valores de coeficiente más altos en cada repetición se agruparon. La primera extracción se eligió como punto de partida. Las fuentes obtenidas se representaron gráficamente para permitir una primera verificación visual intuitiva de sus características. Como se mencionó en la introducción, se planteó la hipótesis de que algunas de las fuentes se identificarían como artefactos, mientras que otras describirían patrones tumorales prototípicos o de tejido normal, ya que las bases de datos de las que se obtienen los espectros comprenden espectros de buena y mala calidad. CNMF se implementó en lenguaje Python [58] y se ejecutó a través de Google Cloud Platform y en el clúster informático del Instituto de Biotecnología y Biomedicina (IBB) en Cerdanyola del Vallès, España.

### 2.2.3 Evaluación

Las fuentes obtenidas primero se exploraron cualitativamente por dos miembros del equipo que son espectroscopistas expertos (Drs. Carles Arús y Margarita Julià Sapé) y luego se evaluaron cuantitativamente de acuerdo con diferentes medidas calculadas con el fin de encontrar una forma automatizada de distinguir las fuentes de artefactos.

Las medidas cuantitativas incluyen:

- Coeficientes de correlación momento-producto de Pearson (matriz  $R$  en la ecuación 13) entre los promedios de cada una de las fuentes obtenidas tras 10 repeticiones (matriz

$Y$ ) y los promedios de las diferentes clases de tumores, abscesos y tejido normal de la base de datos validada por INTERPRET (matriz  $Z$ ) [11].

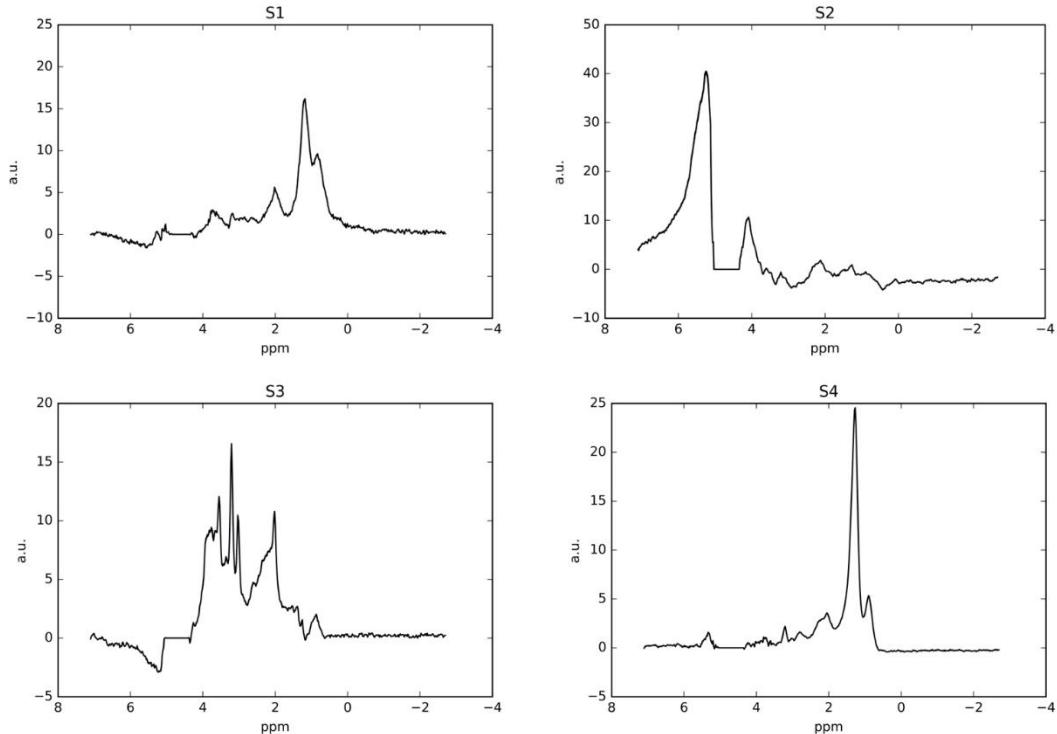
$$R_{ij} = \frac{C_{ij}}{\sqrt{C_{ii}*C_{jj}}} \quad (13)$$

donde  $C_{ii}$ ,  $C_{jj}$ ,  $C_{ij}$ , son elementos de la matriz de covarianza  $C$  de  $(Y, Z)$ . Los valores de  $R$  pertenecen al intervalo  $[-1,1]$ . Esta medida evalúa si las fuentes extraídas se correlacionan con espectros prototípicos conocidos de diferentes patologías, con tejido sano, o no.

- Las distancias euclídeas entre las medias de cada una de las matrices creadas con las fuentes obtenidas durante 10 repeticiones ( $Y$ ) y los espectros promedios de diferentes clases de tumores en la base de datos validada INTERPRET ( $Z$ ), calculada como  $\|Y - Z\|^2$ , evalúan la similitud entre las fuentes extraídas y los diferentes espectros prototípicos de diferentes patologías, o tejido sano.
- El CC de la matriz de mezcla ( $G$ ) de los promedios de cada una de las matrices creadas con las fuentes obtenidas tras 10 repeticiones ( $Y$ ) de la extracción de fuentes. Los CC pueden entenderse como estimaciones de la contribución de las fuentes extraídas en la composición de cada espectro. Esto ayudará a determinar en qué medida las fuentes obtenidas a través de CNMF representan los artefactos.

### 2.3 Resultados

A continuación, se detallan algunas de las interpretaciones de los expertos las fuentes extraídas. En aras de la brevedad, solo se informa una parte del conjunto completo de resultados, con algunos resultados más detallados trasladados a los anexos.



*Figura 9. Promedio y DE (+/-) de las fuentes (S) extraídas de los espectros adquiridos a TEC,  $N = 1180$ . S1, S2, S3 y S4 representan las fuentes número 1, 2, 3 y 4, respectivamente. El eje x del gráfico se representa en partes por millón (ppm), mientras que el eje y representa las intensidades en unidades arbitrarias (ua). La media está representada por una línea azul y la variabilidad descrita como DE (+/-) se muestra en tono gris, encerrada por una línea negra. En esta extracción de fuentes, la variabilidad es extremadamente baja, lo que explica por qué solo una línea negra parece representar la fuente. Las fuentes se parecen mucho a los espectros característicos de diferentes tipos tumorales, e incluso podrían tomarse por un espectro promedio si no se proporcionara más información. Como los espectros originales habían sido procesados con el software INTERPRET [53], incluyen una supresión de agua residual alrededor de 4.2 a 5.1 ppm configurados a cero antes de la normalización, las fuentes también muestran esta característica. La puesta a cero del intervalo [4.2-5.1] ppm se incorporó en INTERPRET porque si hubiera restos de señal de agua sin filtrar, la intensidad del resto del espectro se vería afectada al realizar la normalización. La primera y la tercera fuente (S1 y S3) tienen un patrón típico de necrosis con lípidos altos a 0.9, 1.28 y 2 ppm, S4 además muestra compuestos que contienen colina a 3.21 ppm y lípidos a 5.3 ppm, y un metil / metileno diferente (0.9ppm / 1.28 ppm) que para S1. S2 muestra un patrón típico de mala supresión de agua, la reducción a cero entre 4.2 y 5.1 solo se pudo eliminar parcialmente, por lo tanto, la aparición de estas dos "colas", de la señal de agua suprimida de manera incompleta, aparece entre 3.9 y 4.2 aproximadamente y entre 5.1 y 7.1 ppm. No se pueden identificar otras señales de metabolitos en este S2. La tercera fuente (S3) muestra el patrón típico para un tumor glial infiltrativo de bajo grado, en particular la alta proporción colina / creatina (3.21ppm / 3.03ppm) es indicativo de una alta proliferación, mientras que la disminución en la intensidad de N-acetilaspartato a 2.01 ppm (debe ser aproximadamente el doble de la altura del pico de creatina en un cerebro normal) es indicativo de una disminución de la cantidad / funcionalidad de las neuronas.*

La Figura 9 muestra la media y la desviación estándar (DE) de las fuentes extraídas para  $K = 4$  (número mínimo de fuentes) a TEC. Las fuentes S1 y S4 muestran patrones que se asemejan a los de los tumores gliales de alto grado, caracterizados por el predominio de lípidos móviles (0.9, 1.3 ppm).

La fuente S3 es similar a los espectros de tumor glial de bajo grado, en el que hay un aumento en el pico de colina, una disminución en la creatina y el N-acetil aspartato, y un aumento en el pico de mio-inositol / glicina, con respecto al patrón del parénquima cerebral normal. La fuente S2, en cambio, se puede considerar como un artefacto debido a la supresión deficiente del agua, que se puede observar en la señal de agua residual alrededor del intervalo 4.2-5.1ppm.

La figura 10 amplía el alcance y muestra las extracciones de  $K = 4$  a  $K = 8$  (por filas) en TEC. Las fuentes en la columna 2 muestran el artefacto de supresión de agua deficiente, mientras que en la columna 6 se puede observar supresión de agua deficiente e intensidades negativas. Esto debe considerarse como una fuente propia de artefacto, dado que los espectros a TEC no deberían tener valores negativos. La columna 8 muestra una fuente que es compatible con una combinación de artefactos: supresión de agua deficiente y ecos espurios [24].

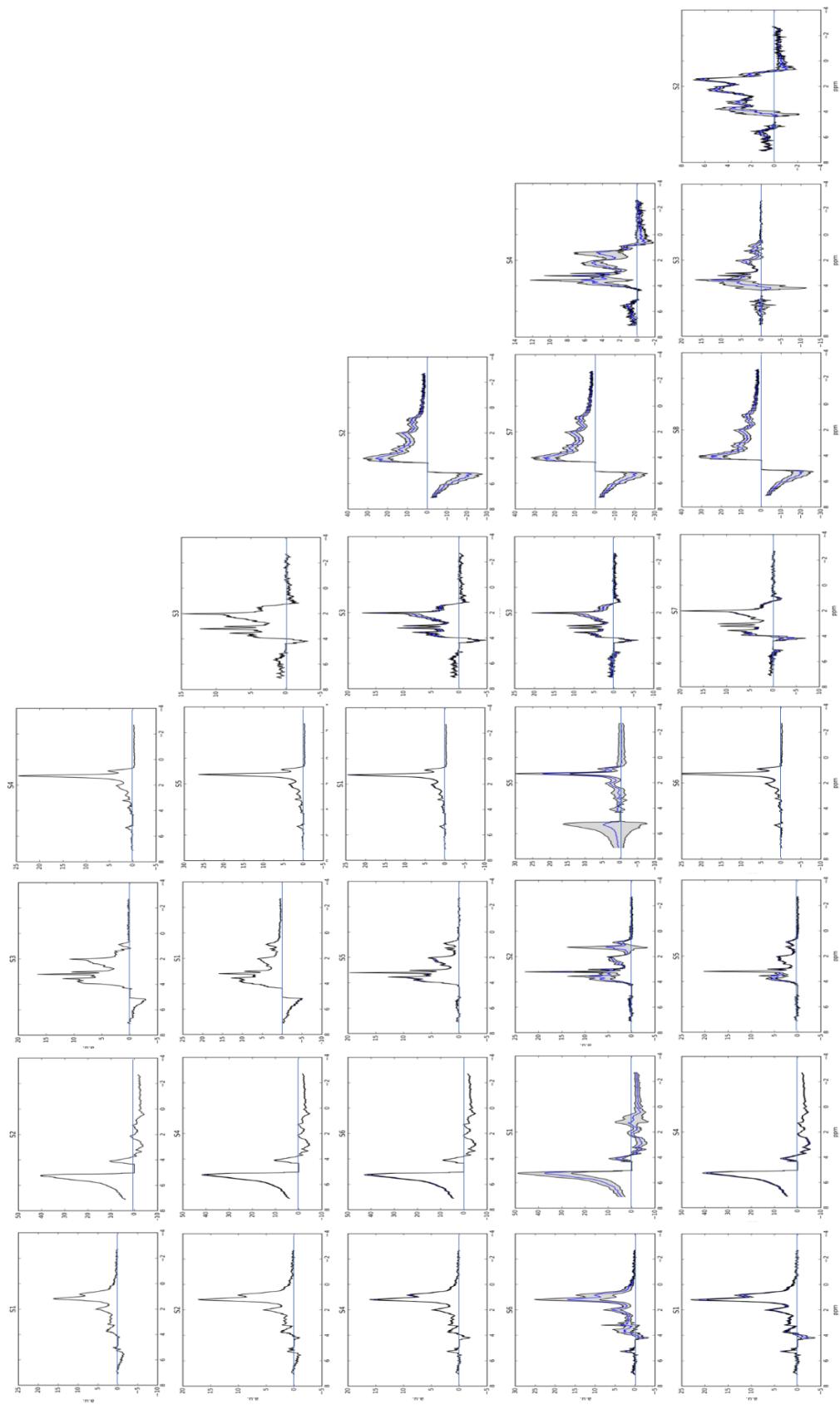
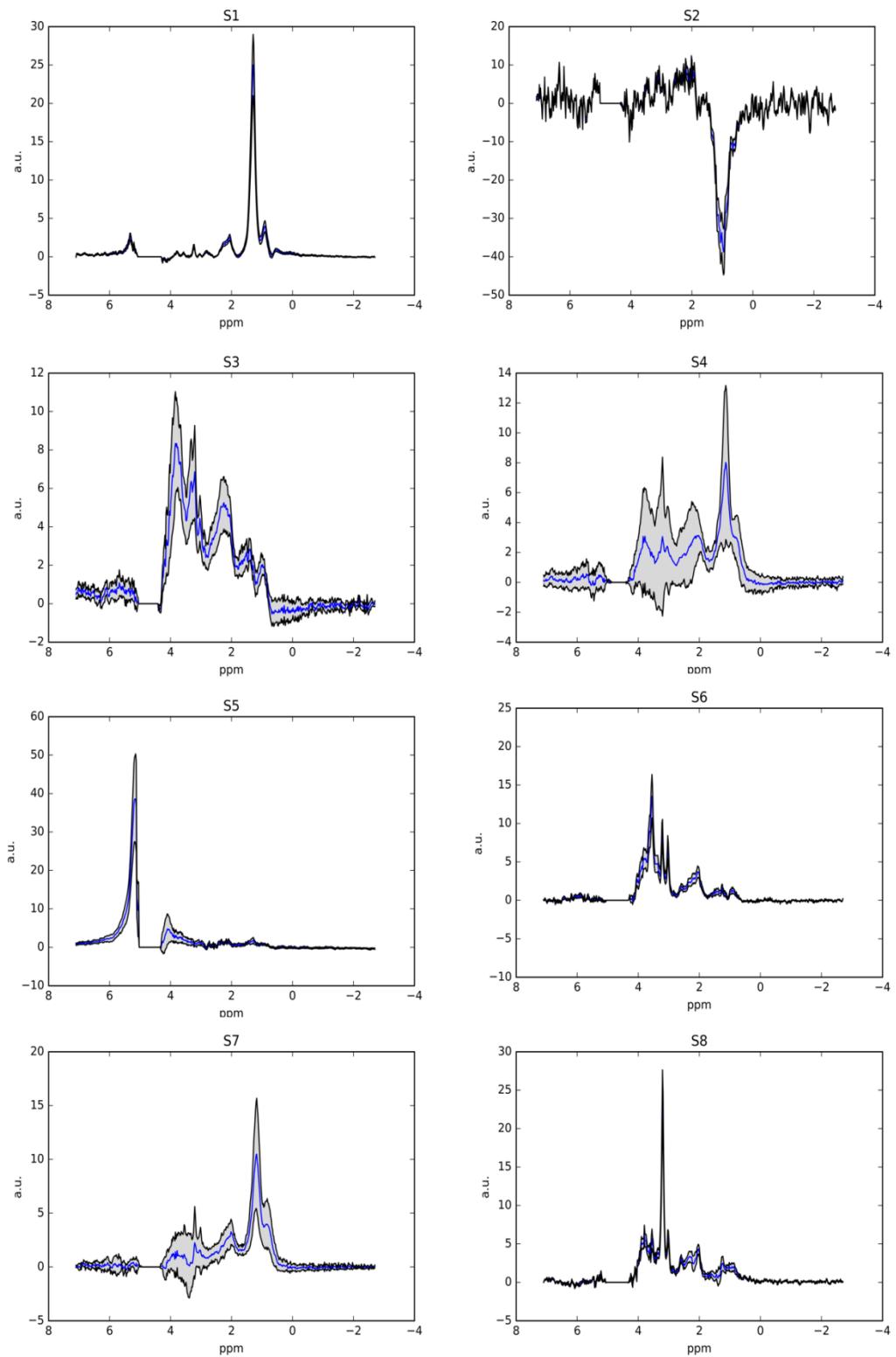
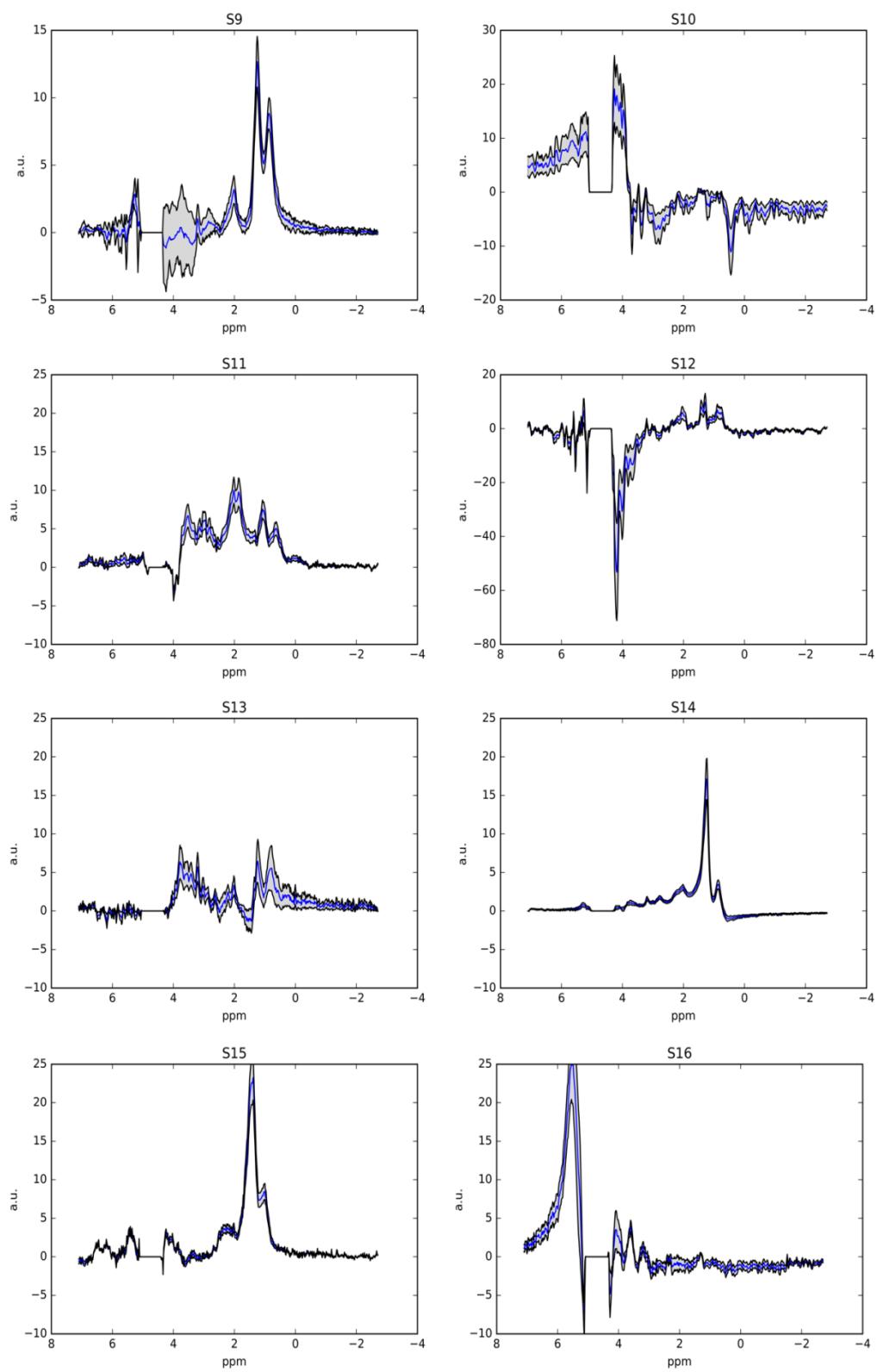


Figura 10. Promedio y DE (+/-) de fuentes extraídas a TEC, para  $K = 4$  a  $K = 8$ , a partir de espectros adquiridos a TEC ( $N = 1180$ ). Cada fila corresponde a una extracción de fuentes diferente, comenzando con  $K = 4$  en la parte superior. Las columnas se organizaron según la similitud de las fuentes. Las columnas 1, 2, 3 y 4 corresponden a fuentes que tienen características similares a las de  $K = 4$ . La línea horizontal azul corresponde al valor cero en el eje y. Otras características, como en la leyenda de la figura 7.

La Figura 11 muestra la extracción para el máximo de veinte fuentes. La Tabla 2 muestra la evaluación consensuada por los espectroscopistas expertos. Se puede observar que las fuentes S1, S4, S7, S9, S14 y S15 son compatibles con tumores de alto grado, lo que está relacionado con la presencia de picos de lípidos móviles a 0.9 y 1.28 ppm. De entre estos, S9 muestra una alta intensidad del pico del metilo a 0.9 ppm lo cual es poco común, compatible con el patrón espectral de algunos oligodendrogliomas [31, 32]. Las fuentes S11, S17 y S18, incluso si aún son interpretables, contienen patrones artefactuales principalmente debido a la insuficiente supresión de agua. S2, S5, S10, S12, S13, S16 y S20 muestran patrones claros de artefactos, y S18 está en el límite entre artefacto y espectro de calidad aceptable.

Parece que el problema en la mayoría de las fuentes extraídas es la mala supresión de agua (S2, S5, S10, S12, S16, S20), a veces sólo en el lado del intervalo de la señal de agua suprimida, que es raramente utilizada para el desarrollo de clasificadores. También se puede observar que más de un artefacto coexiste en algunas fuentes, por ejemplo, baja RSR y ecos espurios (S2, S13). Las fuentes restantes tienen características que coinciden con el tipo de patrón de tipos tumorales conocidos, como en S3 o S18, que son compatibles con meningioma; S6, con glioma de bajo grado; S8, con PNET o astrocitoma grado III, y S19, con cerebro normal. Es importante destacar que todas estas fuentes de patrón de tipo tumoral conocido aparecen constantemente y también muestran poca variabilidad en todas las extracciones ( $K = 4, \dots, 20$ ).





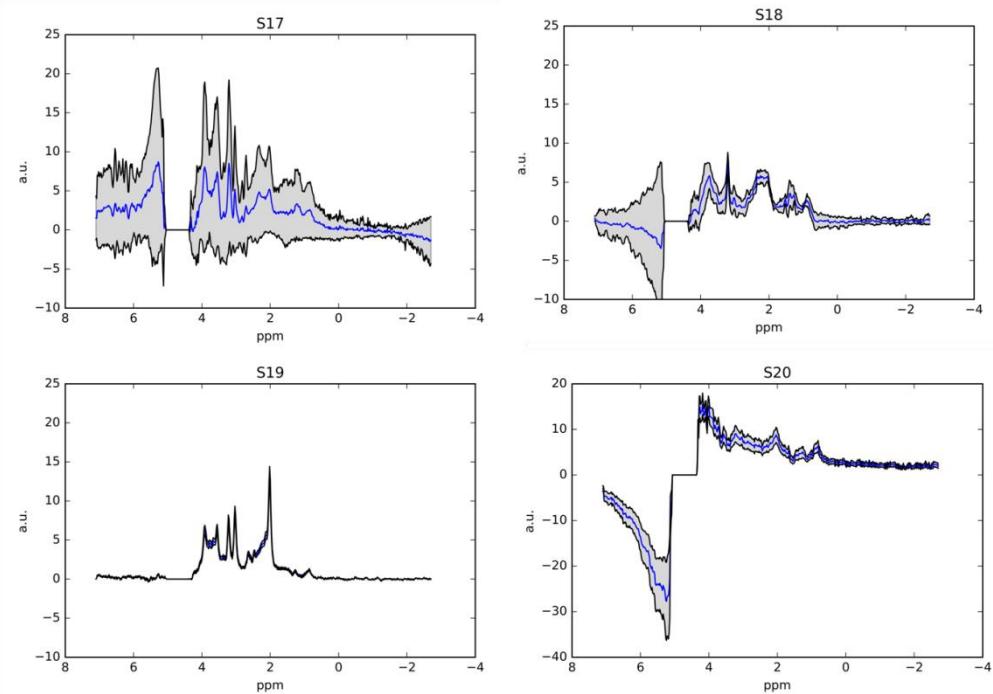


Figura 11. Promedio y  $DE (+/-)$  de las fuentes extraídas para  $K = 20$  de los datos adquiridos a TEC ( $N = 1180$ ) Nuevamente, la media está representada por una línea azul, mientras que la variabilidad descrita como  $DE (+/-)$  está sombreada en gris, delimitada por líneas negras. Otras características, como en la leyenda de la figura 7.

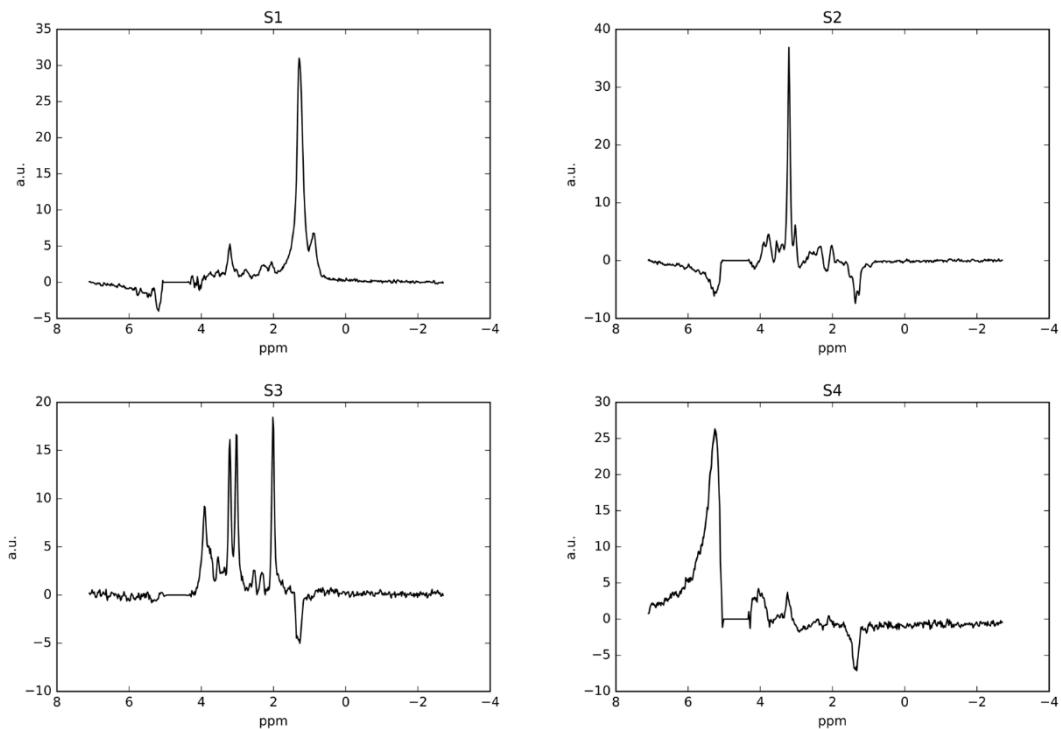
Número de fuente	Evaluación del Consenso de expertos espectroscopistas	Correlación de Pearson > 0.50 al menos con una de las clases comparadas	Distancia Euclídea con todas las clases comparadas, al menos > 100	Número de muestras con CC > 0.75
1	Buena calidad	Si	No	Varias
2	Patrón artefactual	No	Si	Ninguna
3	Buena Calidad	Si	No	Varias
4	Buena Calidad	Si	No	Varias
5	Patrón Artefactual	No	Si	Ninguna
6	Buena Calidad	Si	No	Varias
7	Buena Calidad	Si	No	Varias
8	Buena Calidad	Si	No	Varias
9	Buena Calidad	Si	No	Varias
10	Patrón Artefactual	No	Si	Ninguna
11	Buena Calidad	Si	No	Varias
12	Patrón Artefactual	No	Si	Ninguna

Número de fuente	Evaluación del Consenso de expertos espectroscopistas	Correlación de Pearson > 0.50 al menos con una de las clases comparadas	Distancia Euclídea con todas las clases comparadas, al menos > 100	Número de muestras con CC > 0.75
13	Patrón Artefactual	Si	No	Varias
14	Buena Calidad	Si	No	Varias
15	Buena Calidad	Si	No	Ninguna
16	Patrón Artefactual	No	Si	Ninguna
17	Patrón parcialmente artefactual	Si	No	Ninguna
18	Patrón parcialmente artefactual	Si	No	Varias
19	Buena Calidad	Si	No	Varias
20	Patrón Artefactual	No	Si	Ninguna

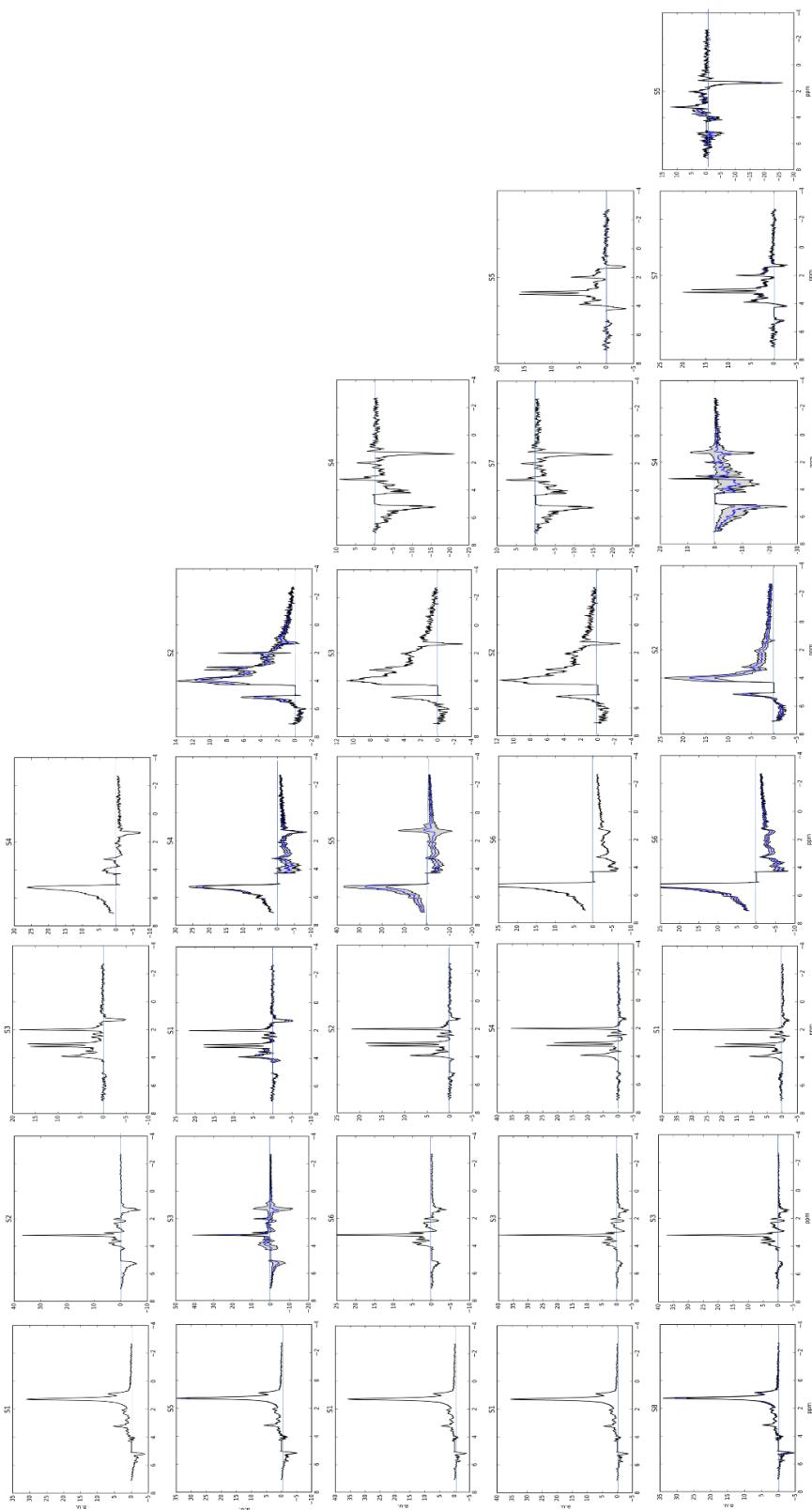
Tabla 2. Resumen de las evaluaciones para la extracción de 20 fuentes, a TEC.

A continuación, se detallan los resultados para los experimentos a TEL. En la figura 12 se muestran los resultados para la extracción  $K = 4$ , donde S1, S2 y S3 presentan patrones de buena calidad, mientras que S4 corresponde claramente a un artefacto de mala supresión de agua. Sin embargo, S1 y S2 también muestran una pequeña contribución de una incompleta supresión del agua. La Figura 13 muestra extracciones de cuatro a ocho fuentes. Se puede observar nuevamente que algunas de las fuentes aparecen consistentemente en las diferentes extracciones y son las menos variables, y que la variabilidad en las soluciones aumenta cuando se extraen más fuentes. La figura 14 muestra la extracción para  $K = 20$  a TEL, donde también se puede apreciar que solo S3, S12 y S13 muestran poca variabilidad, en contraposición al resto de las fuentes. Dicha variabilidad se puede evaluar en detalle en la Figura 15, que muestra, para TEC y TEL, la DE de las diferentes fuentes en forma de diagramas de caja. Estas gráficas refuerzan la evidencia de que la extracción de 4 fuentes es la menos variable, mientras que las soluciones obtenidas con la extracción de 20 fuentes resultan inestables, aunque existen variaciones, por ejemplo, en fuentes TEC, entre baja variabilidad (S19, S11, S13)

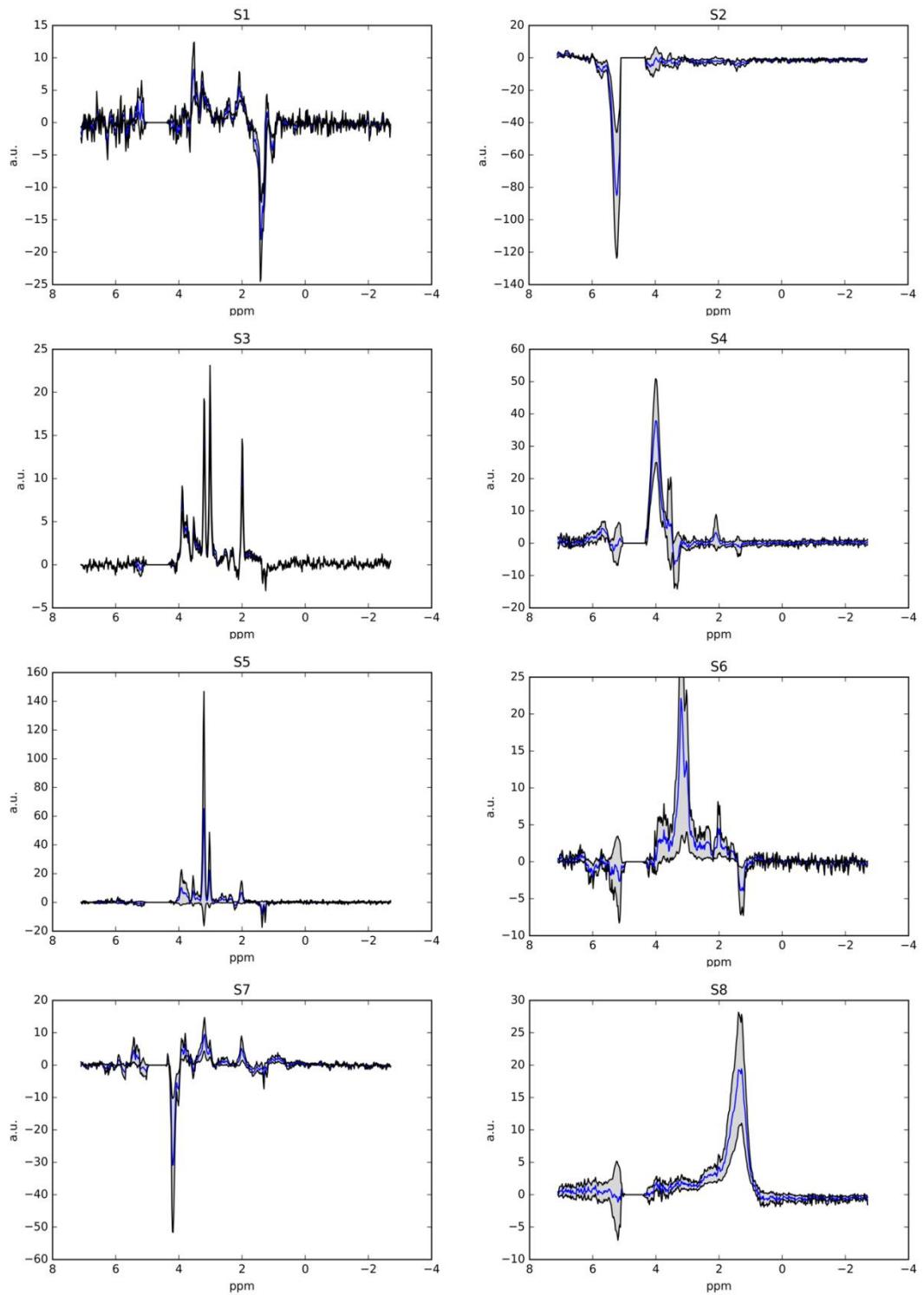
y gran variabilidad (S12, S17, S5, S20). Además, las extracciones a TEC son menos variables que a TEL hecho que puede corroborarse con la DE del conjunto de extracciones de 20 fuentes a TEC es claramente menor que a TEL.

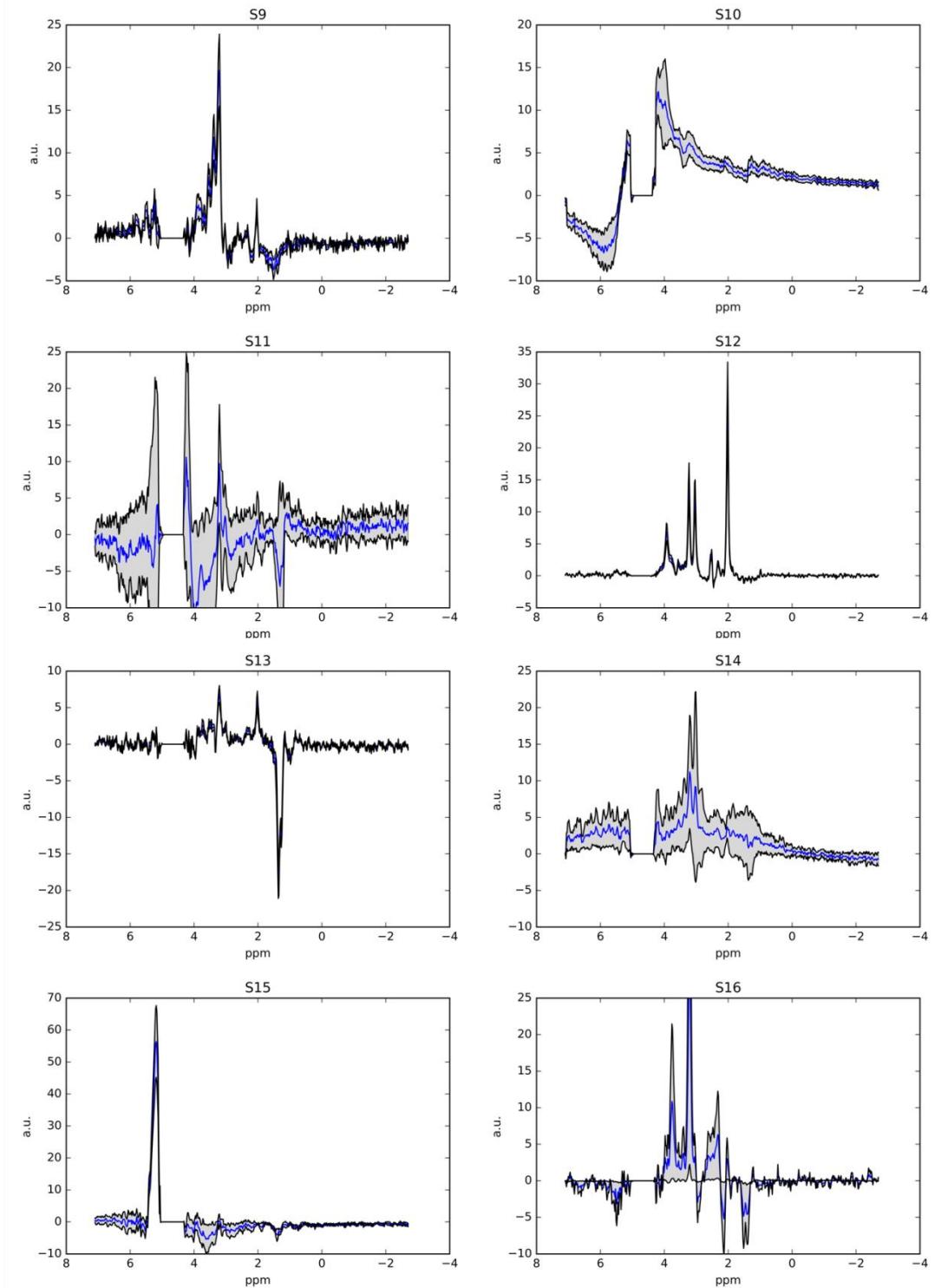


*Figura 12. Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 4$  de los datos adquiridos a TEL ( $N = 977$ ). Otras características como en la leyenda de las figuras 7.*



**Figura 13.** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas de los datos adquiridos a TEL ( $N = 977$ ). Cada fila corresponde a una extracción de fuentes diferente de  $K = 4$  a  $K = 8$ . Las columnas se organizaron nuevamente según la similitud de las fuentes. La línea horizontal azul corresponde al valor cero en el eje y. Otras características como en la leyenda de la figura 6.





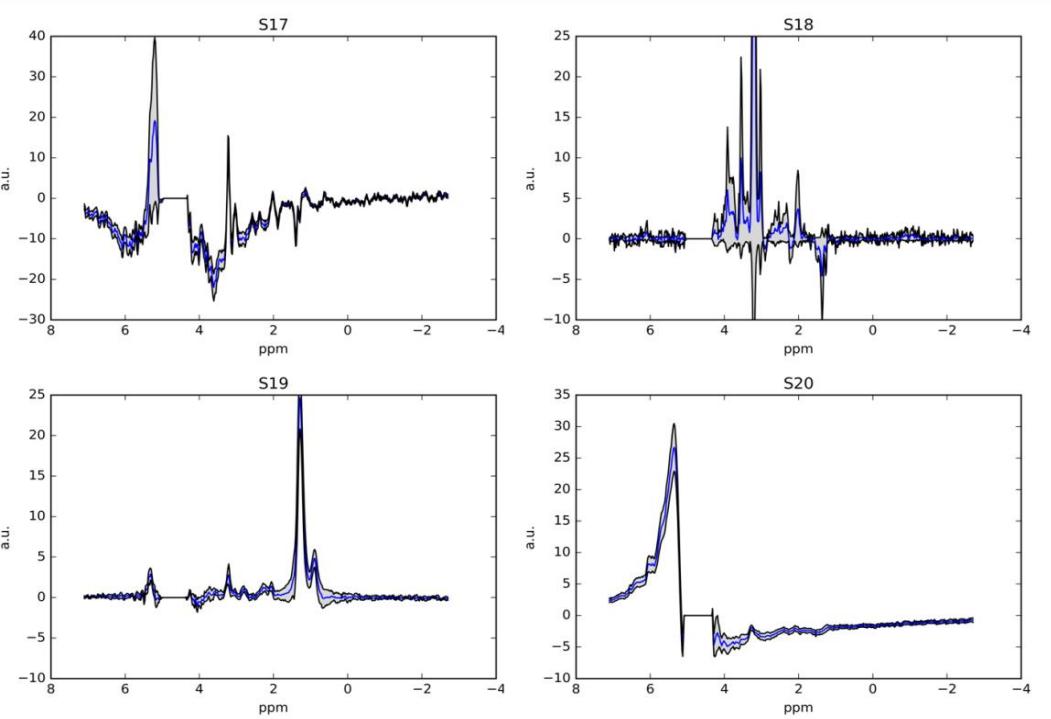


Figura 14. Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 20$  de los datos adquiridos a TEL ( $N = 977$ ). Otras características como en la leyenda de la figura 9.

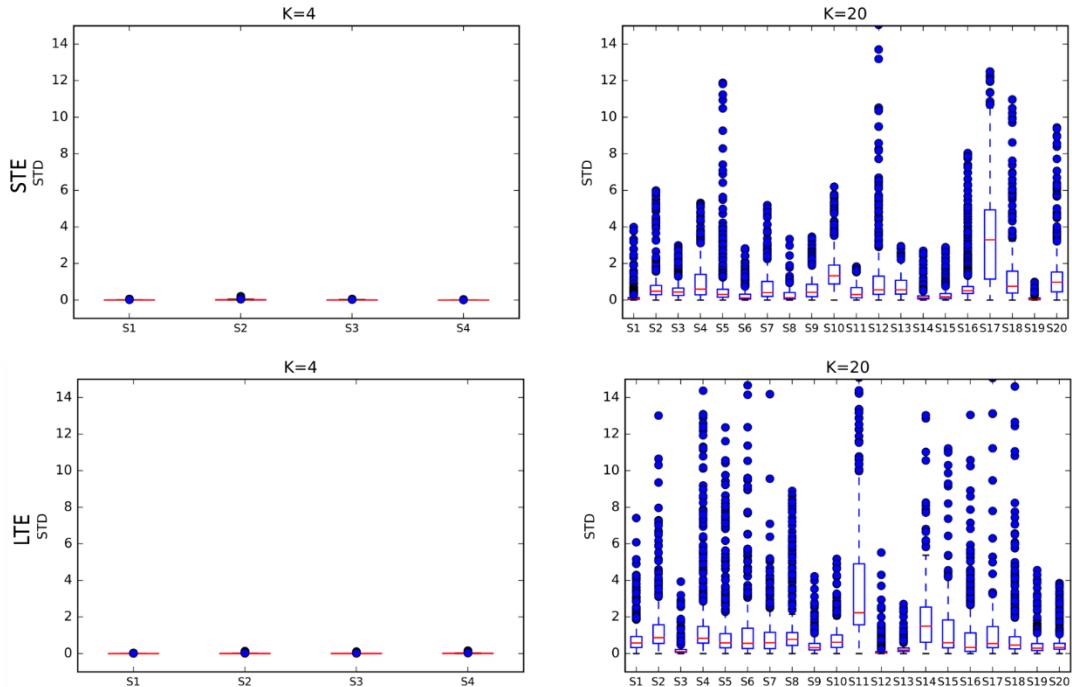


Figura 15. Los diagramas de caja de los valores de DE para las diez repeticiones y para cada una de las fuentes en dos extracciones extremas ( $K = 4$  y  $K = 20$ ) de los datos adquiridos a TEC y TEL. El cuadro se extiende desde el percentil 25% al Percentil 75% de la DE, con una línea en la mediana (percentil 50%). Los bigotes se extienden desde el cuadro para mostrar el rango de los datos, de un máximo a un mínimo. Los puntos atípicos son aquellos que se encuentran el final de los bigotes. La DE se calculó a partir de la matriz en la que hay diez filas (correspondientes a las diez extracciones) y 512 puntos (correspondientes al número de puntos de cada fuente). Tiempo de eco corto (Short time echo, STE); Tiempo de eco largo (Long time echo, LTE).

Las Figuras suplementarias de la A1 a la A22 proporcionan los detalles de la desviación estándar para todas las extracciones en los diferentes TE, donde se puede observar que 4 ó 5 fuentes a TEC y 4 a TEL son óptimas en términos de estabilidad de la fuente. En general, las extracciones a TEC son más estables que a TEL.

Las figuras 16 y 17, para TEC y TEL respectivamente, muestran las correlaciones y las distancias euclidianas entre las fuentes obtenidas en  $K = 20$  y los diferentes espectros promedio de diferentes tipos tumorales de la base de datos INTERPRET, así como los CC. Las tablas 2 y 3 resumen los resultados de los diferentes criterios para  $K = 20$ , para datos adquiridos a TEC y TEL. Como se puede observar, la mayoría de las fuentes de tipo artefactual no se correlacionan ( $\text{Pearson} < 0.5$ ) con al menos uno de los tipos comparados; existe una gran distancia eucliana entre las fuentes y los tipos comparados y no hay muestras con CC superiores a 0.75. Los expertos también consideraron que los patrones mencionados anteriormente eran artefactos o espectros que eran interpretables, pero con presencia de algún tipo de artefacto añadido, en particular para TEC.

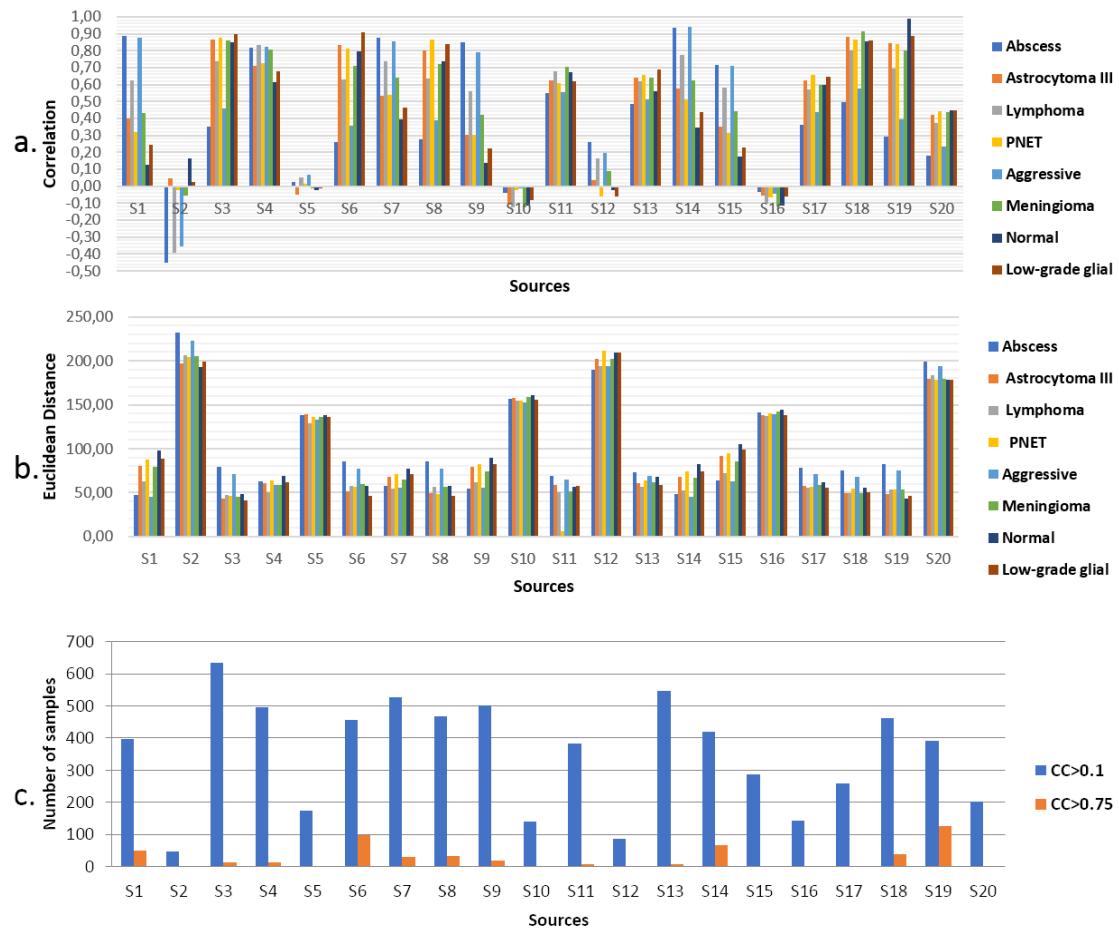


Figura 16. a) Correlación (Correlation), entre las fuentes (sources) extraídas para  $K = 20$  (de los datos adquiridos a TEC) y los espectros promedio de los tipos incluidos en la base de datos validada por INTERPRET [13], donde el eje horizontal corresponde al número de fuente y el eje vertical a los valores de las correlaciones. b) Distancia euclídea (Euclidean distance), entre cada fuente para la extracción  $K = 20$  (de los datos adquiridos a TEC) y espectros promedios de los tipos incluidos en la base de datos validada INTERPRET [13], donde el eje horizontal corresponde nuevamente al número de fuente, mientras que el eje vertical corresponde a distancias euclídea. C) CC de la matriz de mezcla para  $K = 20$ , donde el eje horizontal corresponde al número de fuente y el eje vertical corresponde al número de muestras (Number of samples). Absceso (Abscess), Agresivo (Aggressive), Glial de bajo grado (Low-grade glial).

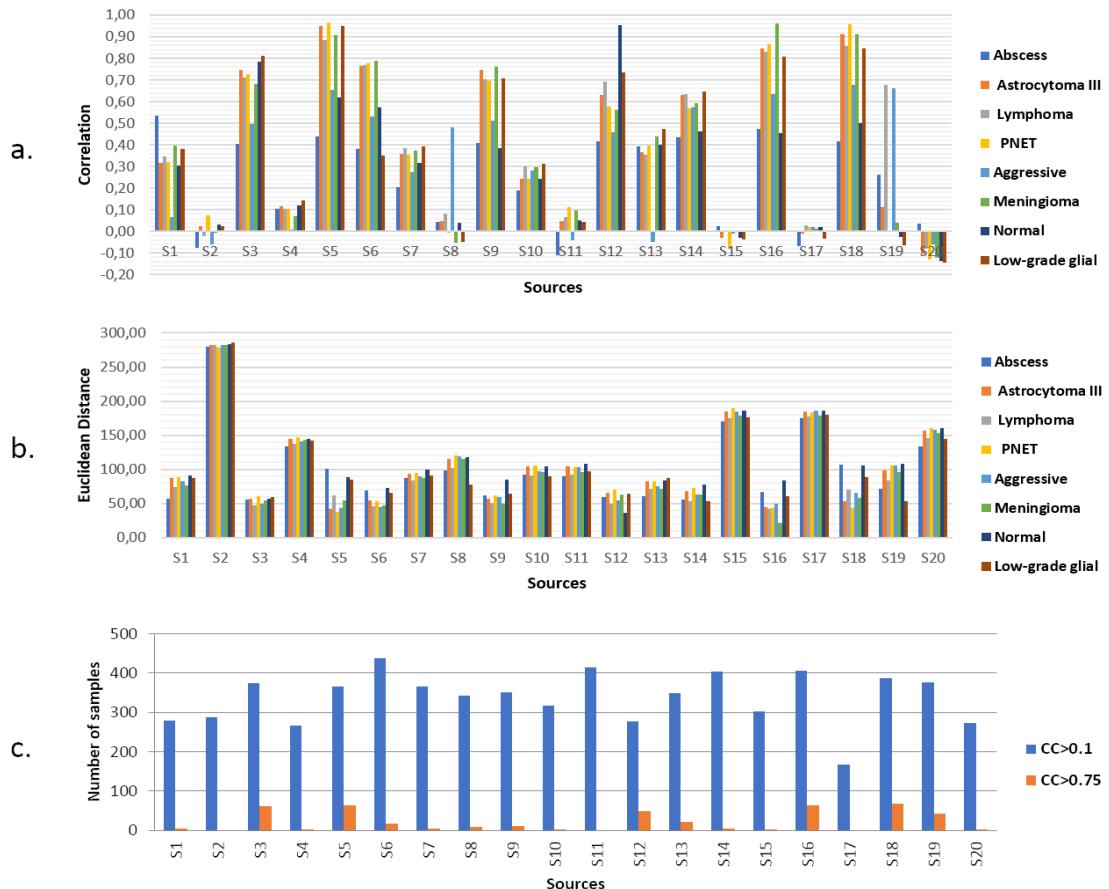


Figura 17. Correlaciones, distancias euclidianas y CC para datos adquiridos a TEL, representados como en la Figura 14.

Número de Fuente	Evaluación consenso de expertos espectroscopistas	Correlación de Pearson > 0.50 al menos con una de las clases comparadas	Distancia euclídea con todas las clases comparadas, al menos > 100	Número de muestras con CC > 0.75
1	Buena calidad	Si	No	Ninguna
2	Patrón Artefactual	No	Si	Ninguna
3	Buena calidad	Si	No	Varias
4	Patrón Artefactual	No	Si	Ninguna
5	Patrón con parte artefactual, fuente demasiado variable para estar seguros	Si	No	Varias
6	Buena calidad, Fuente demasiado variable para estar seguros	Si	No	Varias
7	Patrón parcialmente artefactual	No (cerrado para glial de bajo grado)	No	Varias

Número de Fuente	Evaluación consenso de expertos espectroscopistas	Correlación de Pearson > 0.50 al menos con una de las clases comparadas	Distancia euclídea con todas las clases comparadas, al menos > 100	Número de muestras con CC > 0.75
8	Patrón artefactual	No	Si	Varias
9	Patrón artefactual	Si	No	Varias
10	Patrón Artefactual	No	No	Ninguna
11	Patrón Artefactual	No	No	Ninguna
12	Buena calidad	Si	No	Varias
13	Buena calidad	Si	No	Varias
14	Artefactual pattern, but source too variable to be sure	Si	No	Varias
15	Patrón artefactual	No	Si	Ninguna
16	Patrón con parte artefactual, fuente demasiado variable para estar seguros	Si	No	Varias
17	Patrón parcialmente artefactual	No	Si	Ninguna
18	Patrón con parte artefactual, fuente demasiado variable para estar seguros	Si	No	Varias
19	Buena calidad	Si	No	Varias
20	Patrón artefactual	No	Si	Ninguna

Tabla 3. Resumen de las evaluaciones para la extracción de 20 fuentes, a TEL. Para algunas fuentes, la evaluación es incierta (fuente demasiado variable), porque hay tanta variabilidad que una de las 10 soluciones puede ser el reverso real de la evaluación.

## 2.4 Discusión

En este estudio se trajeron patrones espectrales característicos de modo no supervisado, es decir, en base a la señal obtenida y sin tener en cuenta la calidad instrumental o las etiquetas diagnósticas de tipo de tumor. El enfoque matemático elegido fue CNMF, bajo el supuesto de que los espectros observados son el resultado de una combinación de fuentes de señal no observadas.

Un enfoque alternativo podría haber sido aplicar una técnica de extracción de fuentes como ICA. ICA restringe las fuentes para que sean estadísticamente independientes

entre sí (es decir, la aparición de una no afecta la probabilidad de que ocurra la otra), lo que, en base a estudios previos, parece llevar a fuentes ERM que se parecen poco a los tipos de tejido involucrados [59][60]. Por esta razón, incluso cuando ICA se ha utilizado ampliamente y de manera efectiva en otros problemas tales como la eliminación de artefactos en electroencefalogramas [61], no se consideró como la primera opción para extraer el tipo de artefactos que se pueden encontrar en los datos de ERM. Por otro lado, las restricciones de no negatividad de NMF, conducen a una representación basada en partes porque tan solo permiten combinaciones aditivas, no substractivas. Esta representación basada en partes es clave para explicar el éxito de este método separación de fuentes a ciegas en los datos de ERM. ICA aprende representaciones holísticas (es decir, el todo en lugar de la suma de sus partes) en lugar de representaciones basadas en partes. Entre las variantes de NMF, se eligió usar CNMF ya que: 1) se aplica tanto a las matrices de datos de signo mixto (clave para datos TEL) como no negativas, 2) se ha demostrado que CNMF representa mejor las señales subyacentes en los datos [62], [63] ya que las fuentes son una representación convexa de los datos, y 3) CNMF está obligado a generar matrices de mezcla dispersas (con muchos elementos que toman valores cercanos a cero), propiedad muy útil que puede explotarse en futuros trabajos en el proceso de eliminación de artefactos. El uso de NMF y CNMF para el análisis de ERM ya había sido previamente usado en el campo de la neurooncología [62]–[64]. Estos métodos se han utilizado principalmente para detectar fuentes que pueden estar relacionadas con tipos de tejido específicos dentro y alrededor del tumor.

Aquí, el uso de CNMF tenía objetivos bastante diferentes. Se hipotetizó que, si algunos de los datos analizados de ERM se contaminan por errores en forma de artefactos de diferente tipo, parte de las fuentes extraídas por CNMF deberían reflejar principalmente dichos artefactos, mientras que el resto de las fuentes reflejarían principalmente información intrínseca del tejido. Si se cumple esta hipótesis, se deduce que los datos

de ERM podrían reconstruirse adecuadamente solo a partir de aquellas fuentes que contienen señal verdadera, eliminando las fuentes artefactuales de la reconstrucción.

Como el número de fuentes subyacentes en el conjunto de datos no se conoce *a priori*, se realizó un estudio descriptivo extrayendo de cuatro a veinte fuentes diferentes a partir de los espectros disponibles. Téngase en cuenta que los criterios para elegir el número más apropiado de fuentes pueden basarse en medidas estrictamente cuantitativas, en la interpretabilidad radiológica de las fuentes extraídas o en una mezcla de ambos enfoques. Este no era el objetivo del estudio y, por lo tanto, el número óptimo de fuentes queda pendiente de ser determinado. Para abordar este problema, por ejemplo, Laruelo [65] utilizó *vertex component analysis* [66], mientras que Vilamala *et al.* utilizaron la variante Bayesiana del NMF [67] y en [68] los autores propusieron un enfoque para descartar automáticamente fuentes irrelevantes durante el proceso iterativo de descomposición de matrices. Sin embargo, en términos de estabilidad de extracción de la fuente y de acuerdo con los resultados que se muestran en esta tesis, las elecciones de  $K = 4 - 5$  para TEC y  $K = 4$  para TEL parecen óptimas para representar las principales clases de tejidos y artefactos.

Los experimentos se llevaron a cabo en la mayor base de datos de pacientes con tumor cerebral SV ERM multicéntrico disponible hasta la fecha. Los resultados mostrados en la sección anterior indican claramente que algunas de las fuentes aparecen consistentemente en todas las extracciones, sin importar el número de fuentes extraídas, correspondiendo a patrones espectrales. Los patrones artefactuales son en su mayoría diferentes variantes de mala supresión de agua, así como baja RSR. El artefacto de mala supresión de agua es el más llamativo y aparece incluso en la extracción de sólo cuatro fuentes. En un trabajo reciente de Kyathanahally *et al.* [69], se usó una red neuronal convolucional (RNC, una variante del modelo de aprendizaje profundo) para detectar el denominado artefacto fantasma o *ghost artifact* [24], que es muy difícil de clasificar con métodos supervisados. Los espectros que se han usado en

este trabajo ya estaban definidos en el dominio de la frecuencia, por lo que un análisis detallado de la causa de cada artefacto estaba fuera del alcance de esta tesis. Además, el conjunto de datos que se usó contiene una amplia variedad de artefactos, a veces más de uno en cada espectro (por ejemplo, mala supresión de agua y *ghost artifact*), en contraste con [69], donde los autores usaron espectros simulados y espectros de voluntarios *in vivo* en los que, a propósito, el único artefacto era el *ghost artifact*. Queda por probar si un enfoque de aprendizaje profundo también sería tan bueno como el CNMF para perseguir otros tipos de artefactos, aunque, en cualquier caso, ambos enfoques parecen ser complementarios. El trabajo reciente de Gurbani *et al.* [70], usando RNC, parece sugerirlo, ya que su algoritmo fue capaz de seleccionar patrones de artefactos de diferentes orígenes con una eficiencia notable (AUC de 0.95 en el conjunto de test). Su conjunto de datos estaba compuesto por 8,894 espectros, pero de solo nueve pacientes.

Una de las hipótesis en nuestro estudio fue que algunas de las fuentes extraídas por CNMF deberían reflejar principalmente artefactos conocidos, mientras que el resto de las fuentes reflejarían principalmente información verdadera de los tejidos. Los resultados presentados en las figuras 9 - 14 apoyan esta hipótesis en gran medida, dado que las fuentes artefactuales se identificaron fueron caracterizadas fácilmente por expertos en espectroscopía. Además, estas fuentes aparecieron consistentemente con pequeñas variantes en cada repetición de las extracciones de 4 a 20 fuentes. Y lo que es más importante, las medidas cuantitativas respaldan las propuestas de los expertos. Los resultados de los datos adquiridos a TEC mostrados en la Figura 11 proporcionan una imagen detallada de las 20 fuentes extraídas: S2, S5, S10, S12 y S16, identificadas como artefactuales, tienen correlaciones muy bajas y distancias euclidianas altas correspondientes con todos los tipos incluidos en las bases de datos (tumores, abscesos y tejido normal). También muestran valores bajos de CC, lo que es consistente con el hecho de que solo tienen una contribución importante en un número limitado de

espectros. Por otro lado, las fuentes no artefactuales muestran correlaciones generales altas y distancias euclídeas bajas. Además, algunas fuentes muestran alta correlación con patrones espectrales. Por ejemplo, S1, S7, S9, S14 y S15 muestran alta correlación con abscesos y tumores agresivos, mientras que en S19 la correlación es con tejido normal. Téngase en cuenta que los valores de CC ofrecen una visión más interesante: aquellas fuentes con el mayor número de valores sobre el umbral 0.75 son precisamente las menos variables y mejor definidas, correspondiéndose bastante bien con los tipos tumorales de la base de datos. Se podría presentar un análisis similar para los datos adquiridos a TEL, pero se omite aquí en aras de la brevedad.

Cuando solo se extraen unas pocas fuentes, es más probable que sean combinaciones de fuentes más básicas y estas combinaciones tienden a dividirse en componentes aún más básicos a medida que aumenta el número de fuentes extraídas. En relación a esto, encontramos que la inestabilidad de las fuentes aumentó globalmente a medida que se aumentó el número de fuentes extraídas. Esto no es sorprendente, ya que la incertidumbre de los resultados está destinada a aumentar de manera proporcional al número de fuentes cuando el número de espectros sigue siendo el mismo. Sin embargo, téngase en cuenta que esta variabilidad no es de ninguna manera homogénea sobre las fuentes extraídas, y algunas de ellas muestran una variabilidad muy baja. Además, algunas fuentes muestran una gran variabilidad en algunos rangos de frecuencia y una baja variabilidad en otros. Esto es visualmente claro en las Figuras 9 - 14, pero también cuantitativamente a través de los diagramas de caja de la Figura 15. Las fuentes artefactuales tienen, en general, más variabilidad. La razón probable de este resultado es que dichas fuentes están presentes tan solo en un número limitado de espectros y tienen una influencia muy limitada sobre el resto. Algunas de las fuentes no artefactuales también muestran una gran variabilidad, lo que podría ser un signo de su bajo impacto en la señal general.

En el pasado, la mayoría de los esfuerzos dirigidos hacia el control de calidad de los datos de ERM se han basado en enfoques supervisados, que se sabe que tienen algunas limitaciones. Cada espectro siempre ha sido tratado como de buena calidad o de mala calidad. Es decir, un espectro de mala calidad sería considerado como tal, independientemente de la causa (el artefacto) y la magnitud del problema; como un ejemplo extremo, un espectro con fase ligeramente mala podría terminar en la misma categoría que un espectro con un nivel extremadamente alto de ruido; o uno con mala supresión de agua y un problema muy importante con la fase, así como con pequeños picos en la región de frecuencia de interés; o bien con múltiples artefactos a un mismo tiempo. Por lo tanto, una limitación de este enfoque es el hecho evidente de que el etiquetado depende de expertos, y diferentes expertos pueden definir diferentes umbrales para aceptar un espectro en función de su calidad [13], [53], [54] pero nunca en una manera sistemática. Sin embargo, el hecho siempre ha sido debidamente reconocido en todos los estudios previos (por ejemplo, en [51], para citar solo un estudio reciente).

Otra limitación relacionada con los enfoques supervisados es la mera existencia de una diversidad de artefactos, que van desde una baja RSR hasta una mala supresión de agua, efecto fantasma, fases malas o imperfectas. Kyathanahally *et al.* demuestran este hecho gráficamente en la Figura 1 de su publicación [51], donde se puede ver que las medias y las desviaciones estándar de los espectros de buena calidad y los espectros de mala calidad se superponen claramente, haciendo que enfoques como los basados en LDA sean inadecuados para la tarea, lo que es un hecho conocido desde trabajos muy incipientes [26], donde se empleó un clasificador discriminante cuadrático en su lugar.

Los enfoques supervisados, en fin, requieren una configuración de etiquetado simplificada a la que no se limita un enfoque no supervisado como es el que permite CNMF. Por esta razón, los clasificadores sofisticados como los de la familia de

aprendizaje profundo [70] sólo son adecuados para un entorno tan simplificado, en el que pueden lograr resultados muy competitivos. Sin embargo, se debe tener precaución, ya que los métodos de aprendizaje profundo sólo están destinados a proporcionar una ventaja clara en entornos ricos en datos, que son poco comunes en el dominio ERM. Un ejemplo de ello son los excelentes resultados obtenidos recientemente por clasificadores alternativos en un entorno similar [51] sin recurrir a arquitecturas de modelos profundos, sino a un método de muestreo y aumento de datos (RUSBoost [71]) específicamente adaptado a conjuntos de datos con desequilibrio de proporción de clases.

Un hallazgo inesperado de nuestro estudio ha sido que, cuando hay un número suficientemente alto de fuentes, comenzamos a observar patrones que son en parte utilizables y en parte artefactuales (por ejemplo, ver Figura 11, TEC, fuente 18). De hecho, para 20 fuentes extraídas a TEC, parece haber una coincidencia total cuando los expertos consideran una fuente como artefactual y, 1) su correlación de Pearson con al menos una de las clases comparadas es mayor que 0.50, 2) la distancia euclídea entre esta fuente y todos los promedios de las diferentes clases es inferior a 100 y, 3) ninguno de los espectros en la base de datos tiene un CC superior a 0,75. Sin embargo, los resultados para TEL no son tan claros, principalmente porque hay algunos ejemplos de estas "fuentes parcialmente artefactuales". En conjunto, la evaluación de las fuentes usando tres medidas cuantitativas diferentes parece ser un enfoque válido, ya que en artefactos bien definidos todas las medidas estarían de acuerdo, mientras que en espectros parcialmente válidos podría haber desacuerdo entre dichas medidas, en caso de que se establezca un umbral para la decisión.

Gurbani *et al.* [70] utilizaron un enfoque llamado GRAD-cam [72], y pudieron identificar que las regiones más artefactuales (aproximadamente [0, 1.6] y [3.7, 4.5] ppm) estaban fuera de las principales regiones de metabolitos interesantes. A pesar de que sus espectros tienen un rangopectral más estrecho que el nuestro ([0, 4.5] ppm frente a

[-2.7, 7.1]), sus resultados apuntan a que su RNC puede reconocer al menos una mala supresión de agua y una mala homogeneidad, aunque se había realizado la exclusión de espectros con un *linewidth* del metabolito superior a 18 Hz antes del experimento.

El hecho de que los métodos de NMF “recogen” tanto artefactos, como patrones metabólicamente interesantes, se conoce desde la primera aplicación de esta técnica a los datos de ERM de humanos (Figura 9 en la referencia [43]), y recientemente se ha corroborado (Figura 7 en referencia [65]). Sin embargo, este hecho generalmente se pasa por alto, aparte de la necesidad de deshacerse de los artefactos. Una estrategia simple utilizada por Sajda *et al.* [43] fue eliminar las fuentes artefactualas (reconocidas por los espectroscopistas expertos) de los análisis posteriores mediante un procedimiento de enmascaramiento. Otro enfoque útil cuando la detección de artefactos no es el objetivo principal es descartar espectros de mala calidad antes de realizar el análisis de los datos, por ejemplo, utilizando criterios de umbral bien establecidos como en las referencias, [27], [29], [37], [47], [48] y/o utilizando áreas de picos integradas y seleccionando las intensidades de metabolitos [49], [50].

En cuanto a los resultados de este capítulo, se ha demostrado que, los artefactos son conspicuos, y aparecen de manera indefectible cuando se solicita incluso el menor número de fuentes ( $K = 4$ ). En este sentido, los métodos no supervisados, tales como CNMF se revelan como herramientas poderosas para este tipo de conjuntos de datos no balanceados (un alto número de espectros de buena calidad y un bajo número de espectros de mala calidad), para lo cual la adopción de un esquema de sobremuestreo para los espectros de mala calidad [19], [43] es aconsejable para que los enfoques supervisados funcionen de manera óptima.

## **Capítulo 3.**

### **3.1 Introducción**

En el capítulo anterior se ha demostrado que mediante un enfoque no supervisado (CNMF), basado en extracción de fuentes o patrones característicos, es posible aislar y caracterizar los artefactos principales de un conjunto de datos de ERM de voxel único, a partir de la mayor base de datos descrita hasta la fecha de ERM de tumores cerebrales, sin necesidad de ningún experto espectroscopista. Además, se ha visto que pueden usarse parámetros numéricos derivados de la extracción de dichos patrones con el objeto de determinar cuáles son artefactuales y cuáles no lo son.

En este capítulo se decidió avanzar un paso más y nos planteamos si sería posible reconstruir cada uno de los ERM obviando la fuente artefactual. ¿Qué aspecto tendrían los espectros reconstruidos? ¿Serían representativos de la patología del paciente en el que fueron adquiridos? La figura 18 ejemplifica el propósito de este capítulo, con un símil de imagen. En el área de procesamiento de imagen dicho objetivo constituye un área específica de investigación. Se pueden encontrar una gran variedad de artefactos como el ruido, solapamiento, movimiento, truncamiento, desplazamiento de bandas laterales u otros en las imágenes, que se originan bien en los dispositivos de captación de imágenes, bien por causas externas, como por ejemplo los artefactos que se han tratado en el capítulo 2. En el área de las imágenes existen múltiples técnicas para eliminar los artefactos. Algunos ejemplos son:

1. El filtrado bilateral [73] capaz de preservar los bordes de la imagen y disminuir el ruido en regiones uniformes.
2. Con el filtro gausiano [74] se logra un suavizado de la imagen, pero a costa de la reducción o eliminación del ruido, se corre el riesgo de perder una gran cantidad de detalles de la imagen.

3. El filtro mediana [75] es muy efectivo para eliminar ruido (sal y pimienta) y preservar los bordes.
4. Filtrado de frecuencia con la transformada rápida de Fourier para reducir artefactos de banda [76].

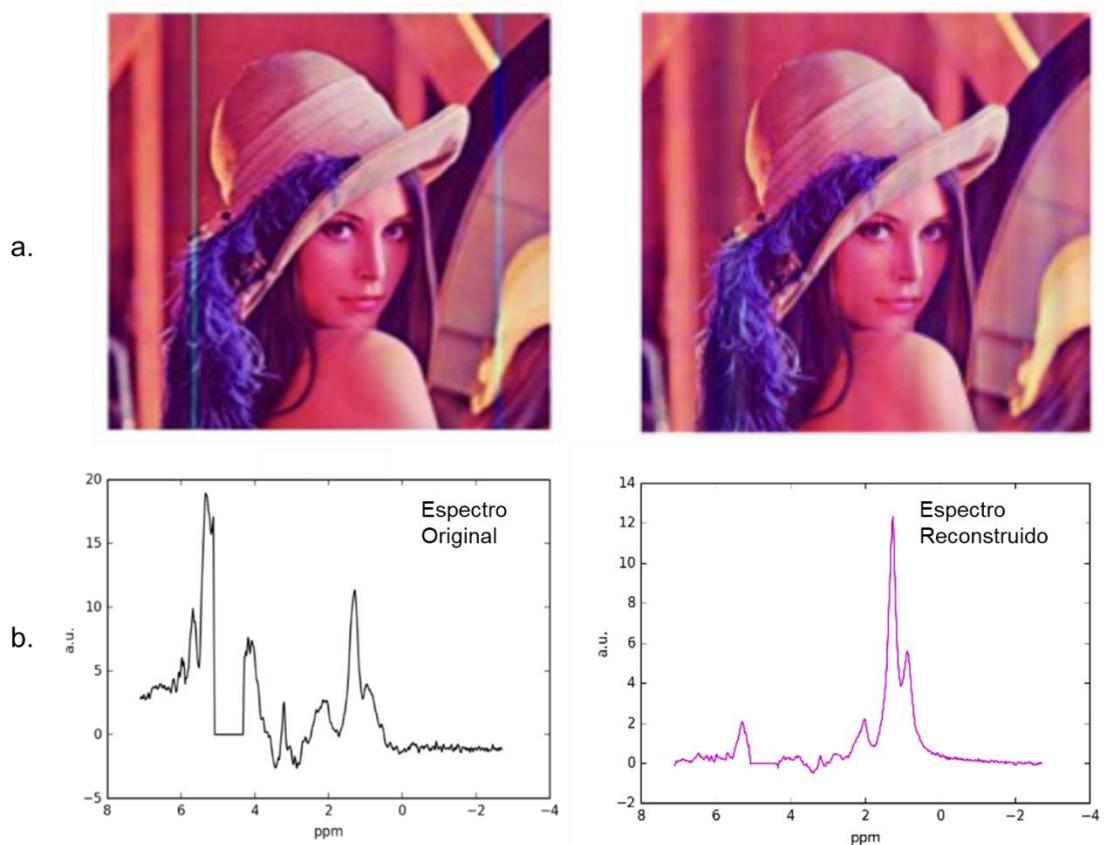


Figura 18. a. Izquierda, imagen de Lena con artefacto (líneas azules verticales). Derecha, imagen de Lena reconstruida sin el artefacto. Adaptado de [76] .b. Izquierda, imagen de un espectro con artefacto (mala supresión de agua). Derecha, imagen de un espectro reconstruido sin el artefacto.

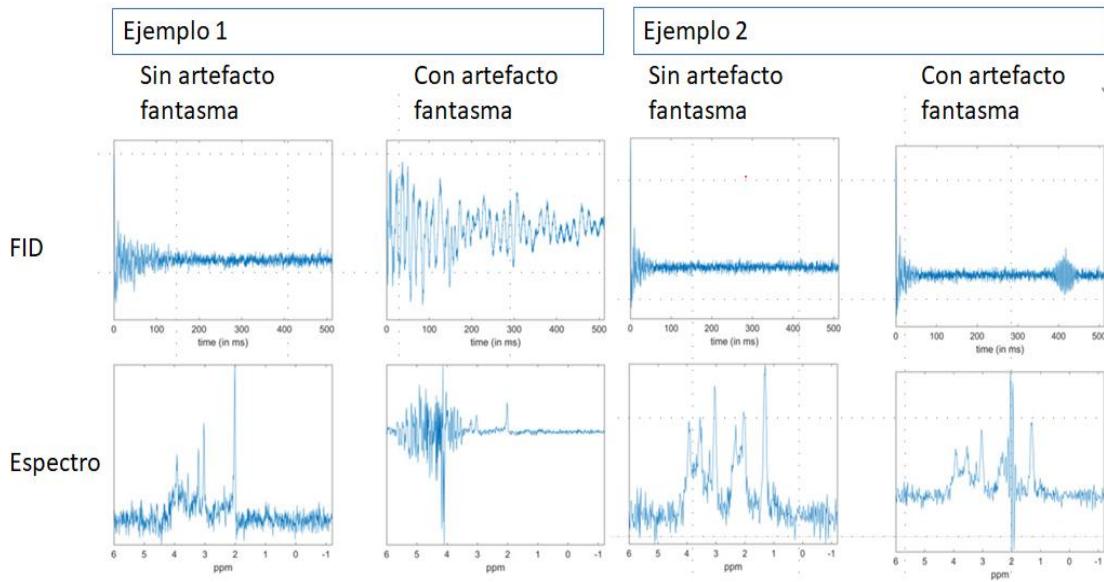
En el área de ERM, están surgiendo algunas iniciativas muy recientes al respecto de la reconstrucción de la señal espectral, principalmente centradas en la eliminación del ruido o de algún tipo específico de artefacto.

Existe un primer trabajo [69], en el que Kyathanahally y colaboradores usaron estrategias basadas en aprendizaje profundo con el objetivo de eliminar un tipo concreto de artefacto, concretamente el conocido como “artefacto fantasma”. Para ello los autores usaron un conjunto de datos simulado (Figura 19 Panel A) con 20.000 espectros de

entrenamiento y 10.000 de test, que contenía datos con artefacto fantasma, para entrenar un sistema de detección de dichos artefactos. El mismo sistema se usó para eliminar el artefacto y reconstruir cada una de las señales, en el conjunto de espectros simulados y en los espectros de 30 voluntarios (Figura 19 Panel B). A partir de aquí, las publicaciones han evolucionado en dos frentes, el primero usando técnicas de post-procesamiento avanzadas, como la prepublicación de [77], que tiene por objeto eliminar el artefacto fantasma. El segundo frente de esfuerzos aparecidos recientemente en la literatura se centra en el uso de redes neuronales y aprendizaje profundo, como el trabajo de Lee y colaboradores [78], en que se simularon datos a 9,4 T de voxel único a partir de datos reales adquiridos en 11 ratas, y se entrenó una red neuronal “U-net” para reconstruir espectros con la FID truncada. Como se puede observar, dichos enfoques son extremadamente demandantes de datos, con lo que los trabajos publicados han adoptado el enfoque de Kyathanahally, generando grandes cantidades de datos simulados con los que entrenar las redes neuronales profundas.

El enfoque de esta tesis es contrapuesto a los trabajos mencionados, en los que se parte de unas condiciones extremadamente controladas y básicamente artificiales. En primer lugar, en el trabajo que se presenta a continuación en el presente capítulo, se parte de una base de datos adquirida en pacientes reales, y muy diversa en cuanto a condiciones de adquisición y patrones espectrales. También en cuanto a tipologías de artefactos: en el conjunto de datos principalmente hay artefactos de mala supresión de agua, pero también deficiente RSR, artefactos fantasma o deficiente ajuste de la fase. A pesar de tratarse del conjunto de datos de ERM de voxel único de tumores cerebrales mayor que ha sido publicado, el número de datos es insuficiente para entrenar con garantías modelos basados en aprendizaje profundo. Por otro lado, la diversidad de patrones y artefactos es propicia a un enfoque basado en CNMF, y constituye un paso natural derivado del enfoque ensayado en el capítulo 2.

**A:**



**B:**

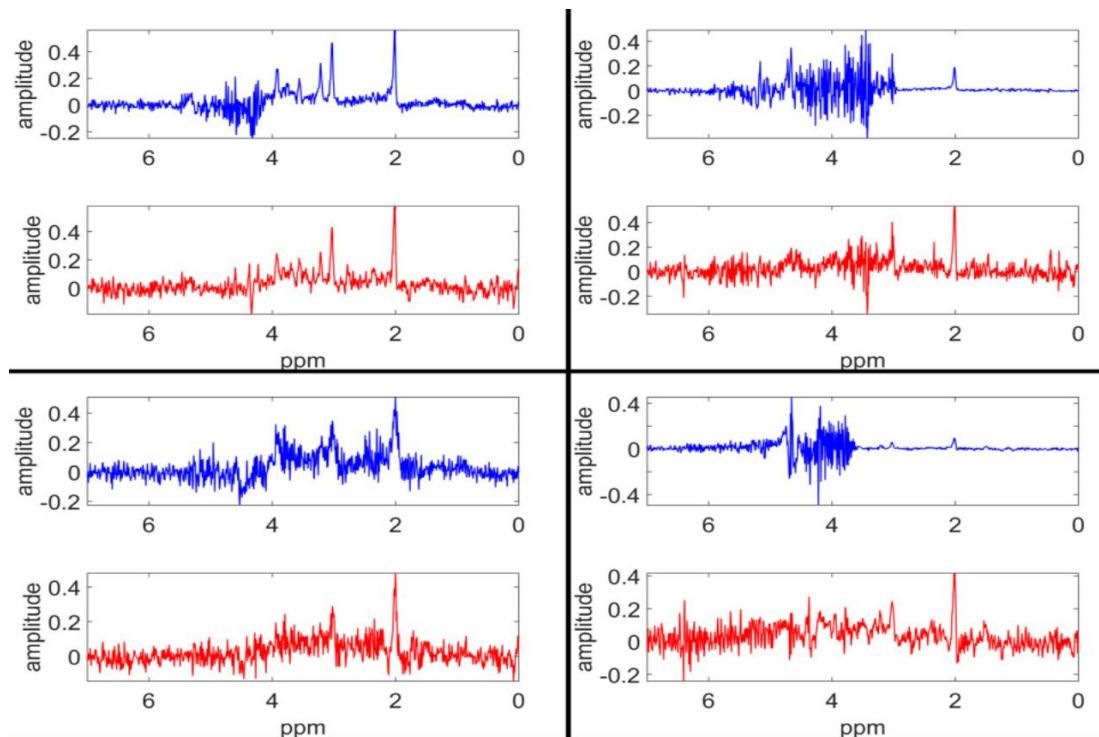


Figura 19. Adaptada a partir de la referencia [69]. Panel A: Se muestran dos ejemplos de espectros simulados con artefacto fantasma en distintas frecuencias sobre distintos patrones espectrales. Panel B: Resultados de la reconstrucción en 4 casos reales de pacientes, en azul espectros con el artefacto fantasma y en rojo espectros reconstruidos sin artefacto.

## **3.2 Materiales y métodos**

Los datos ERM y procesamiento de las señales ERM de este capítulo son los descritos en el Capítulo 2.

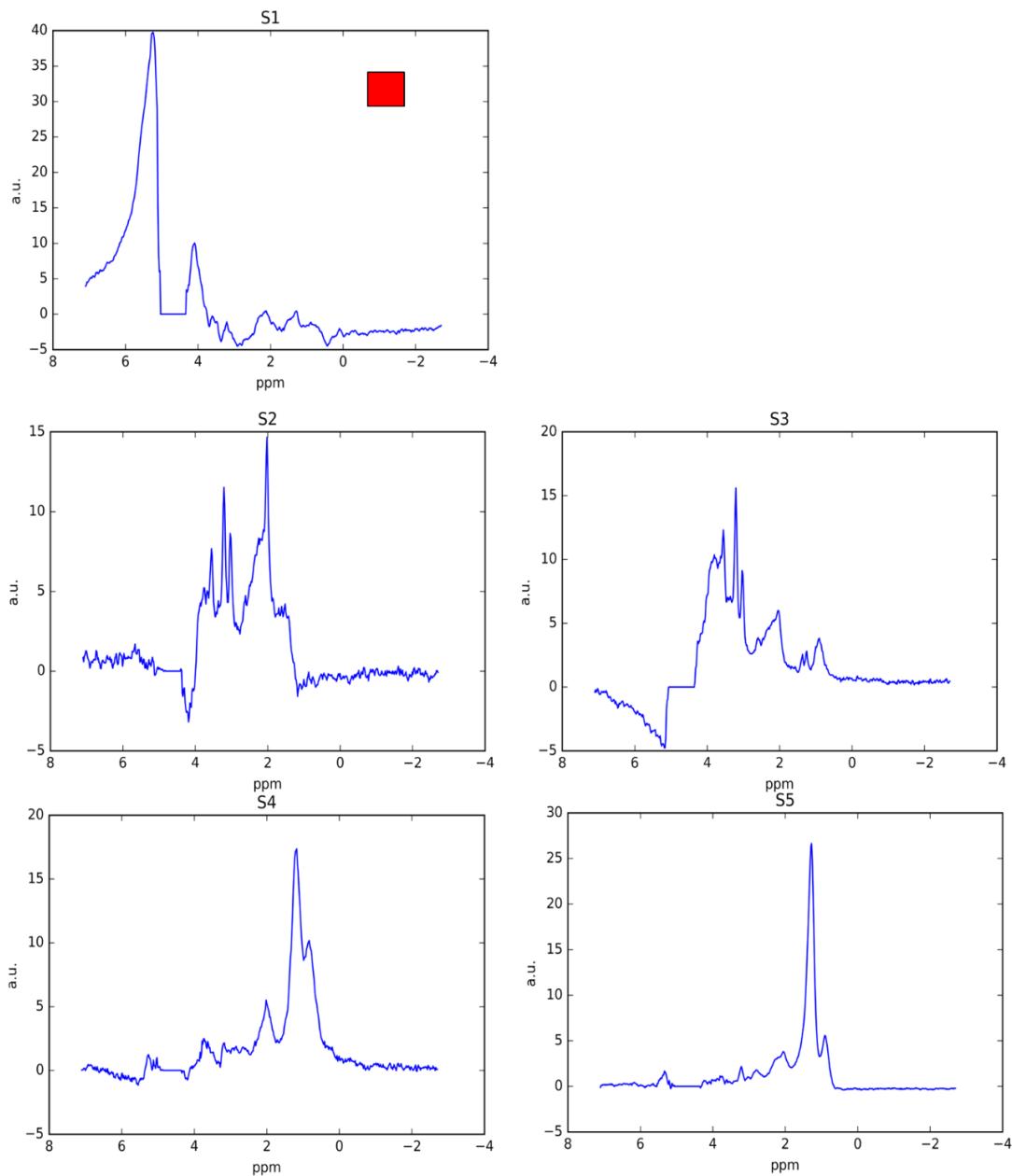
### **3.2.1 Diseño del estudio**

Este estudio se ha realizado usando sólo los datos a TEC. Como se ha descrito en el capítulo 2 [79], para los datos a TEC se extrajeron de cuatro a veinte fuentes usando CNMF. Recuérdese que, al aumentar el número de fuentes, comienzan a aparecer patrones correlacionables con tipos/subtipos tumorales, así como patrones artefactuales, aunque también aumenta la variabilidad de los conjuntos de fuentes resultantes. Por tanto, para realizar los experimentos de filtrado se optó por escoger extracciones particulares.

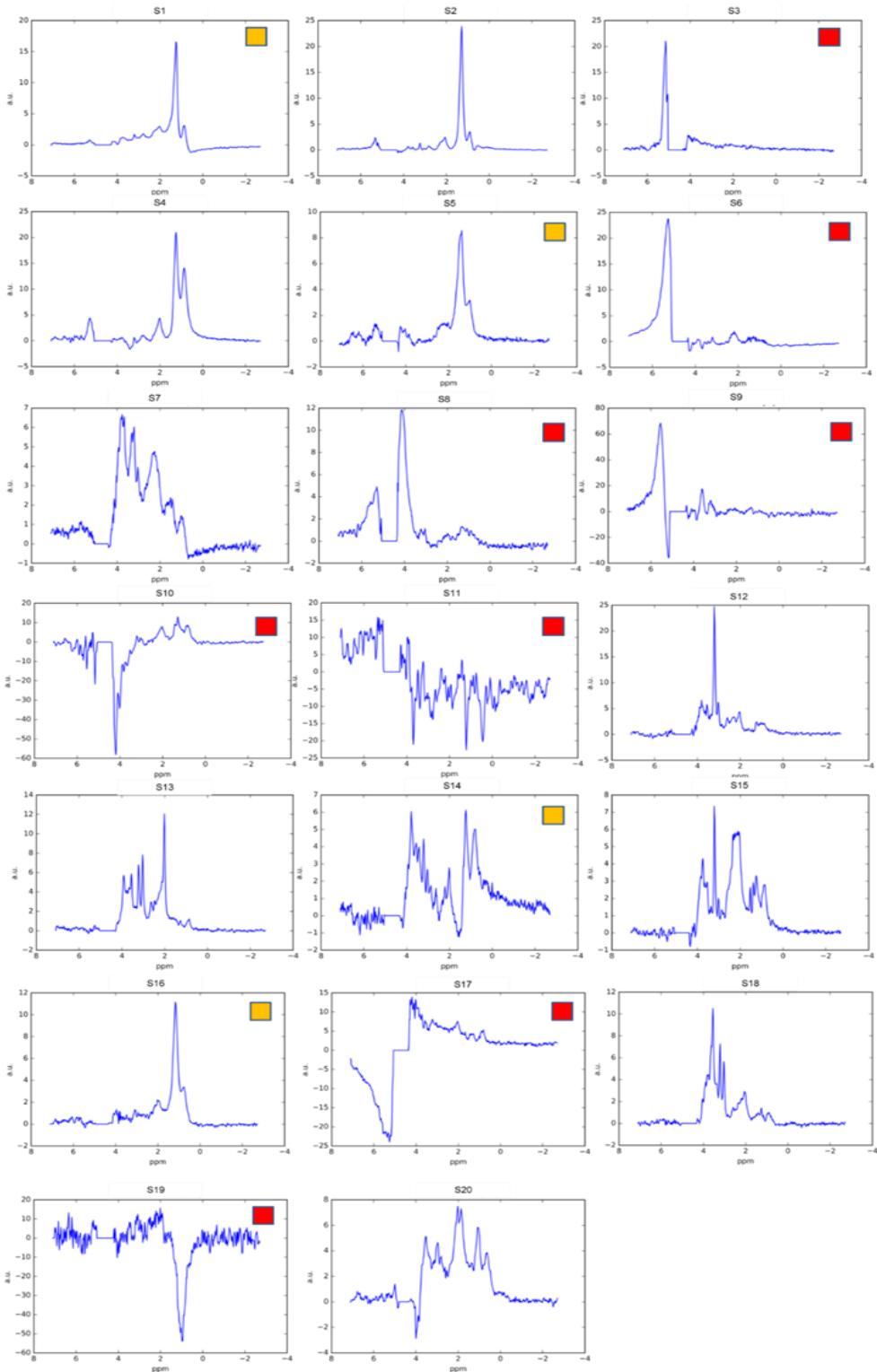
Se utilizaron las extracciones de:

- A. Cinco fuentes ( $k=5$ , donde  $k$  es el número de fuentes) como paradigma de la extracción de menor variabilidad, a la vez que contiene las fuentes espectrales principales de tipo tumoral (S2-S5), aunque faltaría la fuente que cabría esperar correspondiente a meningioma, y un artefacto (S1) de mala supresión de la señal de agua. Para  $k=5$  no importa qué repetición se tome; recuérdese que en todas las repeticiones de la extracción  $k=5$  los resultados eran los mismos.
- B. Veinte fuentes ( $k=20$ ), que fue el máximo número de fuentes extraídas en el capítulo 2, obteniéndose un mayor número de fuentes que representan tipos de tumores cerebrales minoritarios y parénquima cerebral normal (Figuras 20 y 21 respectivamente). Para  $k=20$ , y dado que dependiendo de la repetición de la extracción obtendremos una combinación de fuentes distinta, se tomó la primera de las repeticiones realizadas en el capítulo 2- ver figura

20- donde se detalla la combinación de fuentes usada en los experimentos de este capítulo.



*Figura 20. Fuentes de la extracción  $k=5$  a partir de los datos adquiridos a tiempo de eco corto ( $n=1180$ ). Cuatro tipos de fuentes que describen patrones espectrales y un artefacto (S1, mala supresión de agua; S2, cerebro normal; S3, glial bajo grado; S4 y S5, agresivo) descrito en [79]. Frecuencias en el eje de las ordenadas en ppm; intensidades en el eje de las abscisas en unidades arbitrarias. Fuente que se ha filtrado en la reconstrucción con 4 fuentes, marcada con cuadrado rojo.*



**Figura 21.** Fuentes de una de las extracciones  $k=20$  a partir de los datos adquiridos a tiempo de eco corto ( $n=1180$ ). Doce fuentes describen patrones espectrales (S1, S2, S5, S7, agresivo; S13, cerebro normal; S4, S6, S14, S19 glial bajo grado; S7 y S15, meningioma; S12, PNET) y ocho corresponderían a artefactos (S3, S6, S7, S8, S9, mala supresión de agua; S10, S11, S19, otros artefactos). Frecuencias en el eje de las ordenadas en ppm; intensidades en el eje de las abscisas en unidades arbitrarias (ua). Las fuentes marcadas con el cuadro rojo son artefactuales y las fuentes marcadas con el cuadro amarillo son parte artefacto y parte interpretable.

### 3.2.2 Filtrado de las fuentes artefactuales

La variante del algoritmo CNMF [38, 40] elegida se detalló en el capítulo 2, apartado 2.2.2, ecuaciones 9 y 10. En estas condiciones, la factorización generada por CNMF toma la forma:

$$X_{\pm} \approx X_{\pm} W_+ G_+^T \text{ donde } F = X_{\pm} W_+ \quad (14)$$

De acuerdo a esto, el filtrado de fuentes se realizó eliminando las filas y las columnas que corresponden a cada fuente considerada artefactual en la matriz de las fuentes ( $F$ ) y en la matriz de mezcla ( $G$ ), respectivamente.

Se realizaron tres reconstrucciones de los 1.180 espectros con:

1. cuatro fuentes, filtrando un artefacto a partir de la extracción  $k=5$ ;
2. ocho fuentes, filtrando doce artefactos a partir de la extracción  $k=20$ ;
3. doce fuentes, filtrando ocho artefactos a partir de la extracción  $k=20$ .

Las reconstrucciones de cada uno de los espectros ERM se realizaron mediante la ecuación 15 de reconstrucción CNMF:

$$X_r = X_{\pm} W_+ G_+^T , \text{ donde } F = X_{\pm} W_+ \quad (15)$$

y:  $X_r$  (conjunto de datos reconstruido),  $X$  (Matriz original),  $W$  (matriz sin mezclar),  $G^T$  (matriz de mezcla transpuesta),  $F$  (matriz de fuentes).

Tal como se ha mencionado anteriormente, cada una de las reconstrucciones se realizó con una sola repetición de las diez que se realizaron en cada una de las extracciones del capítulo 2. Todo ello se implementó en el lenguaje de programación Python [58].

### **3.2.3 Evaluación**

El objetivo principal de la evaluación de las reconstrucciones fue determinar si dichas reconstrucciones eran fidedignas con respecto al espectro que le correspondería al paciente dado su tipo tumoral. Si un espectro reconstruido ha de usarse para la toma de decisiones clínicas, es indispensable que dichas reconstrucciones sean fiables.

Para ello, desarrollamos diversas estrategias:

- Evaluación cualitativa por parte de un experto espectroscopista. Este enfoque sólo se realizó de modo exploratorio al inicio en un número reducido de espectros, ya que no es factible realizarlo para todos los de la base de datos. No obstante, se consideró que podría aportar información valiosa para diseñar otras estrategias de evaluación. Para ello, un experto espectroscopista analizó cualitativamente cinco espectros de mala calidad y cinco de buena calidad antes y después de ser reconstruidos, comparando el patrón espectral en cada situación con el patrón inicial y el patrón espectral correspondiente a la clase tumoral que estaba anotada en la base de datos de origen.
- Dado que para algunas de las clases tumorales de la base de datos se disponía de un clasificador [46] (meningiomas, gliomas de bajo grado y tumores agresivos), se usaron los datos reconstruidos pertenecientes a dichas clases como grupo de test de dicho clasificador. La hipótesis de partida fue que, si la reconstrucción era correcta, el clasificador categorizaría los espectros correctamente o incluso mejor, y, por tanto, el grado de acierto y demás parámetros de eficacia del clasificador (área bajo la curva ROC, sensibilidad, especificidad) no presentarían diferencias significativas con respecto al test usando los datos originales. Es decir, la reconstrucción no alteraría los datos de manera deletérea. En caso de que se detectasen diferencias, el grado de acierto obtenido usando la matriz de datos reconstruidos, idealmente sería más alto que

con los datos originales si la reconstrucción mejoraba la calidad espectral. Para evaluar dicha hipótesis, se usó un clasificador ya existente: el clasificador del sistema de soporte a la decisión INTERPRET. Dicho clasificador ha sido ampliamente testado [46, [80], [81], y los datos con los que fue desarrollado son compatibles con los datos de esta tesis, tanto con respecto a las condiciones de adquisición como con respecto a su procesamiento. Adicionalmente, se dispone de las herramientas *SpectraClassifier*, para desarrollo de clasificadores, y la herramienta *SpectraClassifier\_Visualizer*, que sirve para poder enfrentar datos de test a clasificadores preexistentes desarrollados con *SpectraClassifier*. Con respecto al denominado “Clasificador INTERPRET”, sirve para clasificar espectros pertenecientes a tres superclases mayoritarias de tumores cerebrales [53]: meningiomas, gliomas de bajo grado y tumores agresivos (glioblastomas y metástasis) (Figura 5a.). La desventaja de este enfoque es que sólo permite evaluar los ERM de las clases para las que existe un clasificador previo. Cada una de las matrices fue analizada mediante los programas *SpectraClassifier* y *SpectraClassifier\_Visualizer* [82]. En particular, se analizaron las matrices de confusión, los porcentajes de acierto, el error balanceado o *balanced error rate* (BER), así como las áreas bajo la curva (*área under the curve*, AUC) de las curvas ROC (*receiver operating characteristic*) (ver anexos 1-4). Para evaluar si el grado de acierto obtenido enfrentando las distintas matrices de datos con el clasificador difería significativamente, se realizó un test estadístico no paramétrico, la prueba Q de Cochran, para 5 grupos de espectros (base de datos validada según [54], originales, reconstruidos con cuatro, ocho y doce fuentes), mediante el programa *SPSS Statistics* [83].

Por otro lado, se usó otra estrategia para evaluar la totalidad de los espectros de la base de datos:

- Se calculó la señal residual entre los espectros originales y reconstruidos con 4, 8 y 12 fuentes, mediante substracción. Con este residuo, se calcularon:
  - El histograma del residuo de cada uno de los espectros.
  - El coeficiente de Correlación de Pearson ( $R$ ) y valor  $p$  de significación para la correlación entre cada una de las señales residuales (matriz  $Y$ ), el promedio de las clases tumorales mayoritarias (meningioma, tumores gliales de bajo y alto grado) y tejido normal de la base de datos validada de INTERPRET [46] y la fuente artefacto  $S1$  de la extracción  $k=5$  (Figura 20) (matriz  $Z$ ), de acuerdo a:

$$R_{ij} = \frac{C_{ij}}{\sqrt{C_{ii} * C_{jj}}} \quad (16)$$

donde  $C_{ii}$ ,  $C_{jj}$ ,  $C_{ij}$ , son elementos de la matriz de covarianza  $C$  de  $(Y, Z)$ . Los valores de  $R$  pertenecen al intervalo  $[-1,1]$ .

### 3.3 Resultados

Las cuatro matrices de datos usadas para los experimentos de este capítulo fueron las siguientes:

1. Espectros originales,  $n=699$ .
2. Espectros reconstruidos utilizando cuatro fuentes (extracción  $k=4$ , filtrando un artefacto),  $n=699$ .
3. Espectros reconstruidos utilizando ocho fuentes (extracción  $k=8$ , filtrando doce artefactos),  $n=699$ .
4. Espectros reconstruidos utilizando doce fuentes (extracción  $k=20$ , filtrando ocho artefactos),  $n=699$ .

La distribución por tipo de tumor y calidad espectral se muestra en la Tabla 4 [51].

Tipo de tumor		Buena calidad	Calidad al límite	Mala calidad	Total	Total datos	Casos incluidos en los resultados
Glioblastoma	Agresivo	253	11	28	292	699	Si
Metástasis		102	3	11	116		
Meningioma		106	5	10	121		
Astrocitoma II	Glial de bajo grado	98	2	3	103		
Oligodendrogioma		34	2	8	44		
Oligoastrocitoma		16	1	6	23		
Otras Patologías		60	2	34	96	96	No
Sin etiqueta		313	23	49	385	385	No
<b>Total</b>		<b>982</b>	<b>49</b>	<b>149</b>	<b>1180</b>	<b>1180</b>	<b>No</b>

Tabla 4. Número de espectros, adquiridos a TEC, disponibles por tipo de tumor y etiqueta de calidad. “Sin etiqueta” corresponde a los casos que carecen de etiqueta en la base de datos [51], estos casos carecen de diagnóstico consenso entre los expertos histopatológicos para su evaluación consensuable

### 3.3.1. Resultados de la evaluación visual en el subconjunto de diez casos

Las figuras 22 y 23 muestran la comparativa entre los espectros originales, las diferentes reconstrucciones, los residuos e histogramas para las reconstrucciones con cuatro (mínimo) y doce (máximo) fuentes. Los ERM de buena calidad seleccionados se muestran en la figura 22, y corresponden a et2028, un paciente con meningioma; et2029, paciente con glioblastoma; et2033, con astrocitoma difuso; et2053, con astrocitoma pilocítico; et2205, con astrocitoma difuso. Los ERM de mala calidad seleccionados fueron et2044, paciente con glioblastoma; et2059, también con glioblastoma; et2196, con meningioma; et2056, con glioblastoma y I0161, con meningioma, mostrándose en la figura 23 la información equivalente a la de la figura 22. Los códigos alfanuméricos de los casos corresponden a sus identificadores en la base de datos de origen, “et” seguido de un número para la base de datos eTumour [53] e “I” para los de la base de datos INTERPRET [13].

Los valores RSR y WBW de dichos espectros y el consenso de los espectroscopistas se detallan en la siguiente tabla:

Caso	RSR	WBW (Hz)	Consenso calidad espectral
et2028	ND	ND	Si
et2029	13,5	1,51	NA
et2033	37,9	2,28	NA
et2053	44,37	4,14	Si
et2205	50	4,14	Si
et2044	31,98	7,56	No
et2059	ND	ND	ND
et2196	ND	ND	ND
et2056	ND	ND	ND
I0161	ND	ND	ND

Tabla 5. Valores de RSR, agua, WBW y consenso de espectros de los casos de las figuras 22 y 23. ND: no disponible.

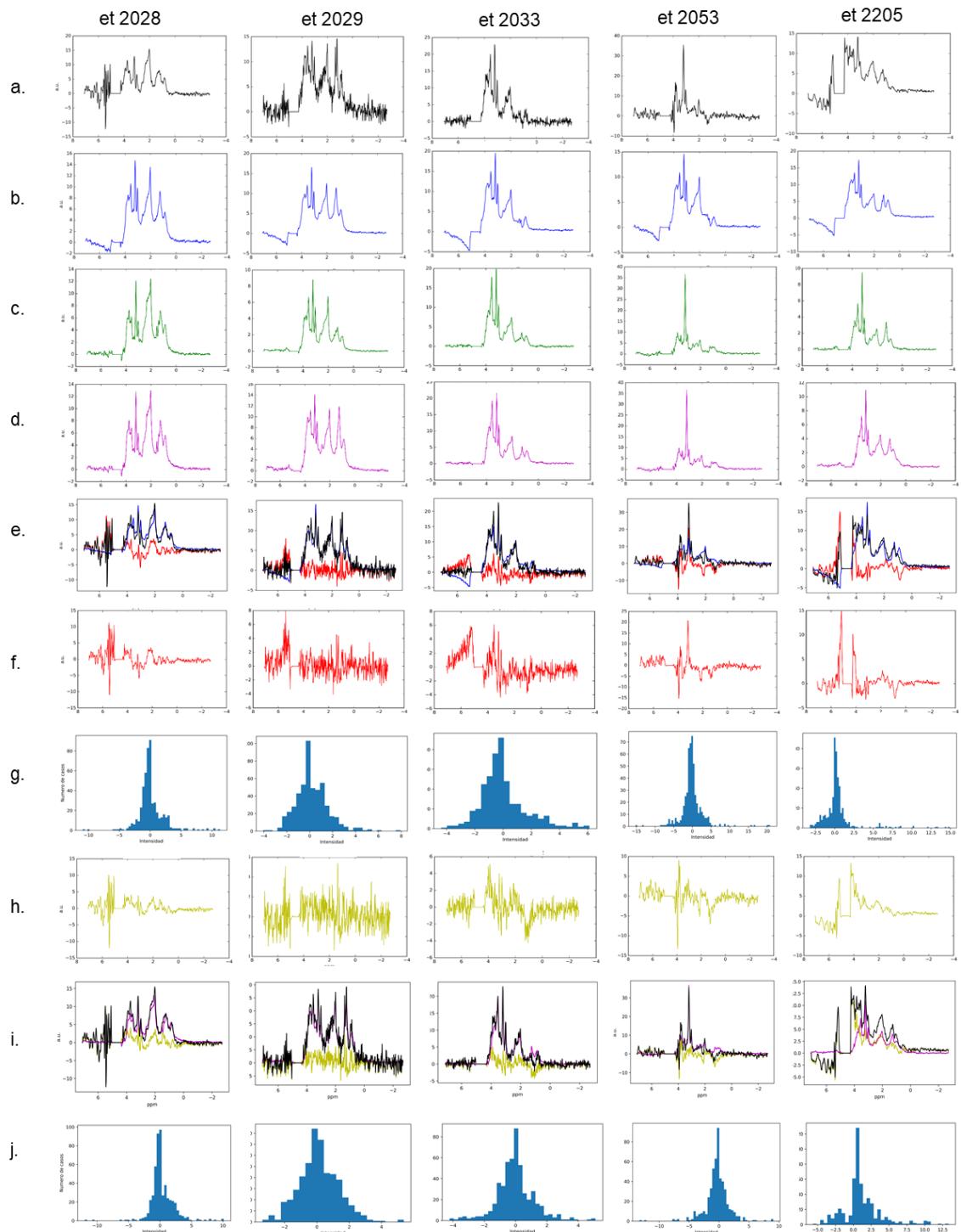
Nótese que a pesar de tener la etiqueta de “buena calidad”, algunos de los espectros de buena calidad simplemente pueden considerarse como aceptables, ya que no se encuentran exentos de artefactos. En concreto, et2028, et2053 y et2205 presentan un artefacto fantasma, en et2053 sólo afectando a la región entre 3,7-4,1 ppm, mientras que la RSR de et2029 no es óptima (13,5). Es importante analizar estos casos en los que la presencia de artefactos no afecta a la interpretabilidad de los espectros, ya que dichos ERM serían los principales candidatos a una mejora por parte del filtrado.

En esta primera evaluación cualitativa pueden observarse varios aspectos de interés:

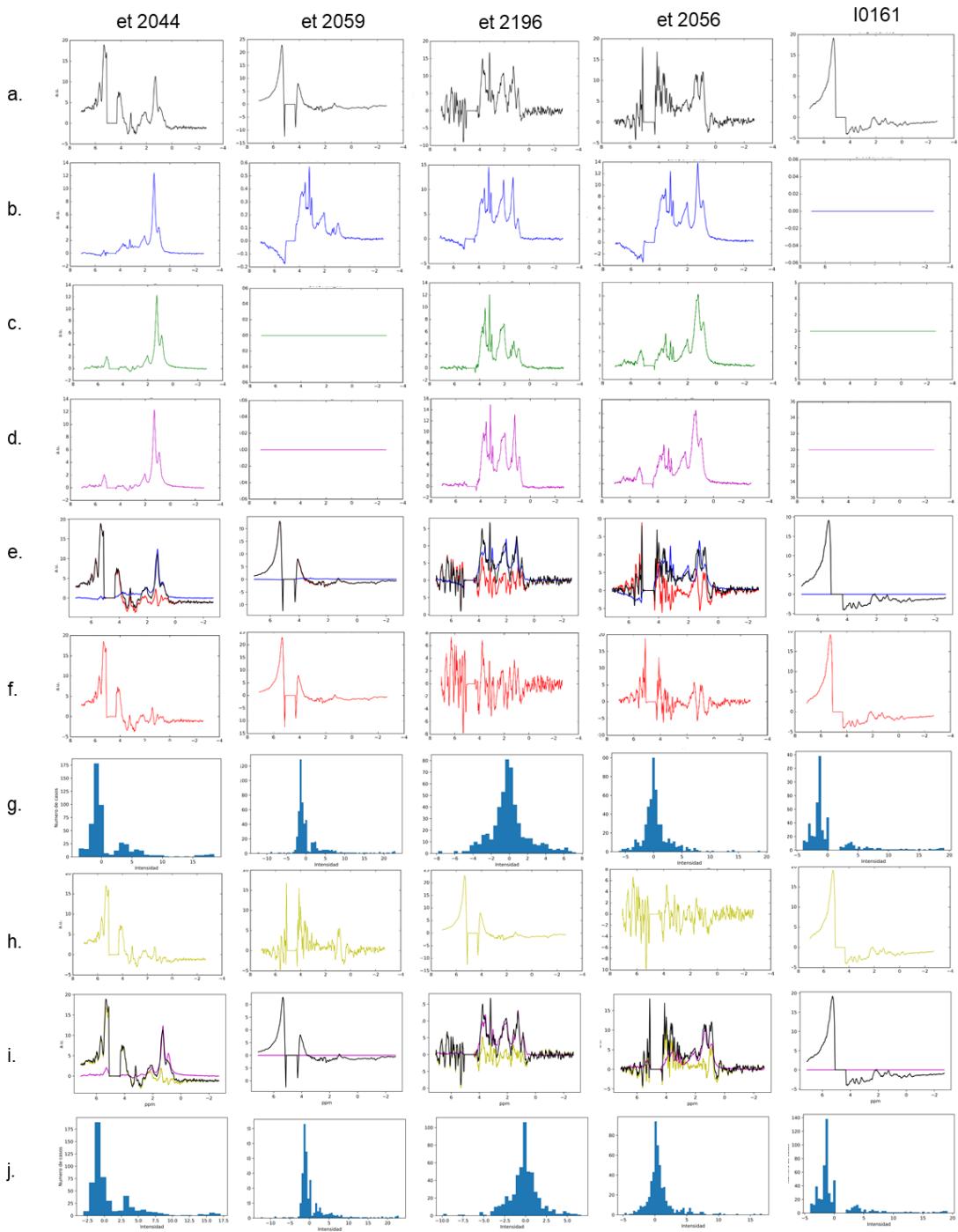
- Al realizar la reconstrucción de la señal se elimina el ruido de la misma, en todas las reconstrucciones, tanto de espectros de buena calidad como de mala calidad.
- El componente artefactual de mala supresión del agua observada en diferentes espectros originales se eliminó en los espectros reconstruidos.
- Dependiendo de la reconstrucción realizada, el patrón espectral obtenido cambia.
- Independientemente de la calidad espectral, el patrón reconstruido a veces se parece al espectro original y a veces no. Determinar si este patrón es fidedigno,

es decir, si corresponde a la patología o no, será el objeto de las evaluaciones que se mostrarán a continuación.

- La reconstrucción con ocho y doce fuentes de los espectros es visualmente mejor que la reconstrucción con cuatro fuentes, al comparar las reconstrucciones con el espectro original correspondiente.
- En los espectros de mala calidad, si la contribución del artefacto es muy grande, al reconstruir no se obtiene ninguna señal (obsérvense las líneas horizontales, que en realidad corresponden a un valor de intensidad espectral cero para todo el rango de frecuencias). Esto puede ocurrir en varias (et2059) o en todas las reconstrucciones (I0161). Obsérvese también que en estos casos no existe diferencia entre el espectro reconstruido y el original. Este resultado puede ser de utilidad para establecer un primer umbral para determinar qué espectros son “recuperables” por reconstrucción y en cuáles de ellos la reconstrucción no aportará ningún beneficio.



**Figura 22.** Los espectros de buena calidad. **a.** Espectros originales (espectros de color negro). **b.** Espectros reconstruidos con cuatro fuentes (espectros de color azul). **c.** Espectros reconstruidos con ocho fuentes (espectros de color verde). **d.** Espectros reconstruidos con doce fuentes (espectros de color magenta). **e.** Superposición del espectro original (espectro de color rojo), el espectro reconstruido con cuatro fuentes (espectro de color verde) y el resultado de la resta (azul). **f.** Resultado de la substracción. **g.** Histograma del resultado de la substracción (Eje X, intensidad en a.u; Eje Y, número de casos). **h.** Resta de los espectros reconstruidos con 12 fuentes. **i.** Superposición de la resta, el espectro original y el espectro reconstruido con 12 fuentes. **j.** Histogramas del resultado de la sustracción de los espectros reconstruidos con 12 fuentes.



**Figura 23.** **a.** Espectros originales. **b.** Espectros reconstruidos con cuatro fuentes (espectros de color azul). **c.** Espectros reconstruidos con ocho fuentes (espectros de color verde). **d.** Espectros reconstruidos con doce fuentes (espectros de color magenta). **e.** Superposición del espectro original (espectro de color rojo), el espectro reconstruido con cuatro fuentes (espectro de color verde) y resultado de la substracción (azul). **f.** Resultado de la substracción. **g.** Histograma del resultado de la substracción (Eje X, intensidad en a.u; Eje Y, número de casos). **h.** Resta de los espectros reconstruidos con 12 fuentes. **i.** Superposición de la resta, el espectro original y el espectro reconstruido con 12 fuentes. **j.** Histogramas del resultado de la sustracción de los espectros reconstruidos con 12 fuentes.

### **3.3.2. Resultados de la evaluación de los histogramas del residuo.**

En general, los histogramas del residuo de las figuras 22 y 23 muestran dos patrones.

El primero, cuando se ha filtrado mayormente ruido, donde el histograma muestra ensanchamiento, y es simétrico; el segundo, cuando se ha filtrado un componente importante de agua residual, en el que dicho histograma no es ensanchado y presenta asimetría.

### **3.3.3. Resultados de la evaluación de las correlaciones con los promedios de las distintas clases.**

En la Figura 24a se observa que la señal residual de cada uno de los espectros no correlaciona con el promedio de las clases validadas (meningioma, glial de bajo y alto grado y tejido normal) y en su mayoría correlacionan con la fuente artefactual de mala supresión de agua,  $S_1$ , con valores de correlación significativos.

La señal residual de los espectros de buena calidad tiene un coeficiente de correlación promedio de 0.5 con la fuerte artefactual de  $S_1$  de mala supresión de agua. Sin embargo, la correlación con las clases validadas es negativa, como se muestra en la figura 24b.

En el *boxplot* de la Figura 24c se muestran los valores del coeficiente de correlación entre la señal residual de los espectros de mala calidad con el artefacto con una correlación media de 0.3 que es significativa ( $p<0.05$ ) y una correlación negativa al ser comparada con las clases validadas. Estos resultados sugieren que se ha filtrado el artefacto y no señales características de patrones tumorales o tejido sano.

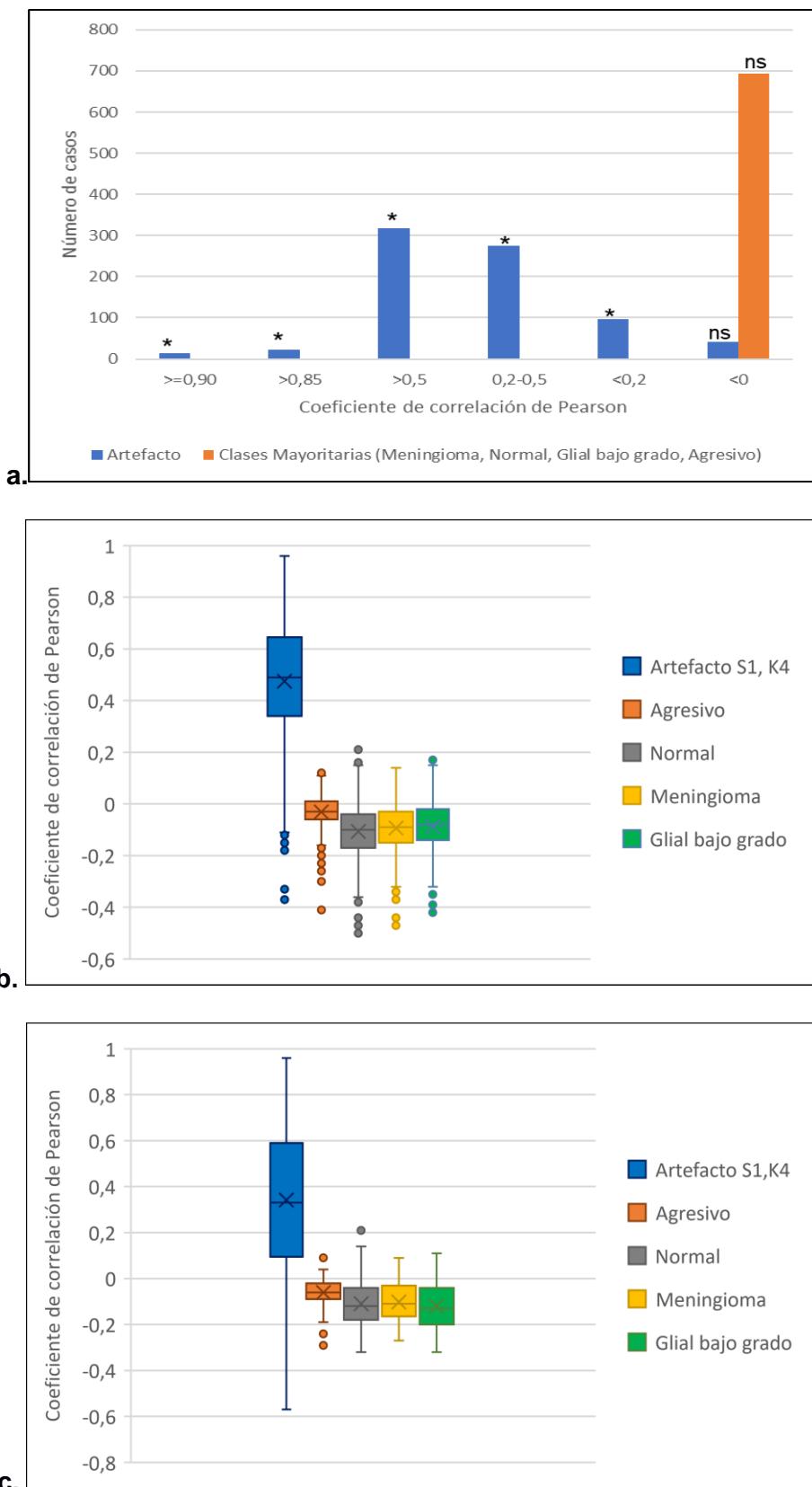
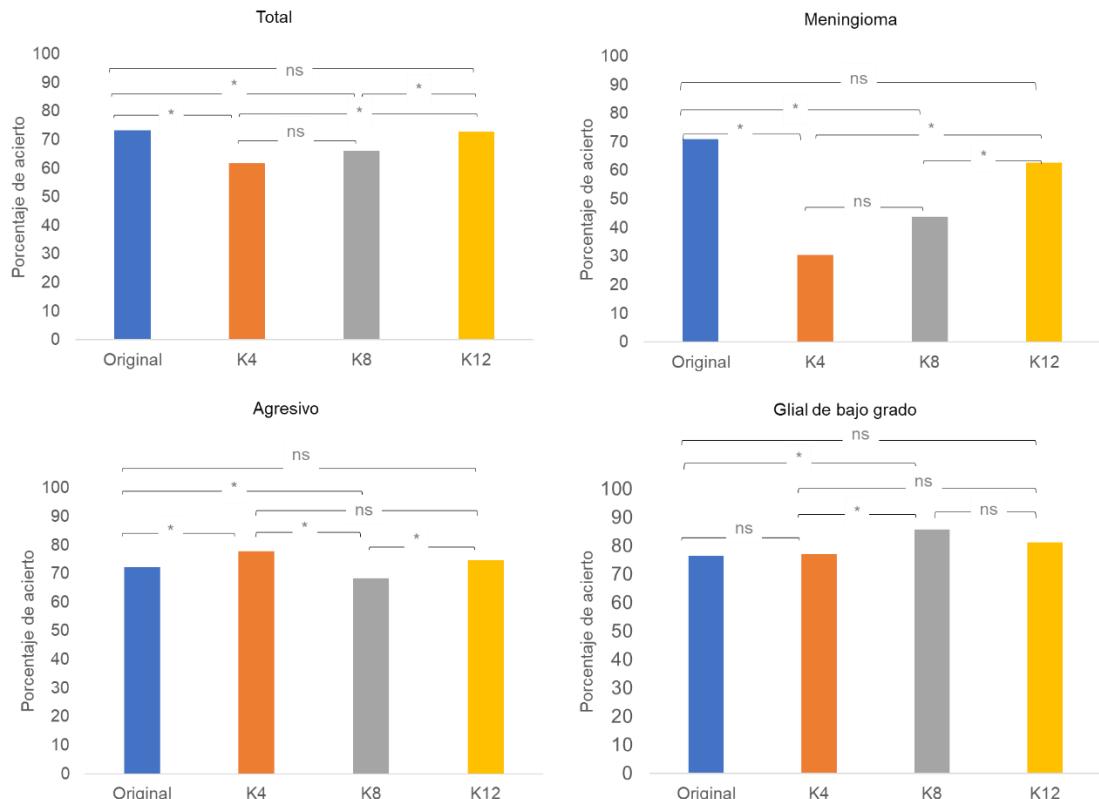


Figura 24. **a.** Coeficiente de correlación de Pearson y significancia entre la señal residual, el artefacto S1 y el promedio de las clases validadas (mm, gliomas de alto y bajo grado y tejido normal). Azul: artefacto, Naranja: clases mayoritarias. **b.** Coeficiente de correlación de Pearson entre la señal residual de los espectros de buena calidad, la fuente artefactual S1 y el promedio de las clases validadas. **c.** Coeficiente de correlación de Pearson entre la señal residual de los espectros de mala calidad, la fuente artefactual S1 y el promedio de las clases validadas.

### 3.3.4. Resultados de la clasificación de las matrices como grupo de test del clasificador INTERPRET.

En la Figura 25 se detallan los resultados del porcentaje de acierto obtenido con *SpectraClassifier\_Visualizer* y la existencia de diferencias significativas en dicho porcentaje con respecto a las clases, con el test Q de Cochran.

En la tabla 4 se detalla el número de casos incluidos en este análisis.



*Figura 25. Promedios del grado de acierto de la clasificación de los espectros reconstruidos y los originales, obtenidos en SpectraClassifier\_Visualizer [11] (mm, meningioma; agg, gliomas de alto grado; lgg, gliomas de bajo grado). Asteriscos (\*), p<0.05 existen diferencias significativas entre las condiciones. ns, p>0.05 no existen diferencias significativas entre las condiciones.*

Los espectros reconstruidos de la clase glial de bajo grado son los que presentaron un mayor porcentaje de acierto (77.1%, cuatro fuentes; 85.9%, ocho fuentes; 81.2%, doce fuentes) con respecto a los espectros originales (76.5%). Existen diferencias significativas entre los espectros reconstruidos con ocho fuentes y los originales y entre los espectros reconstruidos con cuatro y ocho fuentes.

Por contra, la clase meningioma (acierto de 30.6%, cuatro fuentes; 43.8%, ocho fuentes; 62.8%, doce fuentes), en ninguna de las condiciones de reconstrucción supera el porcentaje de acierto de los espectros originales (71.1%), aunque se observa que al aumentar el número de fuentes usadas en la reconstrucción aumenta el porcentaje de acierto. Esto podría estar asociado a que dentro de las fuentes utilizadas para la reconstrucción con cuatro fuentes no se encuentra la fuente típica de meningioma (Figura 20) y en la extracción de veinte fuentes sí encontramos dos fuentes con características semejantes al patrónpectral de meningioma (S7 y S15, Figura 21). Existen diferencias significativas en la clase de meningioma entre los grupos: originales y reconstruidos con 4 fuentes; originales y reconstruidos con 8 fuentes; reconstruidos con 4 fuentes y reconstruidos con 12 fuentes; y los reconstruidos con 8 fuentes con los reconstruidos con 12 fuentes.

El grupo de los espectros de tumores agresivos muestra un ligero aumento del porcentaje de acierto de la clasificación en las reconstrucciones con cuatro y doce fuentes (77.9%, cuatro fuentes; 74.8%, doce fuentes), pero no en la reconstrucción con ocho fuentes (68.4%) comparados con el porcentaje de acierto en la clasificación de los espectros originales (72.3%). En la única comparativa en la que no se encuentran diferencias significativas es entre los espectros originales con los reconstruidos con doce fuentes y entre los espectros reconstruidos con cuatro fuentes con los espectros reconstruidos con doce fuentes.

No se encontraron diferencias significativas entre los porcentajes de acierto de la clasificación de los espectros reconstruidos con doce fuentes en total (incluyendo todas las clases) con respecto el porcentaje de acierto de los espectros originales (Figura 25), ni separando por clases tumorales. Esto demuestra que no existe una alteración en la clasificación cuando los espectros son reconstruidos con un número suficiente de fuentes.

En *SpectraClassifier\_Visualizer* se utilizó como clasificador los datos validados de INTERPRET y como data set las matrices de los espectros originales y reconstruidos

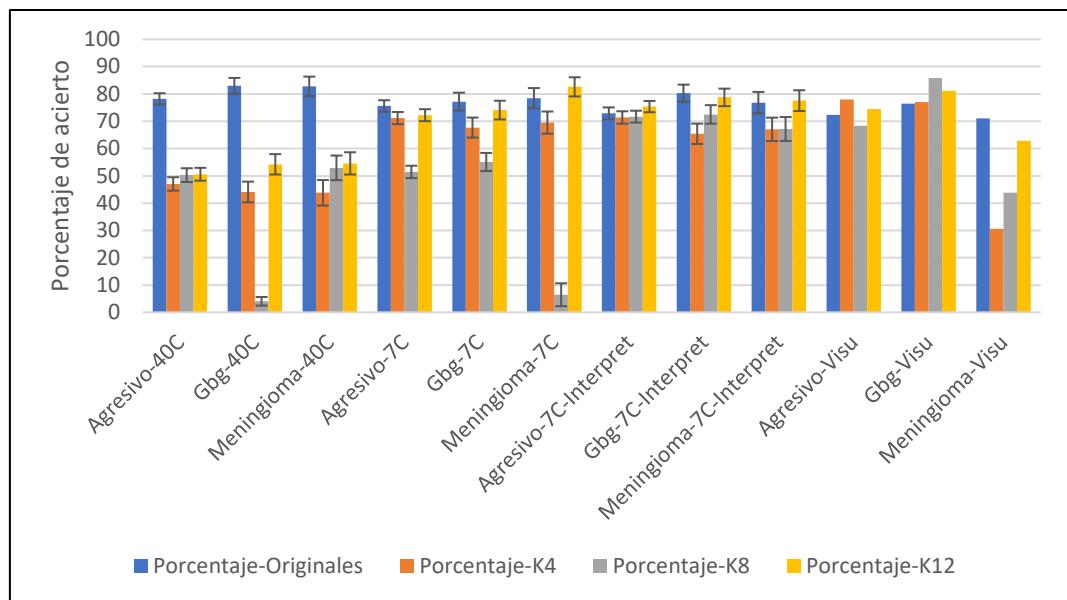
con cuatro, ocho y doce fuentes, individualmente. Se obtuvieron tres clasificadores de los espectros originales y reconstruidos con *SpectraClassifier*, seleccionando tres características (C) (40C, 7C, 7C-Interpret). Para todo esto se siguieron los criterios que se muestran en la tabla 6. La evaluación de la visualización y de los clasificadores se muestran en la figura 26.

Software	Número de Características	Selección de Características	Método de selección de Características	Método de Clasificación
SC	40	Automático	<i>Sequential forward</i>	LDA
SC	7	Automático	<i>Sequential forward</i>	LDA
SC	7	Cargando archivo con características previamente guardadas	<i>Sequential forward</i>	LDA
scV	7	Automático	-	LDA

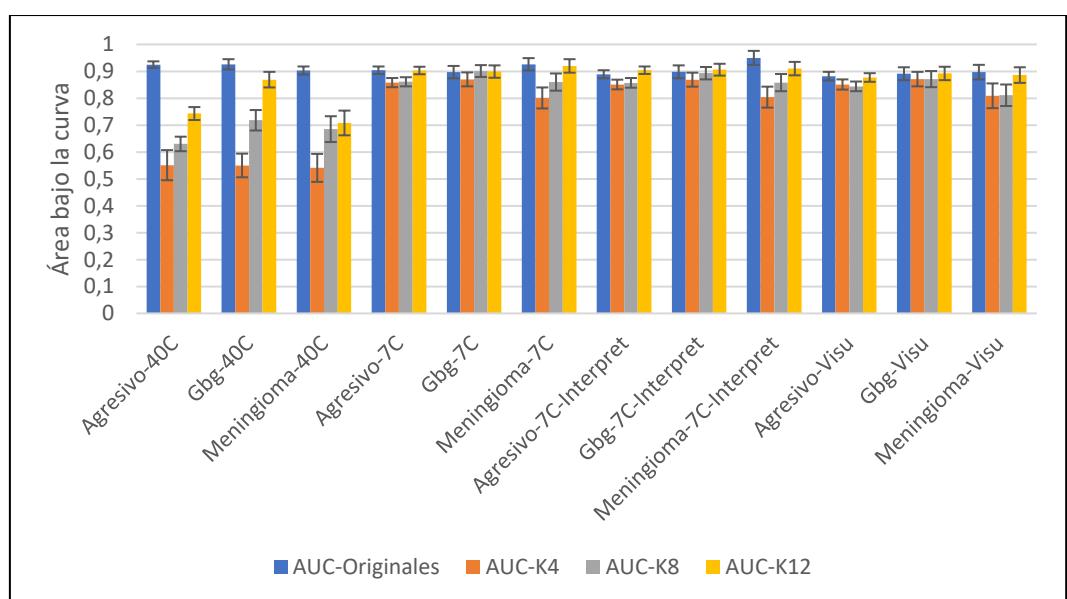
Tabla 6. Criterios para el desarrollo de los clasificadores.

En la figura 26 se observa que la reconstrucción con doce fuentes es la de mayor porcentaje de acierto y valor del área bajo la curva ROC y menor BER, para las diferentes condiciones experimentales, comparado con los espectros originales.

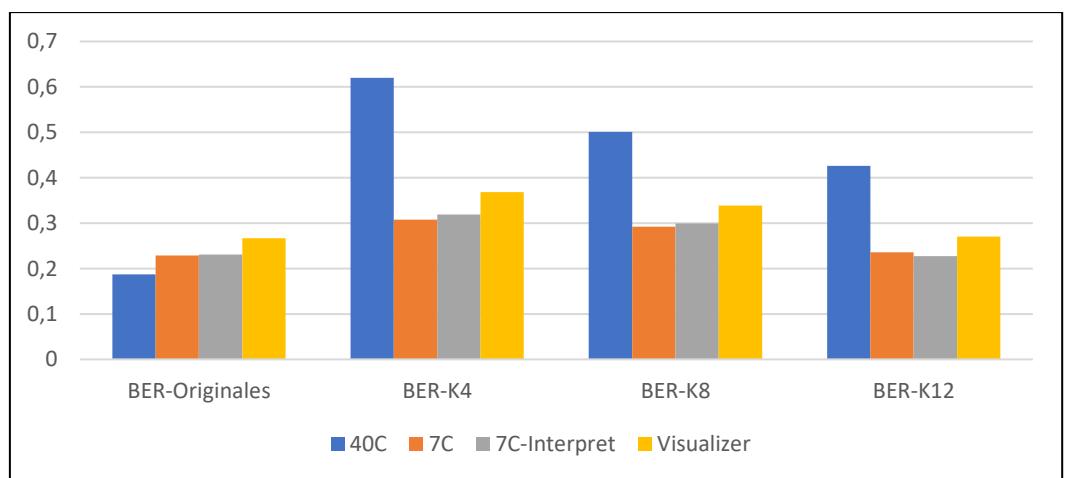
Además, se puede observar que con 7 características se obtienen mejores resultados que con 40 tanto para el porcentaje de acierto, como para el área bajo la curva y el BER.



**a.**



**b.**



**Figura 26. a.** Porcentaje de acierto +/-DE de cada clase tumoral de los espectros originales y reconstruidos con 4, 8 y 12 fuentes, utilizando SpectraCalssifier [81] con 40, 7, 7 INTERPRET features y SpectraVisualizer [78] con 7 features de INTERPRET. **b.** Área bajo la curva +/- Error estándar, (idem a.). **c.** BER (idem a.)

### 3.3.5. La reconstrucción de los meningiomas.

Como se observó en el apartado anterior, la reconstrucción de los meningiomas resultó ser la que más falló. Se evaluaron individualmente todos los meningiomas reconstruidos mediante el sistema de soporte a la decisión INTERPRET versión 3.0 [46]. Ello es equivalente a testear las matrices de datos con scV [82], ya que el clasificador que se usó fue el mismo que en la versión del sistema INTERPRET. La ventaja de usar INTERPRET reside en que la visualización permite analizar en detalle y de forma simultánea tanto la posición del espectro en el universo bidimensional de clasificación como el patrónpectral de cada espectro individual. En la Tabla 7 se resume la coincidencia en la clasificación o no (scV) de los 121 meningiomas insertados individualmente en la DSS de INTERPRET [46]. El número de espectros reconstruidos con cuatro y ocho fuentes (37 y 53 casos respectivamente) que coinciden con los espectros de meningioma [46], es menor al número de espectros reconstruidos con doce fuentes (76).

Espectros Reconstruidos	Clasificación coincidente		Porcentaje de coincidencia %
	si	no	
Cuatro fuentes	37	84	30.6
Ocho fuentes	53	68	43.8
Doce fuentes	76	45	62.8
Originales	86	35	71.1

Tabla 7. Número de espectros reconstruidos (cuatro, ocho y doce fuentes) clasificados originalmente como meningiomas [53], [54], que coinciden o no con los espectros de meningioma originales [46]. Nótese que los resultados son equivalentes a los mostrados en la figura 8 para meningiomas.

Con estos resultados, queda en evidencia que los meningiomas no se clasificaron bien. Se hipotetizó que esto podría ser debido a dos causas: la primera, que los espectros de la matriz de datos no fueran compatibles con los de INTERPRET. Sabíamos que dichos espectros eran compatibles con respecto a adquisición y procesamiento, pero quedaba la duda si también lo eran a nivel de su grado de validación clínica. En la base de datos

de la cual se extrajeron los datos, eTUMOUR [53], se había reportado previamente que, de 1180 casos disponibles, sólo 222 cumplían con los requisitos mínimos del estudio. Ello se debía a multitud de causas, entre las cuales se encontraba la incompleta validación de la histología y la localización del voxel ERM coincidente con la toma de muestra para histología. Para ello, se volvió a la base de datos eTUMOUR y se estudió si los mencionados factores podrían ser la causa de la deficiente clasificación de los ERM de meningioma.

De los 45 meningiomas reconstruidos con doce fuentes que no se clasificaron correctamente, 29 poseen una o más de las siguientes características (ver tabla 8):

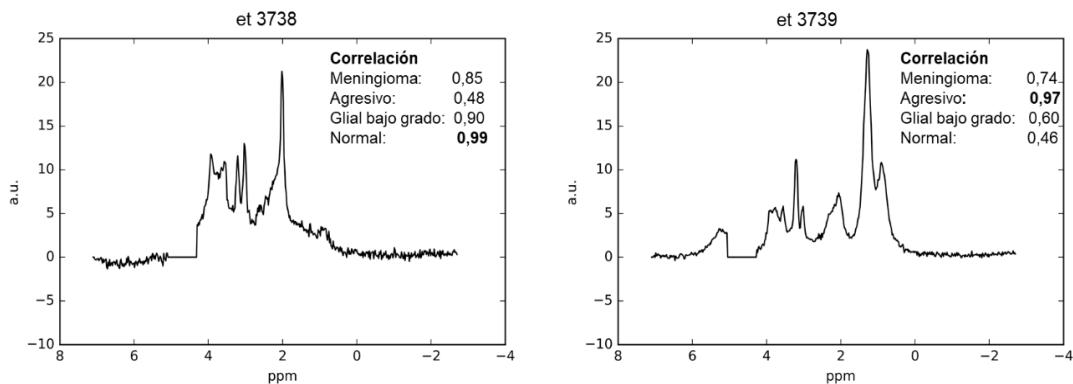
- voxel en región cerebral sana,
- presencia de señal de lípidos (indicativo de grado IV de malignidad o bien de contaminación por grasa subcutánea),
- no se disponía de la histopatología consenso por parte del panel de histopatólogos [46], [54], con lo que existe cierta incertidumbre sobre el correcto etiquetado de la clase patológica de dichos espectros.

Por tanto, partimos de un 64,4% de meningiomas que pueden considerarse como incorrectamente etiquetados. Con ello, nos referimos a situaciones tales que se haya adquirido la ERM en parénquima normal, aunque el paciente esté diagnosticado de meningioma. En este caso, el patrón no puede corresponder a meningioma, y, por tanto, dicho ERM de hecho debería clasificarse mal.

Características espectrales	Cantidad de espectros	Etiqueta de los casos
Voxel en región sana	9	et2880, et3234, et3414, et3738, et3739, et3747, et3748, I1054
Lípidos elevados	18	et2196, et2200, et2240, et2384, et2544, et3158 et3378, et3414, et3738, et3746, I0244, I0312, I0332, I1074, I1102, I1149 (2), I1378
N/A Consenso	12*	et3234 (2), et3411 (2), et3414 (2), et3488, et3637, et3739 (2), et3313, et3378
Semejante a meningioma	13	et2043, et2137, et2299, et2319, et3158, et3313, I0160, I0190, I0206, I0381, I1381, I1090, I1127

Tabla 8. Características espectrales de los meningiomas mal clasificados en la reconstrucción con 12 fuentes. \*10 coinciden que también tienen lípidos elevados. El número que aparece dentro del paréntesis significa que un mismo caso tiene dos espectros.

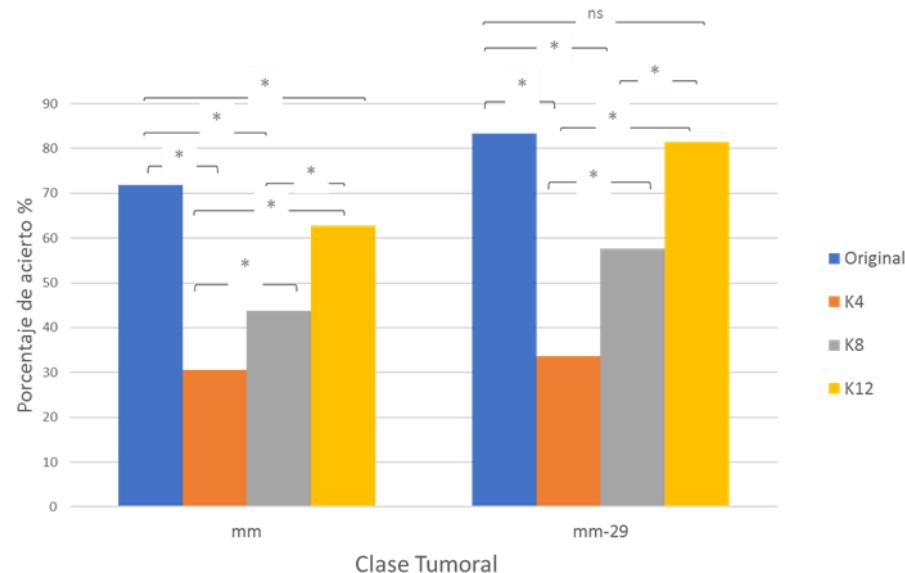
En la Figura 27 se observan 2 de los 45 espectros mal etiquetados. El espectro del caso et3738, voxel en región sana, tiene una correlación de 0.99 con tejido normal. El espectro del caso et3739, tiene lípidos elevados y no etiquetado por el consenso de expertos, a la vez que presenta una alta correlación con la clase de tumores agresivos (0,97). Ver el resto de los espectros en el anexo 5.



*Figura 27. Caso et3738 Voxel en región sana y caso et3739 con lípidos elevados y no etiquetado por consensus.*

En el gráfico de la Figura 28 se observa como al eliminar de nuestras matrices los 29 meningiomas con las características mencionadas anteriormente (el voxel se escogió en región sana, lípidos elevados o no están etiquetados por el consensus de expertos), aumenta el porcentaje de acierto en las tres reconstrucciones. La reconstrucción con doce fuentes es la de mayor porcentaje de acierto, aumenta de un 62.8% a un 81.5%. En las reconstrucciones con cuatro y ocho fuentes aumenta en menor medida el porcentaje de acierto de 30.6% a 33.7% (reconstrucción con 4 fuentes) y de 43.8% a 57.6% (reconstrucción con 8 fuentes). Llegados a este punto, postulamos que la posible causa por la que el porcentaje de acierto en las reconstrucciones con 4 y 8 fuentes al eliminar estos 29 espectros de meningioma mal clasificados de las matrices no mejora demasiado pudiera estar relacionado con la ausencia de una fuente característica de meningioma en dichas extracciones, con lo que los espectros de meningioma

reconstruidos lo estarían siendo sin la información correspondiente al patrón espectral de meningiomas.



*Figura 28. Promedios del grado de acierto de la clasificación de los espectros de meningiomas reconstruidos y los originales, obtenidos en scV [78] (mm, meningioma; mm-29, meningiomas menos los 29 meningiomas mal reconstruidos que tienen características especiales agg, gliomas de alto grado; lgg, gliomas de bajo grado).*

Todos estos resultados nos conducen a la conclusión de que la comparativa de acierto de base, para meningioma, debería ser la de los espectros de test sin reconstruir, donde se observan diferencias significativas entre todas las reconstrucciones y los espectros originales, excepto para la reconstrucción con 12 fuentes cuando no se incluyen los 29 meningiomas mal etiquetados.

### 3.4 Discusión

En los resultados mostrados en este capítulo, se han filtrado los componentes artefactuales y reconstruido la totalidad de los espectros de una base de datos de ERM de voxel único, con un enfoque basado en la totalidad del patrón espectral y mediante la técnica de CNMF, obteniéndose distintos resultados de relevancia:

- La reconstrucción de la señal elimina el ruido.
- En aquellos espectros de tan mala calidad que sólo presentan componente artefactual, al substraer la fuente artefactual del espectro original se obtiene una línea de valor  $y=0$ , que puede constituir un primer método para control de calidad.
- Es crucial extraer un número suficiente de fuentes, no sólo para representar la variedad de artefactos a filtrar, sino para la reconstrucción, ya que si no se estaría reconstruyendo una señal que no corresponde a la realidad, como se ha visto en el caso de los meningiomas, que sólo se reconstruyen de forma correcta con 12 fuentes.

El criterio utilizado para elegir las fuentes artefactuales en el presente estudio fue el utilizado en el capítulo 2. La reconstrucción se realizó con la extracción  $k=5$  (más estable), siendo una de las cinco fuentes un artefacto (mala supresión de agua) y con  $k=20$ , por tener un mayor número de patrones espectrales característicos de tipos tumorales, ocho artefactos y 4 espectros *borderline* que se consideraron artefactos en la reconstrucción con ocho fuentes.

Tal como se ha comentado en la introducción de este capítulo, Kyathanahally [69] utilizó técnicas de aprendizaje profundo para detectar y corregir espectros de RM con artefacto fantasma, limitándose al mencionado tipo de artefacto. También como se ha señalado en la introducción, los enfoques basados en aprendizaje profundo demandan una cantidad de datos que no es factible en según qué entornos, como por ejemplo los que se han usado en esta tesis, de pacientes de tumores cerebrales, que son poco prevalentes.

En el trabajo de Gurbani [70] no obstante, sí se usaron datos reales obtenidos con la técnica de adquisición EPSI que genera una ingente cantidad de espectros por cada paciente para entrenar una red neuronal convolucional. Los espectros fueron etiquetados de antemano por expertos espectroscopistas y se desarrolló un sistema que marcaba los artefactos. Téngase en cuenta no obstante que el “filtrado” al que se refiere

dicho trabajo se basa en la correcta clasificación de los espectros artefactuales. Una similitud del trabajo con el que se detalla en este capítulo reside en el hecho que la red neuronal finalmente identifica no sólo diferentes artefactos sino también los marca en regiones concretas de los espectros que los contienen, y es que, un aspecto a tener en cuenta para la posible translacionalidad de este tipo de metodologías es el poder “aprovechar” espectros parcialmente artefactuales, en primer lugar, reconociendo las zonas no utilizables, y en segundo, filtrándolas.

Las secuencias de adquisición más punteras tales como EPSI, MEGA-PRESS, entre otras, generan una ingente cantidad de datos ERM, haciendo inasumible el control de calidad por expertos. Es por ello que sólo recientemente está habiendo un renovado interés por los enfoques basados en inteligencia artificial y más concretamente, en redes neuronales y aprendizaje profundo. No obstante, como el lector podrá concluir, dichos enfoques se basan en datos adquiridos con secuencias que no son de uso corriente en la clínica, por lo general son supervisados – necesitando un conjunto de entrenamiento con espectros previamente juzgados por expertos- y en el mejor de los casos, llegan a filtrar los tipos más sencillos de artefactos. Otro problema relevante es que otras veces, dichos enfoques se aplican sobre datos de entrenamiento generados artificialmente a partir de una base de datos muy pequeña, con lo que no existe certeza absoluta de que los conjuntos de datos de entrenamiento sean representativos de la variabilidad existente en la población.

En el caso de esta tesis, los datos son representativos de la variabilidad epidemiológica y de patrón espectral existente en la población, y los artefactos se detectan y filtran de modo no supervisado por humano, cubriendo una variedad mayor de posibles patrones artefactuales.

En cuanto a las limitaciones de este estudio, habría que señalar que el enfoque de histogramas ha sido simplemente descriptivo, y por otro lado, que el enfoque basado en clasificación siempre estará limitado por la existencia de un clasificador.

Finalmente, este trabajo abre una vía prometedora que puede ser profundizada en futuras tesis o trabajos, a través del desarrollo de indicadores numéricos o reglas para aceptar espectros reconstruidos, que es novedosa y diferente respecto a la literatura más reciente de los dos últimos años. Como líneas futuras de trabajo, se propone investigar el uso de versiones jerárquicas de CNMF, que podrían constituir una representación de control de calidad de datos de ERM más natural: las fuentes extraídas utilizando CNMF a menudo pueden verse a su vez como mezclas de subfuentes básicas y que estas mezclas podrían involucrar tanto a señales útiles como artefactos, como ya se ha discutido anteriormente Finalmente, para cualquier metodología de control de calidad y/o filtrado de artefactos que se desarrolle, en último término requerirá que se integre bien en los programas de procesamiento espectral (jMRUI, Tarquin, etc) como en cualquier sistema de soporte a la decisión basado en los datos ERM, para que pueda ser testada en un entorno real clínico, con datos de pacientes.

#### **4. Conclusiones**

1. Es posible extraer patrones artefactuales característicos mediante CNMF, a partir de una base de datos multicéntrica de espectros ERM SV de pacientes con tumores cerebrales y otras masas anómalas.
2. Los patrones extraídos son interpretables y comparables con espectros de tumores cerebrales (tumores gliales de alto y bajo grado, meningiomas) o de cerebro normal, o bien con artefactos ERM bien descritos y caracterizados (mala supresión de agua, ecos espurios y/o baja relación señal ruido).
3. Es posible reconstruir las señales de cada uno de los espectros, obviando las fuentes artefactuales, obteniéndose patrones interpretables sin los artefactos filtrados.
4. En los espectros de buena calidad y en aquellos en los que el artefacto es mala supresión de agua y no afecta a la totalidad de las frecuencias, la reconstrucción es fidedigna.
5. En los espectros de mala calidad en los que el patrón es básicamente artefactual, no se obtiene información metabólica.
6. En algunos espectros de mala calidad con contribución parcial al patrón de un artefacto, el patrón reconstruido puede ser completamente distinto que el original, y por tanto hay que desarrollar metodologías para asegurar que la reconstrucción es fidedigna.

En el caso concreto de los meningiomas, se ha observado que cuantas más fuentes no artefactuales se usen para la reconstrucción, más fidedigna será la reconstrucción.

## Referencias

- [1] J. Ferlay, "Cáncer hoy," *Melanoma of skin source: globocan 2018*, 2019. <http://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-cancers> (accessed Jan. 31, 2021).
- [2] I. Kecerdasan and P. Ikep, "Brain, central nervous system." <http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/31-Brain-central-nervous-system-fact-sheet.pdf> (accessed Jan. 31, 2021).
- [3] L. Contreras, "EPIDEMIOLOGÍA DE TUMORES CEREBRALES," *Rev. Médica Clínica Las Condes*, vol. 28, no. 3, pp. 332–338, May 2017, doi: 10.1016/j.rmclc.2017.05.001.
- [4] M. Bernstein and M. Berge, *Neuro-oncology: The essentials*, 3era ed. New York, 2014.
- [5] D. Louis, H. Ohgaki, O. Wiestler, W. Cavenee, P. Burger, A. Jouvet, B. Scheithauer, and P. Kleihues, "The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System," *Acta Neuropathol.*, vol. 114, no. 2, pp. 97–109, Jul. 2007, doi: 10.1007/s00401-007-0243-4.
- [6] P. Segura, "Tumores cerebrales - SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica © 2019," 18 Diciembre, 2019. <https://seom.org/info-sobre-el-cancer/tumores-cerebrales?showall=1> (accessed Jan. 15, 2020).
- [7] M. Julià-Sapé, D. Acosta, C. Majós, À. Moreno-Torres, P. Wesseling, J. J. Acebes, J. R. Griffiths, and C. Arús, "Comparison between neuroimaging classifications and histopathological diagnoses using an international multicenter brain tumor magnetic resonance imaging database," *J. Neurosurg.*, vol. 105, no. 1, pp. 6–14, Jul. 2006, doi: 10.3171/jns.2006.105.1.6.
- [8] D. McBride, B. Q. Miller, D. Nikas, S. Buchthal, L. Chang, F. Chiang, and R. Booth, "Analysis of brain tumors using  $^1\text{H}$  magnetic resonance spectroscopy," *Surg. Neurol.*, vol. 44, no. 2, pp. 137–144, 1995, doi: 10.1016/0090-3019(95)00139-5.
- [9] K. Glunde and Z. Bhujwalla, "Metabolic tumor imaging using magnetic resonance spectroscopy," *Semin. Oncol.*, vol. 38, no. 1, pp. 26–41, Feb. 2011, doi: 10.1053/j.seminoncol.2010.11.001.
- [10] E. Bartholdi and R. Ernst, "Fourier spectroscopy and the causality principle," *J. Magn. Reson.*, vol. 11, no. 1, pp. 9–19, Jul. 1973, doi: 10.1016/0022-2364(73)90076-0.
- [11] D. Bertholdo, A. Watcharakorn, and M. Castillo, "Brain Proton Magnetic Resonance Spectroscopy: Introduction and Overview," *Neuroimaging Clin. N. Am.*, vol. 23, no. 3, pp. 359–380, 2013, doi: 10.1016/j.nic.2012.10.002.
- [12] C. Majós, M. Julià-Sapé, J. Alonso, M. Serrallonga, C. Aguilera, J. Acebes, C. Arús, and J. Gili, "Brain tumor classification by proton MR spectroscopy: Comparison of diagnostic accuracy at short and long TE," *Am. J. Neuroradiol.*, vol. 25, no. 10, pp. 1696–1704, 2004, [Online]. Available: <http://www.ajnr.org/content/25/10/1696>.
- [13] M. Julià-Sapé, D. Acosta, M. Mier, C. Arús, and D. Watson, "A Multi-Centre, Web-

- Accessible and Quality Control-Checked Database of in vivo MR Spectra of Brain Tumour Patients," *Magn. Reson. Mater. Physics, Biol. Med.*, vol. 19, no. 1, pp. 22–33, Feb. 2006, doi: 10.1007/s10334-005-0023-x.
- [14] H. in 't Zandt, M. van der Graaf, and A. Heerschap, "Common processing of in vivo MR spectra," *NMR Biomed.*, vol. 14, no. 4, pp. 224–232, Jun. 2001, doi: 10.1002/nbm.707.
  - [15] U. Klose, "In vivo proton spectroscopy in presence of eddy currents," *Magn. Reson. Med.*, vol. 14, no. 1, pp. 26–30, 1990, doi: 10.1002/mrm.1910140104.
  - [16] R. Freeman, *Handbook of Nuclear Magnetic Resonance*, Second. 1997.
  - [17] J. Near, A. D. Harris, C. Juchem, R. Kreis, M. Marjańska, G. Öz, J. Slotboom, M. Wilson, and C. Gasparovic, "Preprocessing, analysis and quantification in single-voxel magnetic resonance spectroscopy: experts' consensus recommendations," *NMR Biomed.*, Feb. 2020, doi: 10.1002/nbm.4257.
  - [18] R. A. de Graaf, *In vivo NMR Spectroscopy. Principles and Techniques*, 2da ed. 2007.
  - [19] W. Pijnappel, A. van den Boogaart, R. de Beer, and D. van Ormondt, "SVD-based quantification of magnetic resonance signals," *J. Magn. Reson.*, vol. 97, no. 1, pp. 122–134, Mar. 1992, doi: 10.1016/0022-2364(92)90241-X.
  - [20] K. Behar, D. Rothman, D. Spencer, and O. Petroff, "Analysis of macromolecule resonances in <sup>1</sup>H NMR spectra of human brain," *Magn. Reson. Med.*, vol. 32, no. 3, pp. 294–302, Sep. 1994, doi: 10.1002/mrm.1910320304.
  - [21] C. Majós, "Espectroscopia por resonancia magnética de protón en el diagnóstico de tumores cerebrales," *Radiología*, vol. 47, no. 1, pp. 1–12, Jan. 2005, doi: 10.1016/S0033-8338(05)72790-9.
  - [22] J. Gili, *Introducción Biofísica a la Resonancia Magnética en Neuroimagen*. 2003.
  - [23] I. Barba, Á. Moreno, I. Martínez-Pérez, A. R. Tate, M. Cabañas, M. Baquero, A. Capdevila, and C. Arús, "Magnetic resonance spectroscopy of brain hemangiopericytomas: high myoinositol concentrations and discrimination from meningiomas," *J. Neurosurg.*, vol. 94, no. 1, pp. 55–60, Jan. 2001, doi: 10.3171/jns.2001.94.1.0055.
  - [24] R. Kreis, "Issues of spectral quality in clinical <sup>1</sup>H-magnetic resonance spectroscopy and a gallery of artifacts," *NMR Biomed.*, vol. 17, no. 6, pp. 361–381, Oct. 2004, doi: 10.1002/nbm.891.
  - [25] A. Wright, C. Arús, J. Wijnen, A. Moreno-Torres, J. Griffiths, B. Celda, and F. Howe, "Automated quality control protocol for MR spectra of brain tumors," *Magn. Reson. Med.*, vol. 59, no. 6, pp. 1274–1281, Jun. 2008, doi: 10.1002/mrm.21533.
  - [26] M. van der Graaf, M. Julià-Sapé, F. Howe, A. Ziegler, C. Majós, A. Moreno-Torres, M. Rijpkema, D. Acosta, K. Opstad, Y. van der Meulen, C. Arús, and A. Heerschap, "MRS quality assessment in a multicentre study on MRS-based classification of brain tumours," *NMR Biomed.*, vol. 21, no. 2, pp. 148–158, Feb. 2008, doi: 10.1002/nbm.1172.
  - [27] G. Nguyen, S. Dlugolinsky, M. Bobák, V. Tran, Á. López García, I. Heredia, P.

- Malík, and L. Hluchý, "Machine Learning and Deep Learning frameworks and libraries for large-scale data mining: a survey," *Artif. Intell. Rev.*, vol. 52, no. 1, pp. 77–124, Jun. 2019, doi: 10.1007/s10462-018-09679-z.
- [28] J. Li, "Regression and Classification in Supervised Learning," in *Proceedings of the 2nd International Conference on Computing and Big Data - ICCBD 2019*, Oct. 2019, pp. 99–104, doi: 10.1145/3366650.3366675.
- [29] A. Jain, P. Duin, and Jianchang Mao, "Statistical pattern recognition: a review," *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, vol. 22, no. 1, pp. 4–37, Jan. 2000, doi: 10.1109/34.824819.
- [30] B. Schölkopf and A. Smola, "A short introduction to learning with kernels," *Lect. Notes Comput. Sci. (including Subser. Lect. Notes Artif. Intell. Lect. Notes Bioinformatics)*, vol. 2600, pp. 41–64, 2003, doi: 10.1007/3-540-36434-x\_2.
- [31] G. Hinton and R. Salakhutdinov, "Reducing the Dimensionality of Data with Neural Networks," *Science (80-)*, vol. 313, no. 5786, pp. 504–507, Jul. 2006, doi: 10.1126/science.1127647.
- [32] T. Hastie, R. Tibshirani, and J. Friedman, *The elements of Statistical Learning. Data Mining Inference, and Prediction*, Second. Springer, 2017.
- [33] P. Comon, "Independent component analysis, A new concept?," *Signal Processing*, vol. 36, no. 3, pp. 287–314, Apr. 1994, doi: 10.1016/0165-1684(94)90029-9.
- [34] Y. Huang, P. Lisboa, and W. El-Deredy, "Tumour grading from magnetic resonance spectroscopy: a comparison of feature extraction with variable selection," *Stat. Med.*, vol. 22, no. 1, pp. 147–164, Jan. 2003, doi: 10.1002/sim.1321.
- [35] C. Ladroue, F. Howe, J. Griffiths, and R. Tate, "Independent component analysis for automated decomposition of in vivo magnetic resonance spectra," *Magn. Reson. Med.*, vol. 50, no. 4, pp. 697–703, Oct. 2003, doi: 10.1002/mrm.10595.
- [36] F. Szabo de Edelenyi, A. Simonetti, G. Postma, R. Huo, and L. Buydens, "Application of independent component analysis to 1H MR spectroscopic imaging exams of brain tumours," *Anal. Chim. Acta*, vol. 544, no. 1–2, pp. 36–46, Jul. 2005, doi: 10.1016/j.aca.2005.04.007.
- [37] J. García-Gómez ... M. Robles, "Multiproject–multicenter evaluation of automatic brain tumor classification by magnetic resonance spectroscopy," *Magn. Reson. Mater. Physics, Biol. Med.*, vol. 22, no. 1, pp. 5–18, Feb. 2009, doi: 10.1007/s10334-008-0146-y.
- [38] C. Ding, T. Li, and M. Jordan, "Convex and semi-nonnegative matrix factorizations," *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, vol. 32, no. 1, pp. 45–55, 2010, doi: 10.1109/TPAMI.2008.277.
- [39] A. Pascual-Montano, P. Carmona-Saez, M. Chagoyen, F. Tirado, J. Carazo, and R. Pascual-Marqui, "bioNMF: a versatile tool for non-negative matrix factorization in biology," *BMC Bioinformatics*, vol. 7, no. 1, p. 366, Dec. 2006, doi: 10.1186/1471-2105-7-366.
- [40] S. Ortega-Martorell, P. Lisboa, A. Vellido, R. Simões, M. Pumarola, M. Julià-Sapé,

- and C. Arús, "Convex Non-Negative Matrix Factorization for Brain Tumor Delimitation from MRSI Data," *PLoS One*, vol. 7, no. 10, p. e47824, Oct. 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0047824.
- [41] D. Lee and S. Seung, "Learning the parts of objects by non-negative matrix factorization," *Nature*, vol. 401, no. 6755, pp. 788–791, Oct. 1999, doi: 10.1038/44565.
  - [42] Y. Su, S. Thakur, K. Sasan, S. Du, P. Sajda, W. Huang, and L. Parra, "Spectrum separation resolves partial-volume effect of MRSI as demonstrated on brain tumor scans," *NMR Biomed.*, vol. 21, no. 10, pp. 1030–1042, Dec. 2008, doi: 10.1002/nbm.1271.
  - [43] P. Sajda, S. Du, T. Brown, R. Stoyanova, D. Shungu, X. Mao, and L. Parra, "Nonnegative matrix factorization for rapid recovery of constituent spectra in magnetic resonance chemical shift imaging of the brain," *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 23, no. 12, pp. 1453–1465, Dec. 2004, doi: 10.1109/TMI.2004.834626.
  - [44] A. Croitor Sava, D. Sima, M. Martinez-Bisbal, B. Celda, and S. Van Huffel, "Non-negative blind source separation techniques for tumor tissue typing using HR-MAS signals," in *2010 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology*, Aug. 2010, pp. 3658–3661, doi: 10.1109/IEMBS.2010.5627436.
  - [45] J. Schmidhuber, "Deep learning in neural networks: An overview," *Neural Networks*, vol. 61, pp. 85–117, Jan. 2015, doi: 10.1016/j.neunet.2014.09.003.
  - [46] A. Pérez-Ruiz, M. Julià-Sapé, G. Mercadal, I. Olier, C. Majós, and C. Arús, "The INTERPRET Decision-Support System version 3.0 for evaluation of Magnetic Resonance Spectroscopy data from human brain tumours and other abnormal brain masses," *BMC Bioinformatics*, vol. 11, no. 1, p. 581, Nov. 2010, doi: 10.1186/1471-2105-11-581.
  - [47] B. Menze, M. Kelm, M.-A. Weber, P. Bachert, and F. Hamprecht, "Mimicking the human expert: Pattern recognition for an automated assessment of data quality in MR spectroscopic images," *Magn. Reson. Med.*, vol. 59, no. 6, pp. 1457–1466, Jun. 2008, doi: 10.1002/mrm.21519.
  - [48] N. Pedrosa de Barros, R. McKinley, U. Knecht, R. Wiest, and J. Slotboom, "Automatic quality control in clinical 1 H MRSI of brain cancer," *NMR Biomed.*, vol. 29, no. 5, pp. 563–575, May 2016, doi: 10.1002/nbm.3470.
  - [49] N. Pedrosa de Barros and J. Slotboom, "Quality management in in vivo proton MRS," *Anal. Biochem.*, vol. 529, pp. 98–116, Jul. 2017, doi: 10.1016/j.ab.2017.01.017.
  - [50] C. König, I. Shaim, A. Vellido, E. Romero, R. Alquézar, and J. Giraldo, "Using machine learning tools for protein database biocuration assistance," *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, p. 10148, Dec. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-28330-z.
  - [51] S. Kyathanahally, V. Mocioiu, N. Pedrosa de Barros, J. Slotboom, A. Wright, M. Julià-Sapé, C. Arús, and R. Kreis, "Quality of clinical brain tumor MR spectra judged by humans and machine learning tools," *Magn. Reson. Med.*, vol. 79, no.

- 5, pp. 2500–2510, May 2018, doi: 10.1002/mrm.26948.
- [52] A. Vellido, E. Romero, F. González-Navarro, L. Belanche-Muñoz, M. Juliá-Sapé, and C. Arús, “Outlier exploration and diagnostic classification of a multi-centre 1H-MRS brain tumour database,” *Neurocomputing*, vol. 72, no. 13–15, pp. 3085–3097, 2009, doi: 10.1016/j.neucom.2009.03.010.
- [53] M. Julia-Sape, M. Lurgi, M. Mier, F. Estanyol, X. Rafael, A. P. Candiota, A. Barcelo, A. Garcia, M. Martinez-Bisbal, R. Ferrer-Luna, A. Moreno-Torres, B. Celda, and C. Arus, “Strategies for annotation and curation of translational databases: the eTUMOUR project,” *Database*, vol. 2012, pp. bas035–bas035, Nov. 2012, doi: 10.1093/database/bas035.
- [54] A. R. Tate ... C. Arús, “Development of a decision support system for diagnosis and grading of brain tumours usingin vivo magnetic resonance single voxel spectra,” *NMR Biomed.*, vol. 19, no. 4, pp. 411–434, Jun. 2006, doi: 10.1002/nbm.1016.
- [55] M. Julià-Sapé, J. R. Griffiths, R. Tate, F. Howe, D. Acosta, G. Postma, J. Underwood, C. Majós, and C. Arús, “Classification of brain tumours from MR spectra: the INTERPRET collaboration and its outcomes,” *NMR Biomed.*, vol. 28, no. 12, pp. 1772–1787, Dec. 2015, doi: 10.1002/nbm.3439.
- [56] S. Ortega-Martorell, P. Lisboa, A. Vellido, M. Julia-Sape, and C. Arus, “Non-negative Matrix Factorisation methods for the spectral decomposition of MRS data from human brain tumours,” *BMC Bioinformatics*, vol. 13, no. 1, p. 38, 2012, doi: 10.1186/1471-2105-13-38.
- [57] D. Arthur and S. Vassilvitskii, *K-means++: The advantages of careful seeding*, vol. 07-09-Janu. New Orleans, Louisiana: Society for Industrial and Applied Mathematics, 2007.
- [58] “Python.org.” <https://www.python.org/>.
- [59] J. García-Gómez, S. Tortajada, C. Vidal, M. Julià-Sapé, J. Luts, À. Moreno-Torres, S. Van Huffel, C. Arús, and M. Robles, “The effect of combining two echo times in automatic brain tumor classification by MRS,” *NMR Biomed.*, vol. 21, no. 10, pp. 1112–1125, Dec. 2008, doi: 10.1002/nbm.1288.
- [60] S. Ortega-Martorell, A. Vellido, P. Lisboa, M. Julià-Sapé, and C. Arús, “Spectral decomposition methods for the analysis of MRS information from human brain tumors,” in *Proceedings of the International Joint Conference on Neural Networks*, 2011, pp. 3279–3284, doi: 10.1109/IJCNN.2011.6033656.
- [61] T. Jung, C. Humphries, T. Lee, S. Makeig, M. McKeown, V. Iragui, and T. Sejnowski, “Extended ICA removes artifacts from electroencephalographic recordings,” in *Advances in Neural Information Processing Systems*, 1998, pp. 894–900.
- [62] A. Vilamala, P. Lisboa, S. Ortega-Martorell, and A. Vellido, “Discriminant Convex Non-negative Matrix Factorization for the classification of human brain tumours,” *Pattern Recognit. Lett.*, vol. 34, no. 14, pp. 1734–1747, Oct. 2013, doi: 10.1016/j.patrec.2013.05.023.
- [63] S. Ortega-Martorell, H. Ruiz, A. Vellido, I. Olier, E. Romero, M. Julià-Sapé, J.

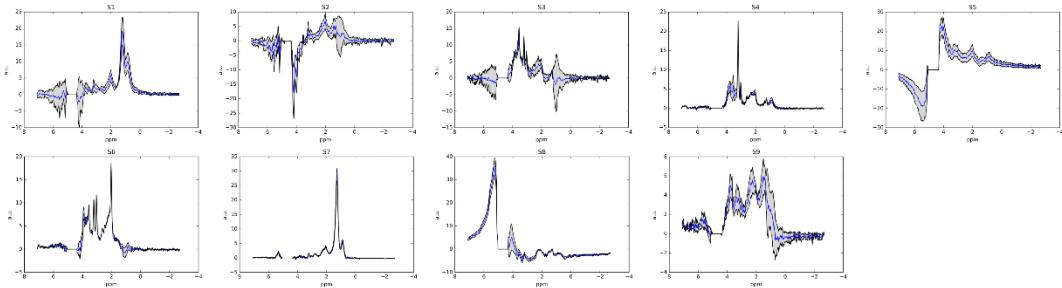
- Martín, I. Jarman, C. Arús, and P. Lisboa, "A novel semi-supervised methodology for extracting tumor type-specific MRS sources in human brain data," *PLoS One*, vol. 8, no. 12, Dec. 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0083773.
- [64] Y. Li, D. Sima, S. Van Cauter, A. Croitor Sava, U. Himmelreich, Y. Pi, and S. Van Huffel, "Hierarchical non-negative matrix factorization (hNMF): a tissue pattern differentiation method for glioblastoma multiforme diagnosis using MRSI," *NMR Biomed.*, vol. 26, no. 3, pp. 307–319, Mar. 2013, doi: 10.1002/nbm.2850.
- [65] A. Laruelo-Fernandez, "Integration of magnetic resonance spectroscopic imaging into the radiotherapy treatment planning," Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2016.
- [66] J. Nascimento and J. Dias, "Vertex component analysis: A fast algorithm to unmix hyperspectral data," *IEEE Trans. Geosci. Remote Sens.*, vol. 43, no. 4, pp. 898–910, Apr. 2005, doi: 10.1109/TGRS.2005.844293.
- [67] A. Vilamala, A. Vellido, and L. A. Belanche, "Bayesian semi non-negative matrix factorisation," in *ESANN 2016 - 24th European Symposium on Artificial Neural Networks*, 2016, pp. 195–200, Accessed: Jan. 15, 2020. [Online]. Available: <http://www.i6doc.com/en/>.
- [68] S. Ortega-Martorell, I. Olier, M. Julià-Sapé, C. Arús, and P. Lisboa, "Automatic relevance source determination in human brain tumors using Bayesian NMF," in *IEEE SSCI 2014 - 2014 IEEE Symposium Series on Computational Intelligence - CIDM 2014: 2014 IEEE Symposium on Computational Intelligence and Data Mining, Proceedings*, Jan. 2015, pp. 99–104, doi: 10.1109/CIDM.2014.7008654.
- [69] S. Kyathanahally, A. Döring, and R. Kreis, "Deep learning approaches for detection and removal of ghosting artifacts in MR spectroscopy," *Magn. Reson. Med.*, vol. 80, no. 3, pp. 851–863, Sep. 2018, doi: 10.1002/mrm.27096.
- [70] S. Gurbani, E. Schreibmann, A. Maudsley, J. S. Cordova, B. Soher, H. Poptani, G. Verma, P. Barker, H. Shim, and L. Cooper, "A convolutional neural network to filter artifacts in spectroscopic <scp>MRI</scp>," *Magn. Reson. Med.*, vol. 80, no. 5, pp. 1765–1775, Nov. 2018, doi: 10.1002/mrm.27166.
- [71] C. Seiffert, T. Khoshgoftaar, J. Van Hulse, and A. Napolitano, "RUSBoost: A hybrid approach to alleviating class imbalance," *IEEE Trans. Syst. Man, Cybern. Part A Systems Humans*, vol. 40, no. 1, pp. 185–197, Jan. 2010, doi: 10.1109/TSMCA.2009.2029559.
- [72] R. Selvaraju, M. Cogswell, A. Das, R. Vedantam, D. Parikh, and D. Batra, "Grad-CAM: Visual Explanations from Deep Networks via Gradient-Based Localization," *Int. J. Comput. Vis.*, vol. 128, no. 2, pp. 336–359, 2020, doi: 10.1007/s11263-019-01228-7.
- [73] C. Tomasi and R. Manduchi, "Bilateral filtering for gray and color images," in *Sixth International Conference on Computer Vision (IEEE Cat. No.98CH36271)*, pp. 839–846, doi: 10.1109/ICCV.1998.710815.
- [74] A.-K. Jain, *Fundamentals of Digital Image Processing*, United Sta. 1989.
- [75] J. S. Lim, *Two-dimensional signal and image processing*. 1990.

- [76] B. Münch, P. Trtik, F. Marone, and M. Stampanoni, “Stripe and ring artifact removal with combined wavelet—Fourier filtering,” *Opt. Express*, vol. 17, no. 10, p. 8567, May 2009, doi: 10.1364/OE.17.008567.
- [77] P. B. B. Adam Berrington, Michal Považan, “Estimation and Removal of spurious echo Artifacts in single-voxel MRS using Sensitivity Encoding,” *medRxiv*, 2020, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.09.09.20191460>.
- [78] H. Lee, H. H. Lee, and H. Kim, “Reconstruction of spectra from truncated free induction decays by deep learning in proton magnetic resonance spectroscopy,” *Magn. Reson. Med.*, vol. 84, no. 2, pp. 559–568, Aug. 2020, doi: 10.1002/mrm.28164.
- [79] Y. Hernández-Villegas, S. Ortega-Martorell, C. Arús, A. Vellido, and M. Julià-Sapé, “Extraction of artefactual MRS patterns from a large database using non-negative matrix factorization,” *NMR Biomed.*, Dec. 2019, doi: 10.1002/nbm.4193.
- [80] M. Julià-Sapé, I. Coronel, C. Majós, A. P. Candiota, M. Serrallonga, M. Cos, C. Aguilera, J. J. Acebes, J. R. Griffiths, and C. Arús, “Prospective diagnostic performance evaluation of single-voxel  $^1\text{H}$  MRS for typing and grading of brain tumours,” *NMR Biomed.*, vol. 25, no. 4, pp. 661–673, Apr. 2012, doi: 10.1002/nbm.1782.
- [81] M. Julià-Sapé, C. Majós, À. Camins, A. Samitier, M. Baquero, M. Serrallonga, S. Doménech, E. Grivé, F. A. Howe, K. Opstad, J. Calvar, C. Aguilera, and C. Arús, “Multicentre evaluation of the INTERPRET decision support system 2.0 for brain tumour classification,” *NMR Biomed.*, vol. 27, no. 9, pp. 1009–1018, Sep. 2014, doi: 10.1002/nbm.3144.
- [82] “GABRMN.” <http://gabrmn.uab.es/scVisualizer>.
- [83] “Spss-statistics (Prueba).” [Online]. Available: <https://www.ibm.com/es-es/products/spss-statistics>.

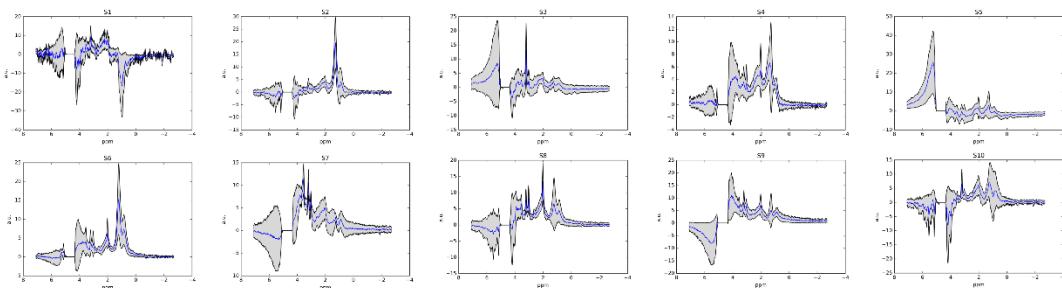
## Anexos

### Anexos Capítulo 2

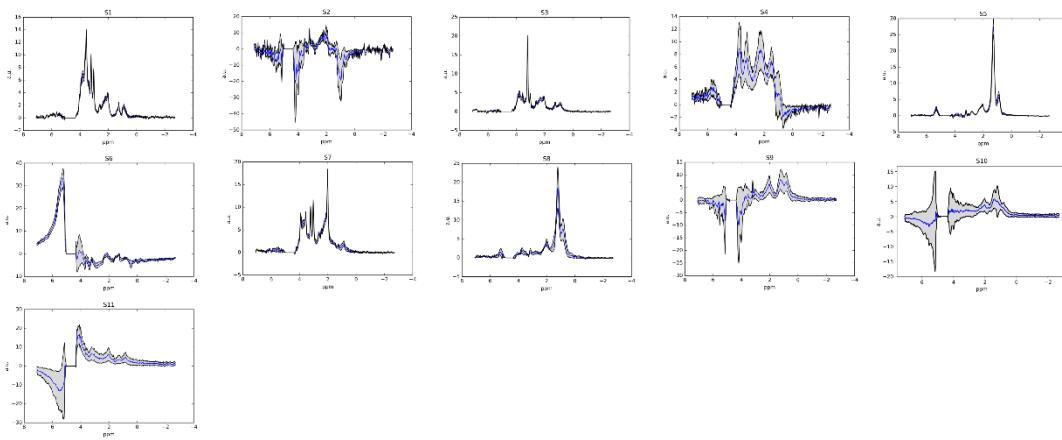
**Anexo 2.1** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 9$  de los datos adquiridos a TEC ( $N = 1180$ ). Nuevamente, la media está representada por una línea azul, mientras que la variabilidad descrita como DE (+/-) está sombreada en gris, delimitada por líneas negras. Otras características, como en la leyenda de la figura 7.



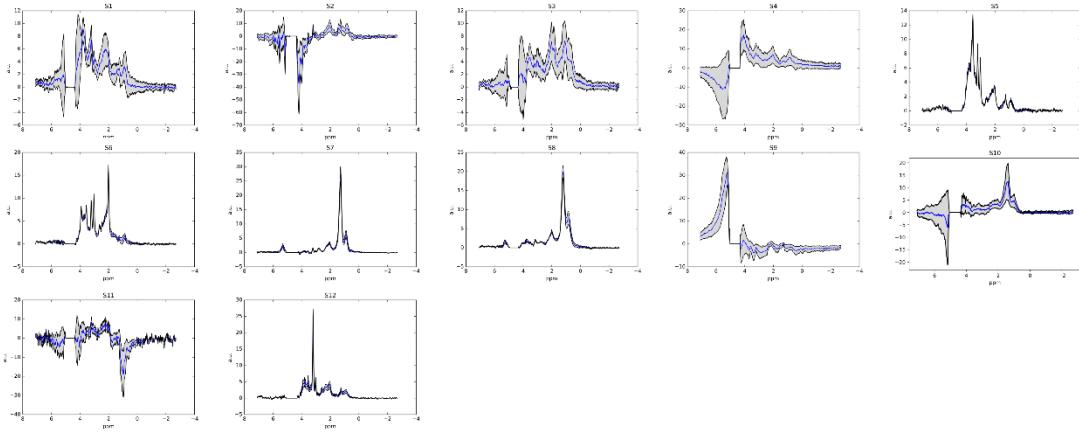
**Anexo 2.2** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 10$  de los datos adquiridos a TEC ( $N = 1180$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1.



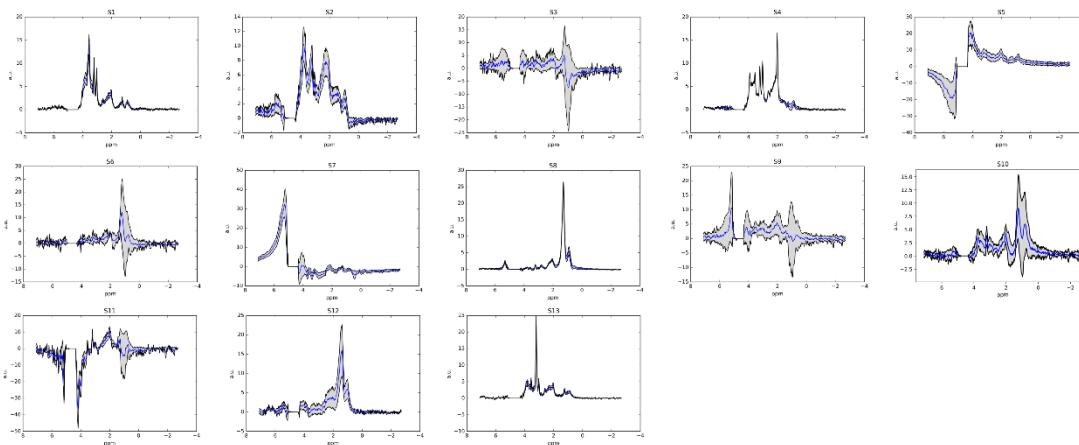
**Anexo 2.3** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 11$  de los datos adquiridos a TEC ( $N = 1180$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1.



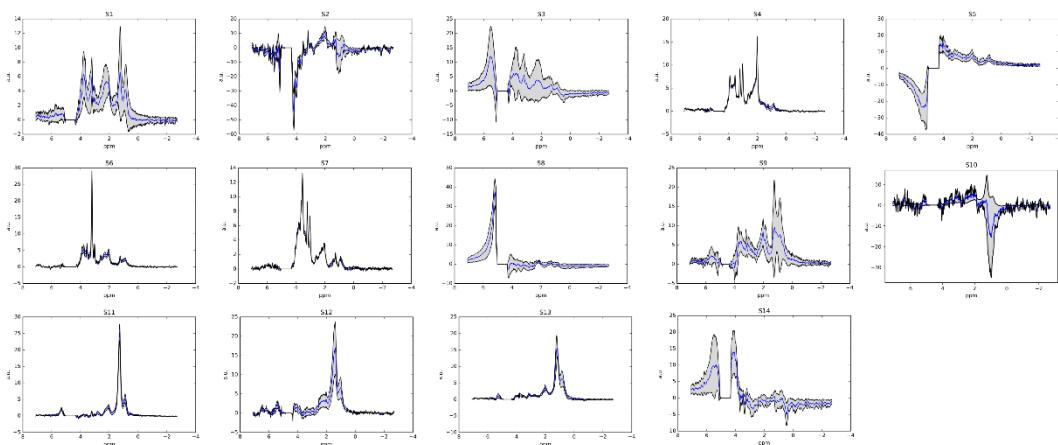
**Anexo 2.4** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 12$  de los datos adquiridos a TEC ( $N = 1180$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



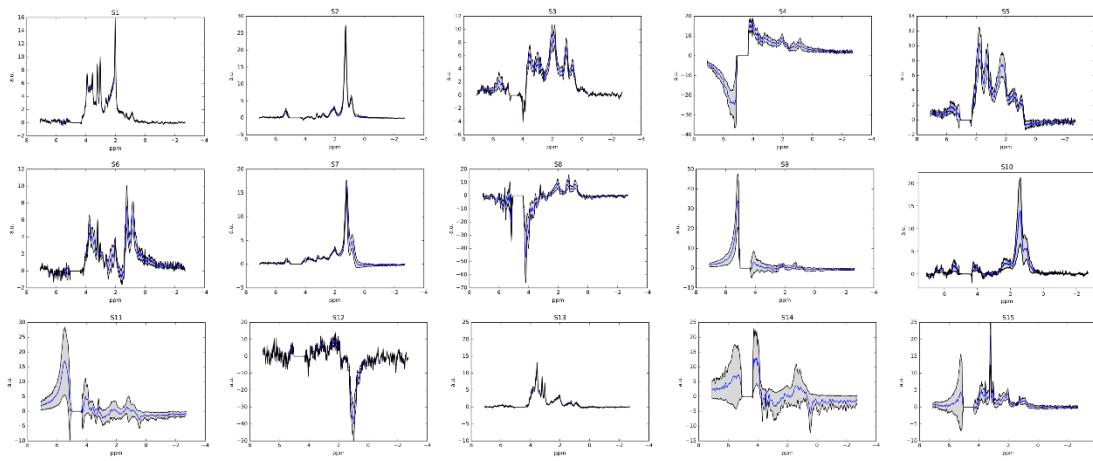
**Anexo 2.5** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 13$  de los datos adquiridos a TEC ( $N = 1180$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



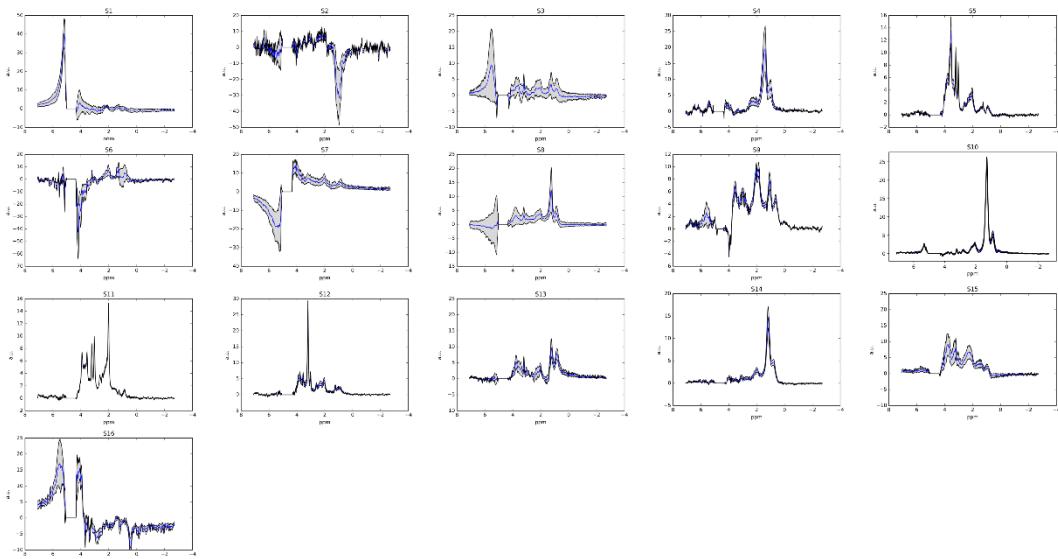
**Anexo 2.6** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 14$  de los datos adquiridos a TEC ( $N = 1180$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



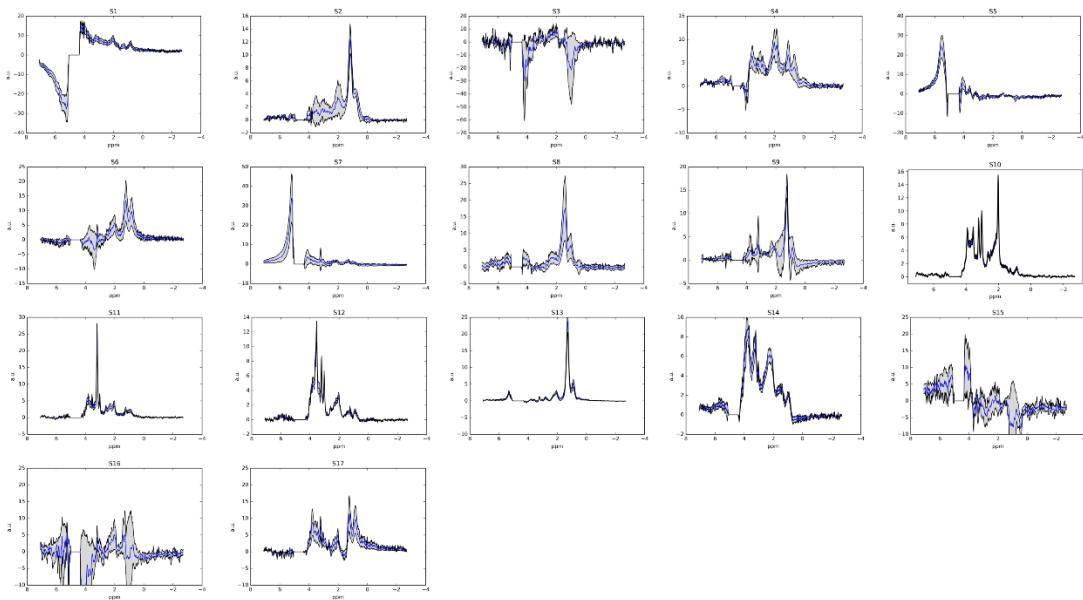
**Anexo 2.7** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 15$  de los datos adquiridos a TEC (  $N = 1180$  ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



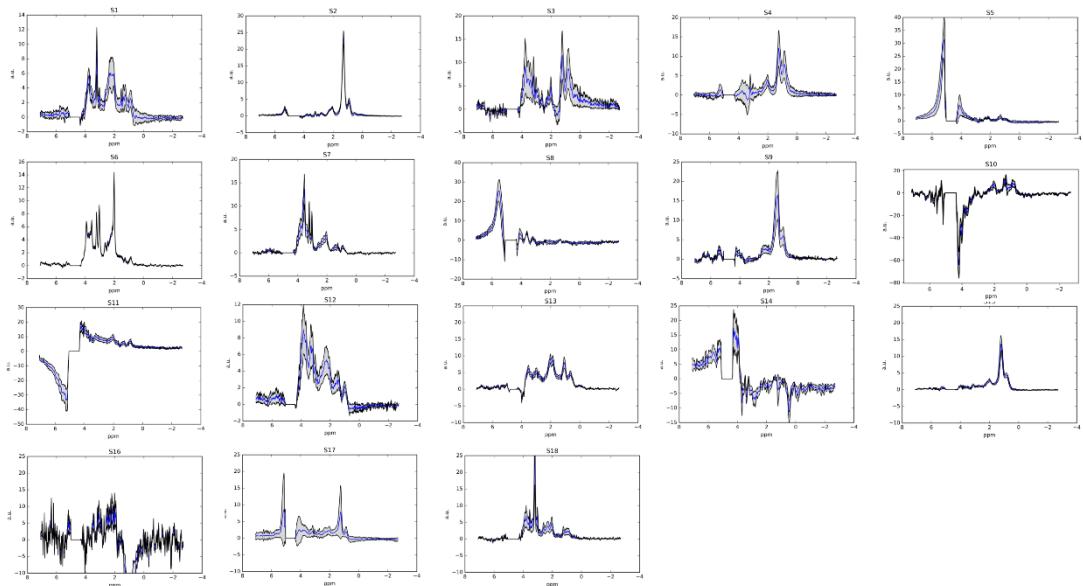
**Anexo 2.8** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 16$  de los datos adquiridos a TEC (  $N = 1180$  ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



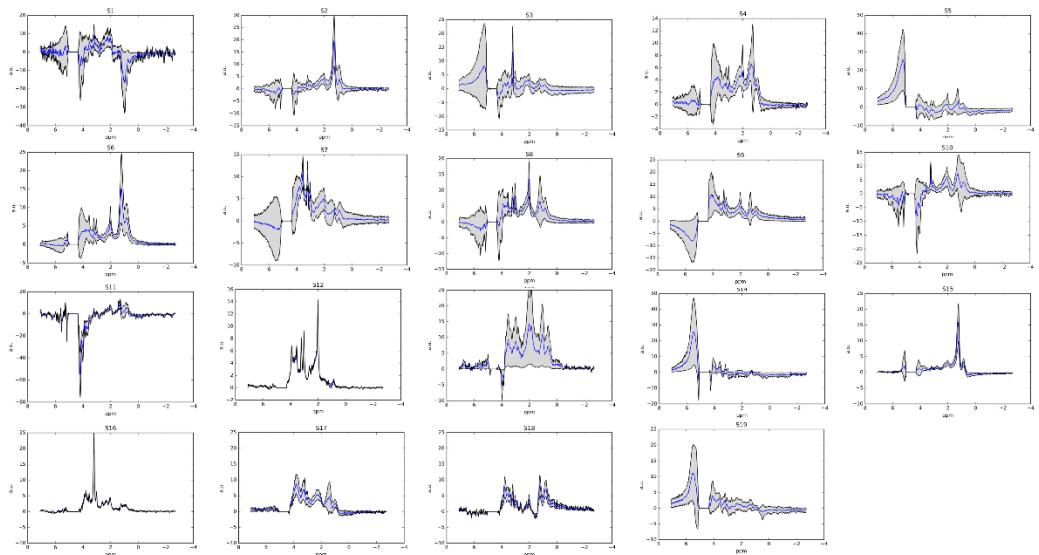
**Anexo 2.9** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 17$  de los datos adquiridos a TEC (  $N = 1180$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



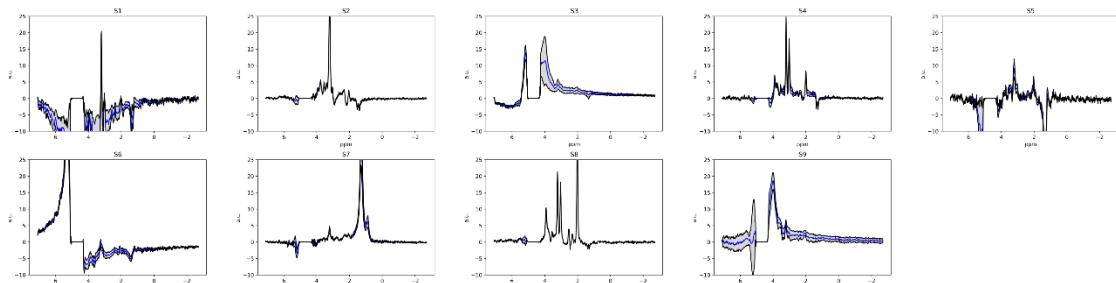
**Anexo 2.10** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 18$  de los datos adquiridos a TEC (  $N = 1180$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



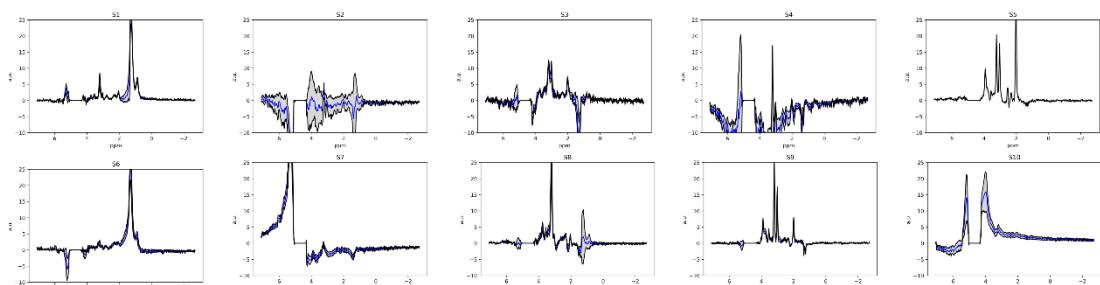
**Anexo 2.11** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 19$  de los datos adquiridos a TEC (  $N = 1180$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



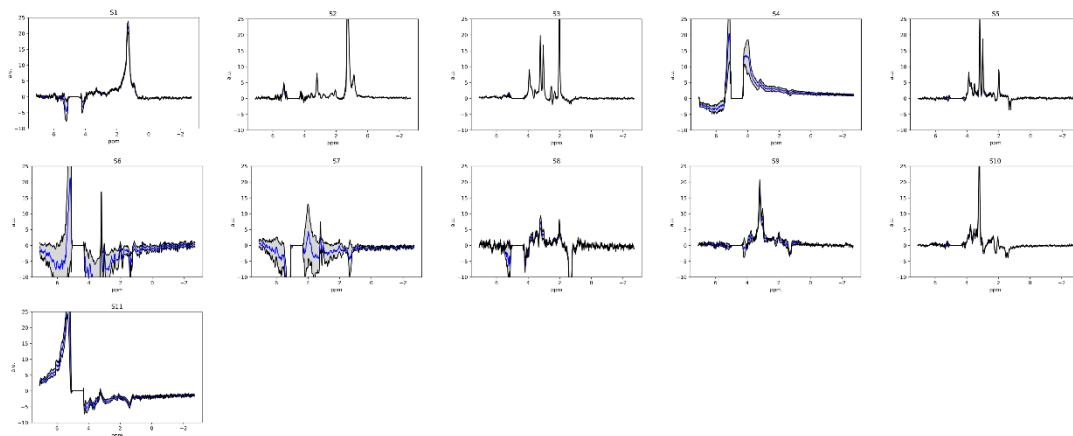
**Anexo 2.12** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 9$  de los datos adquiridos a TEL (  $N = 977$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



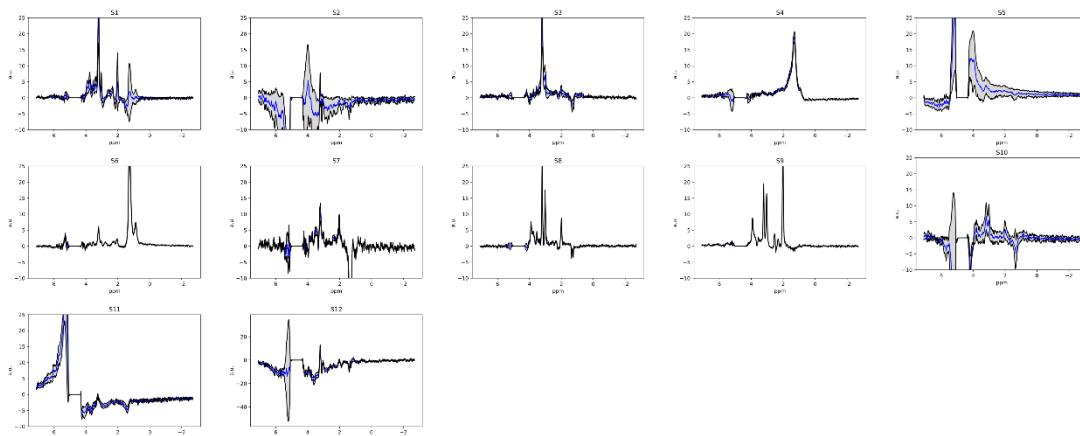
**Anexo 2.13** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 10$  de los datos adquiridos a TEL (  $N = 977$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



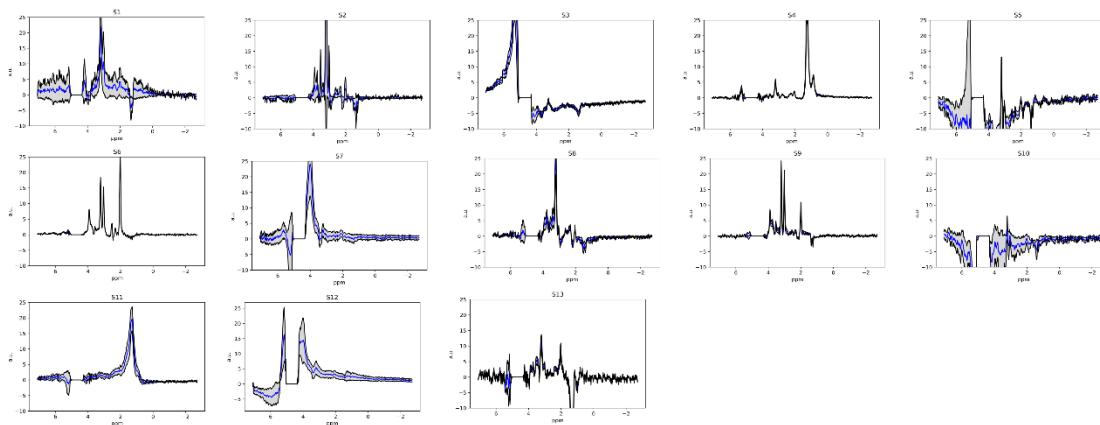
**Anexo 2.14** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 11$  de los datos adquiridos a TEL ( $N = 977$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



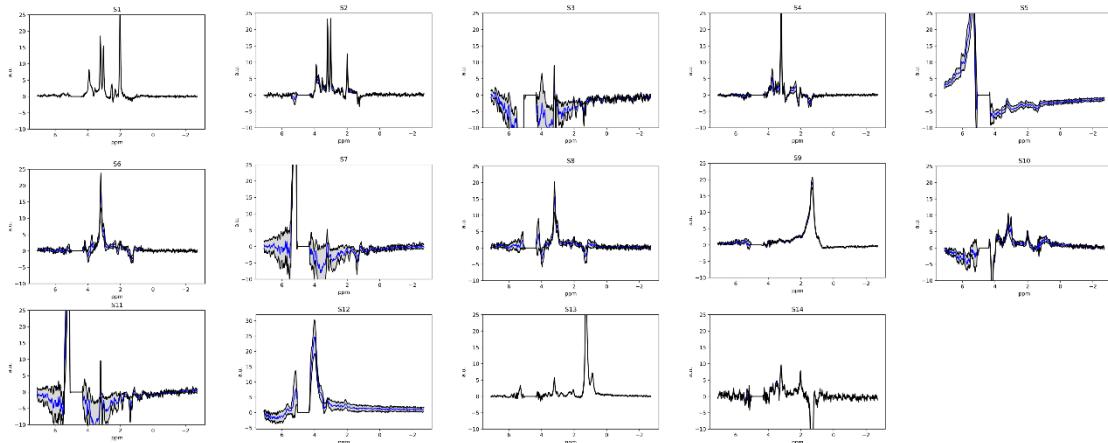
**Anexo 2.15** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 12$  de los datos adquiridos a TEL ( $N = 977$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



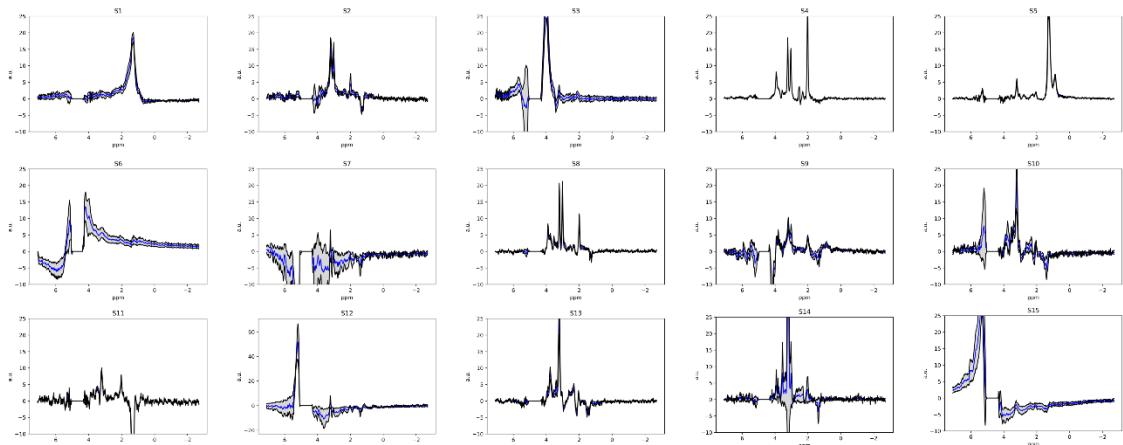
**Anexo 2.16** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 13$  de los datos adquiridos a TEL ( $N = 977$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



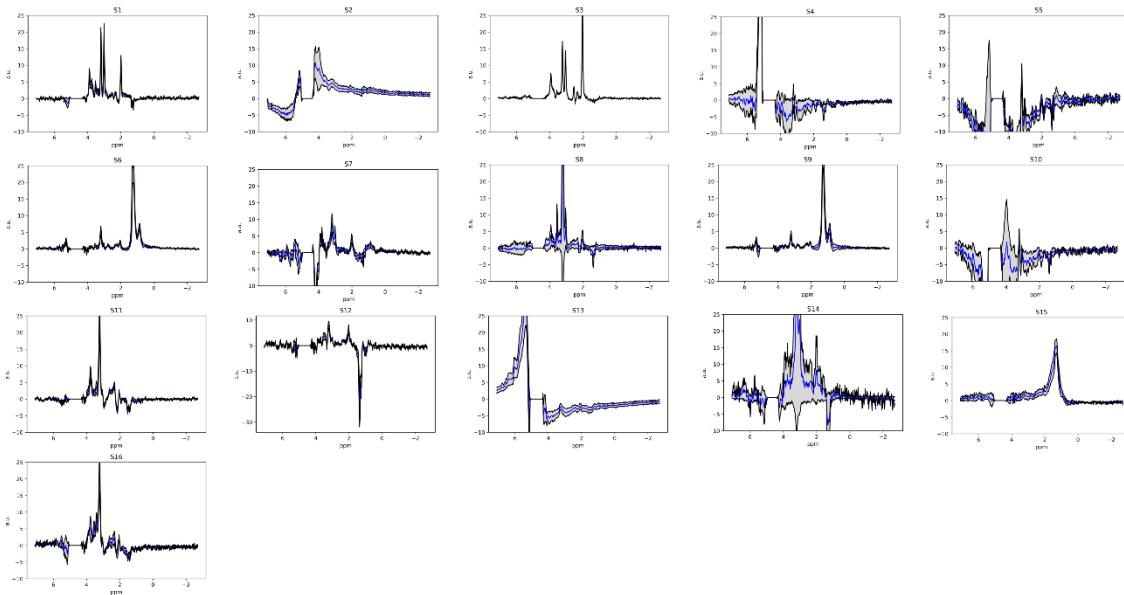
**Anexo 2.17** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 14$  de los datos adquiridos a TEL ( $N = 977$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



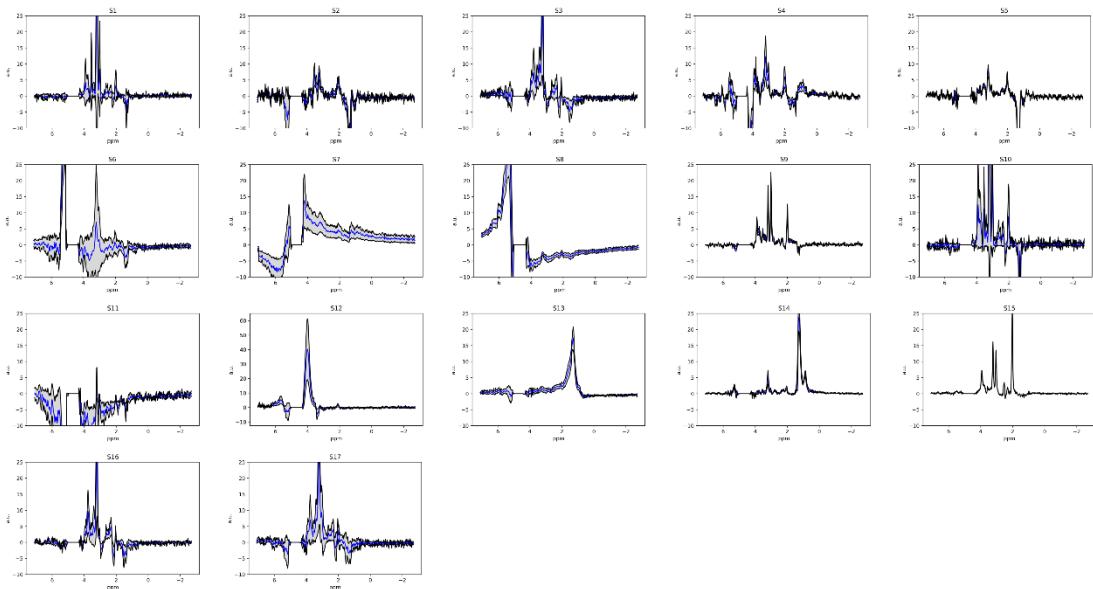
**Anexo 2.18** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 15$  de los datos adquiridos a TEL ( $N = 977$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



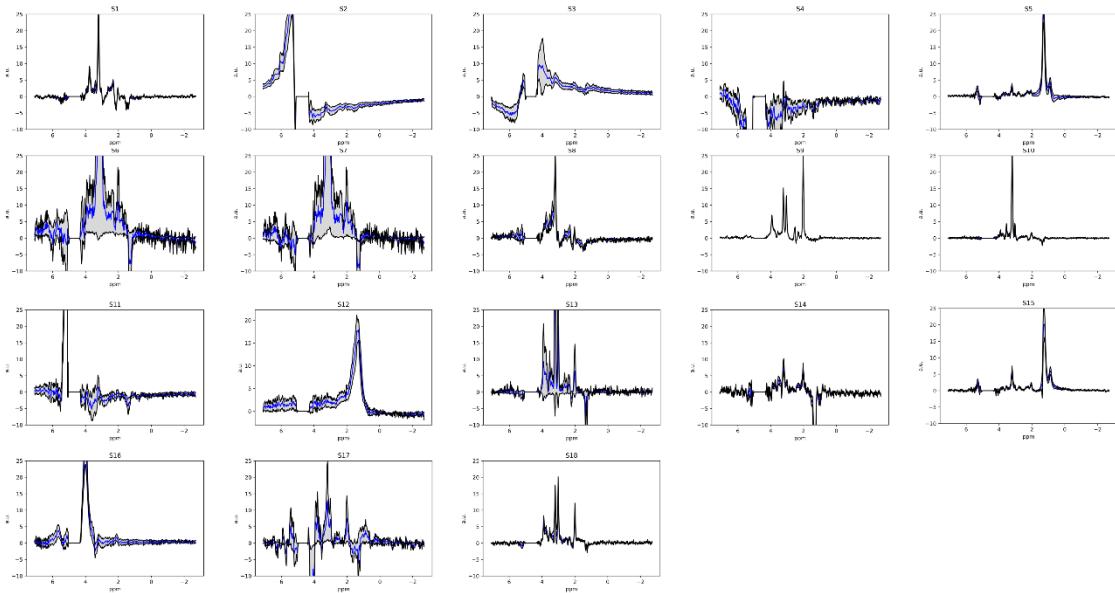
**Anexo 2.19** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 16$  de los datos adquiridos a TEL ( $N = 977$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



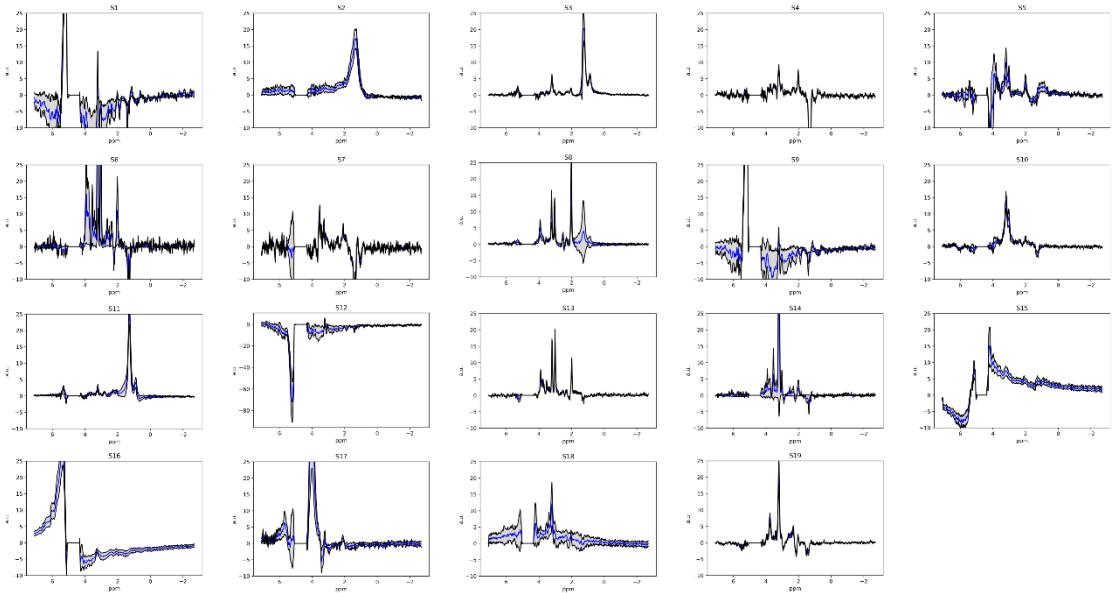
**Anexo 2.20** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 17$  de los datos adquiridos a TEL ( $N = 977$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



**Anexo 2.21** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 18$  de los datos adquiridos a TEL ( $N = 977$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1



**Anexo 2.22** Promedio y DE (+/-) de las fuentes extraídas para  $K = 19$  de los datos adquiridos a TEL ( $N = 977$ ). Otras características, como en la descripción del anexo 2.1

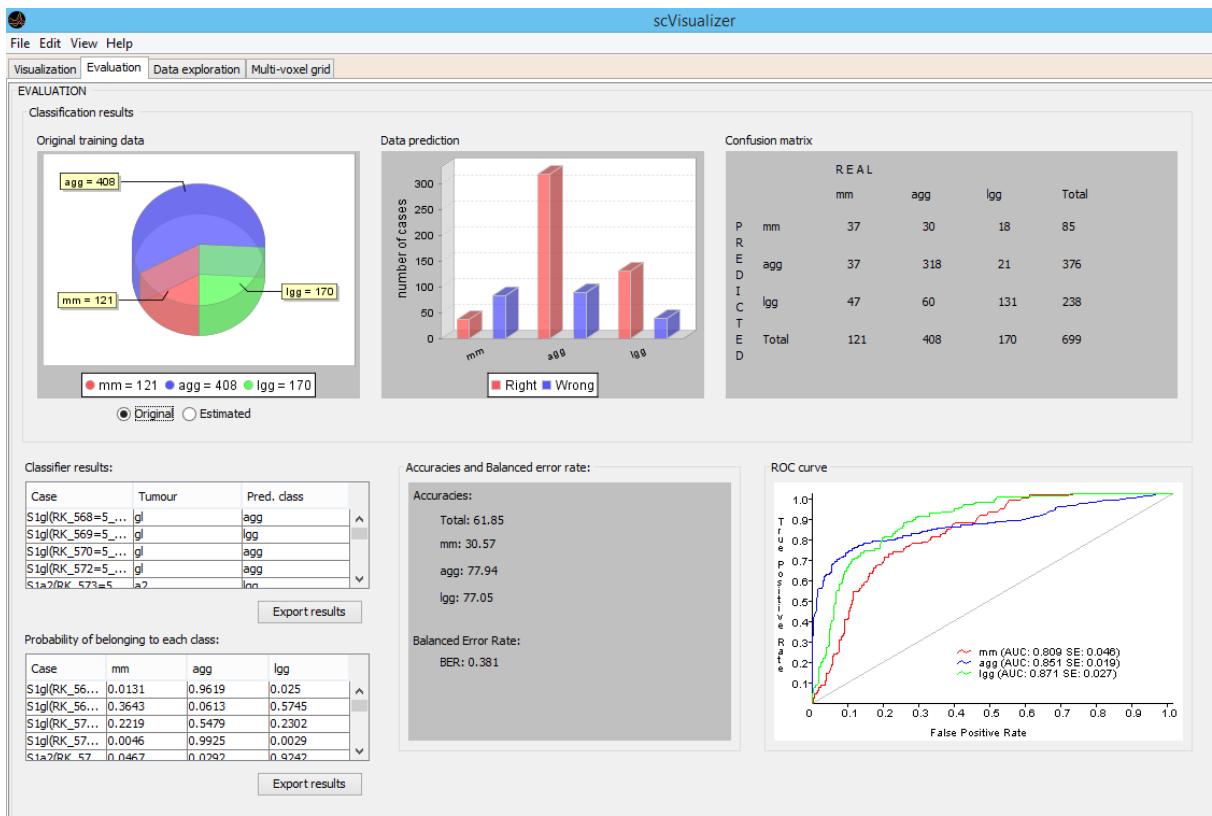


## Anexos Capítulo 3

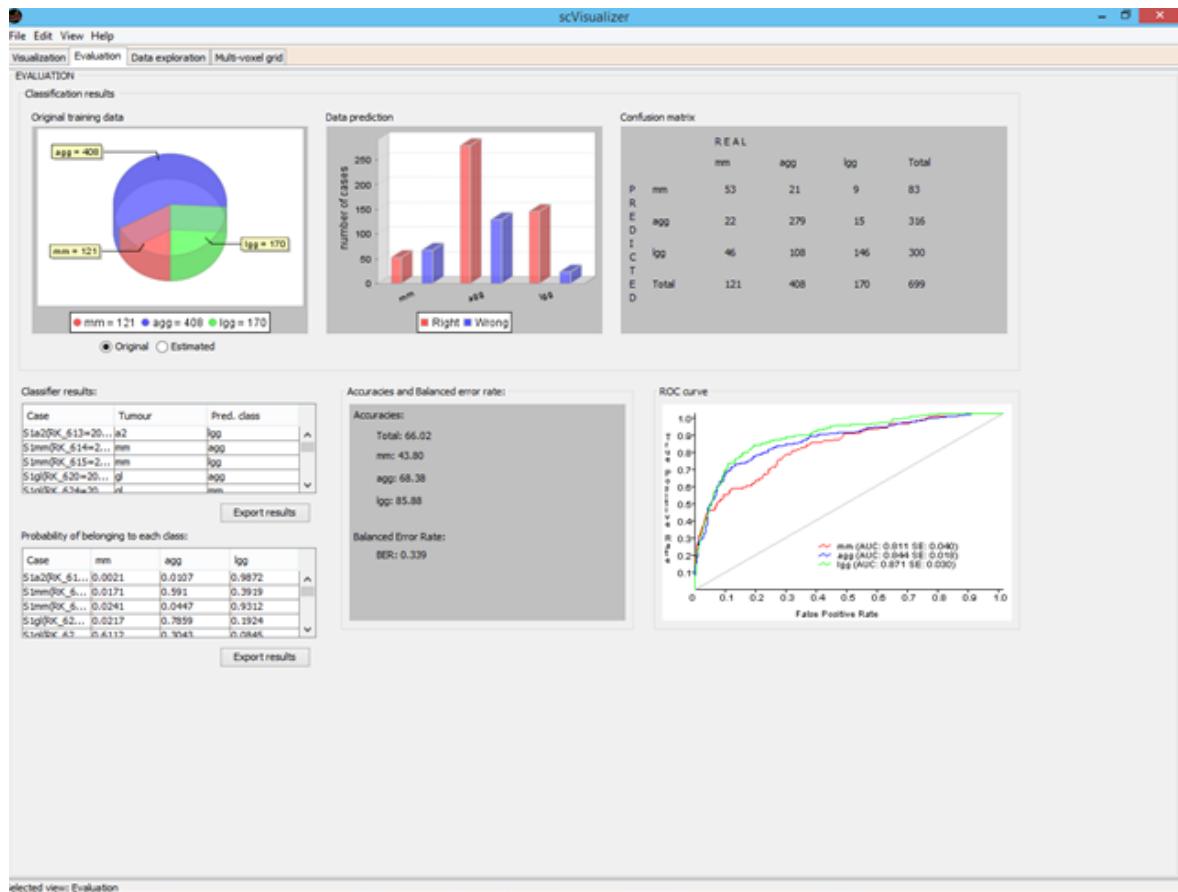
**Anexo 3.1** Evaluación de la clasificación de los Espectros Originales obtenidos mediante entrenamiento y testeо en SpectraClassifier\_Visualizer [78].



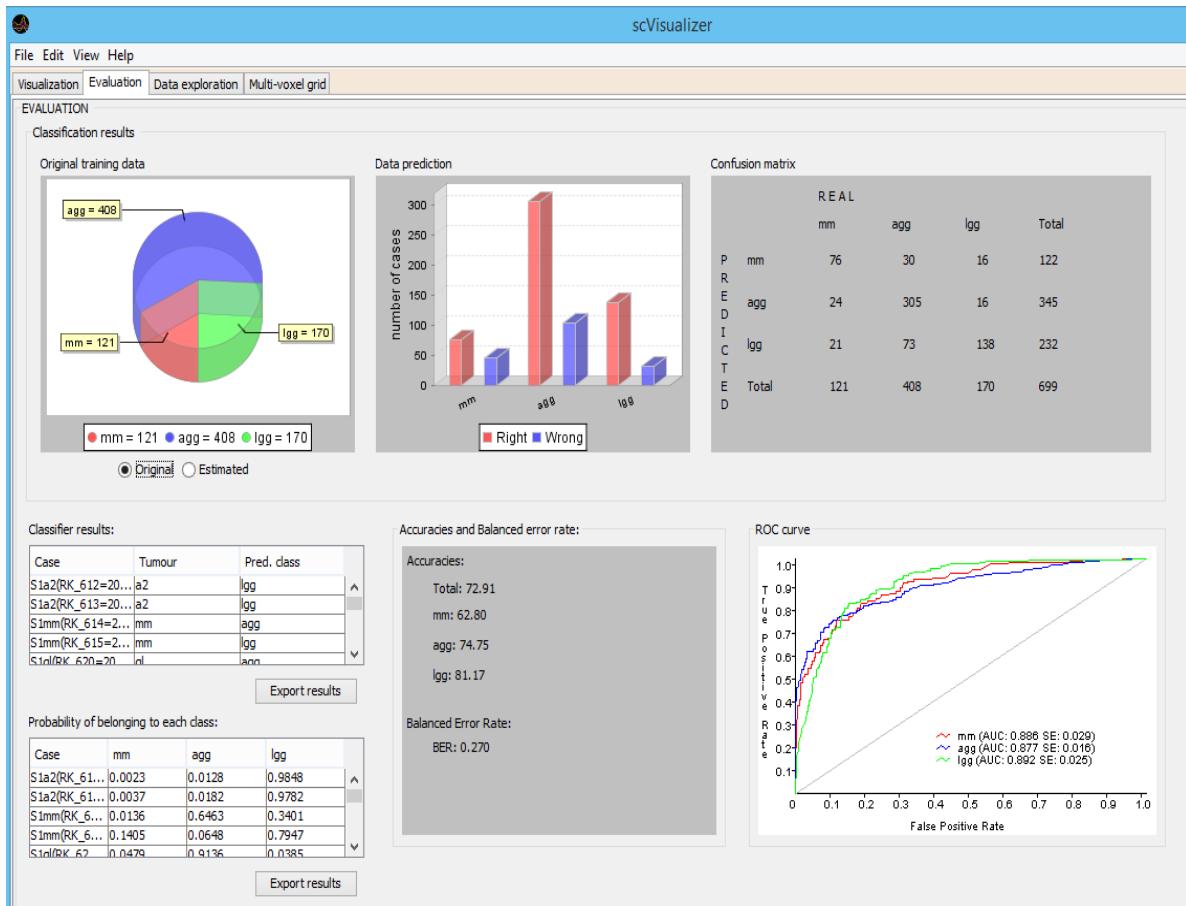
**Anexo 3.2 Evaluación de la clasificación de los Espectros Originales obtenidos mediante entrenamiento y testeо en SpectraClassifier\_Visualizer [78].**



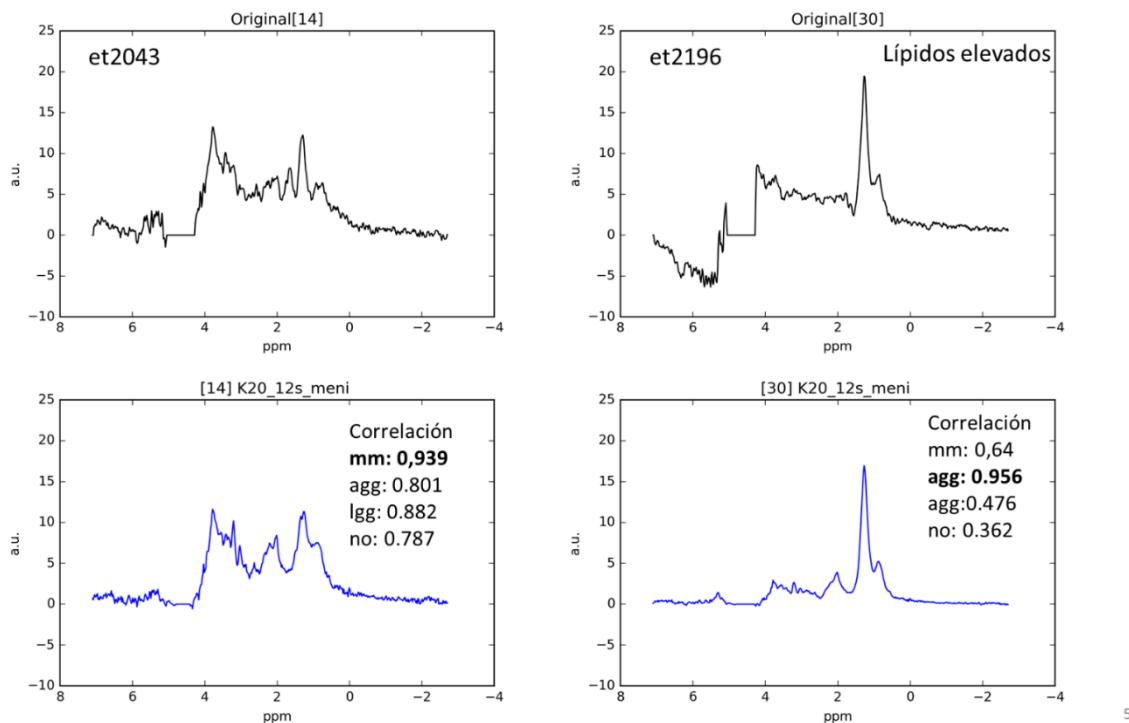
**Anexo 3.3 Evaluación de la clasificación de los Espectros Originales obtenidos mediante entrenamiento y testeо en SpectraClassifier\_Visualizer [78].**



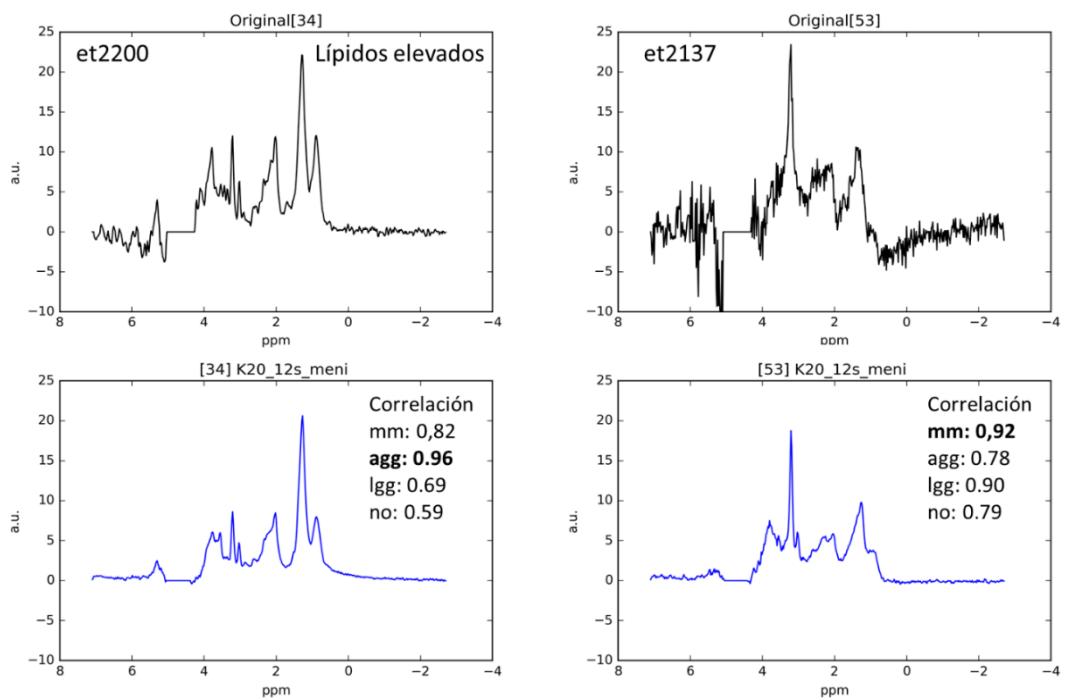
**Anexo 3.4 Evaluación de la clasificación de los Espectros Originales obtenidos mediante entrenamiento y testeо en SpectraClassifier\_Visualizer [78].**



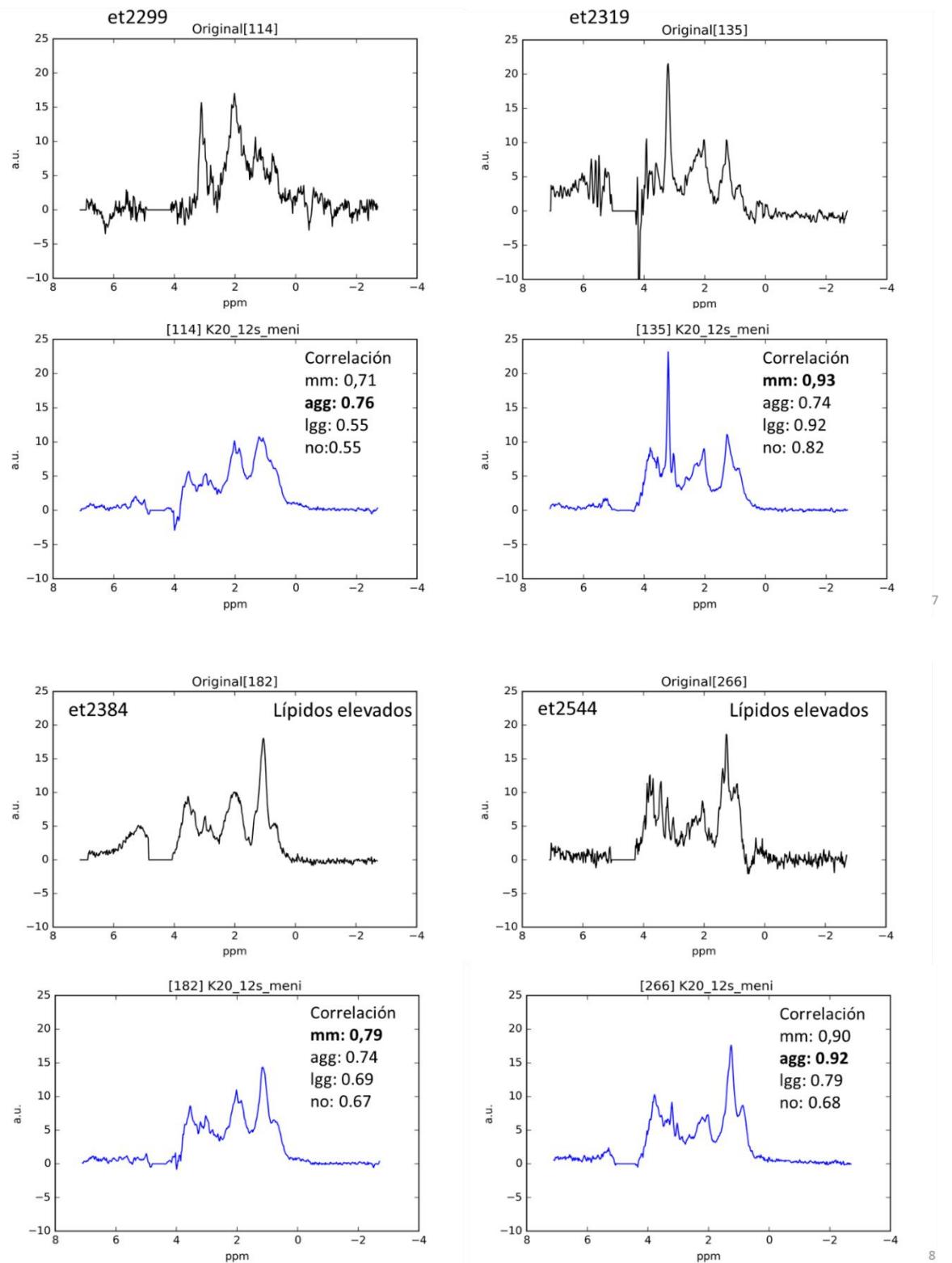
**Anexo 3.5** Espectros de los 45 meningiomas originales y reconstruidos con 12 fuentes mal clasificados. Espectros de color negro, originales; espectros de color azul, reconstruidos con 12 fuentes.

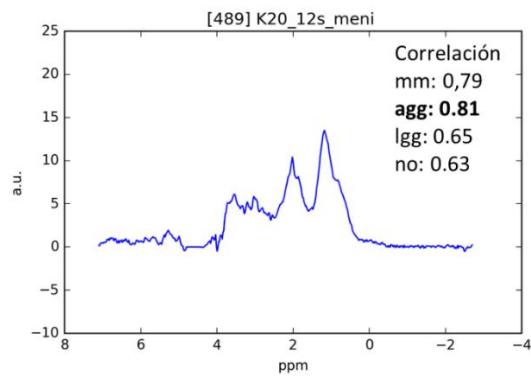
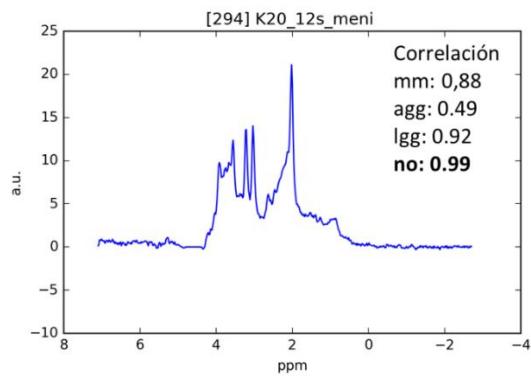
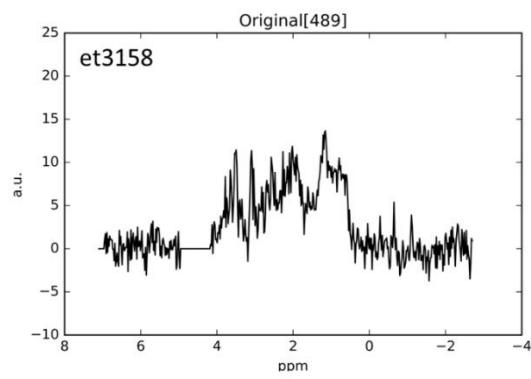
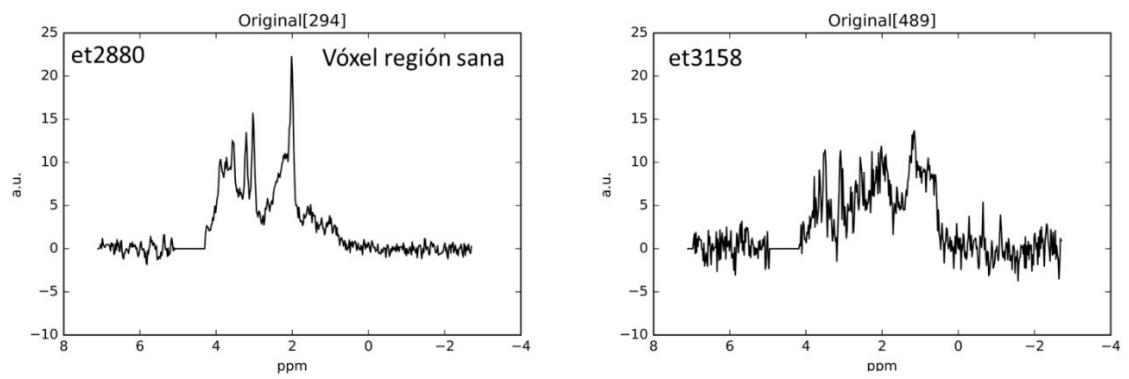


5

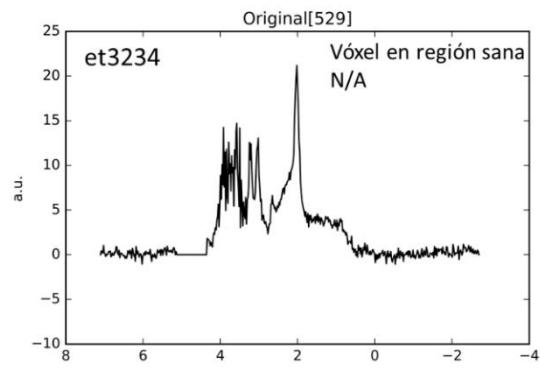
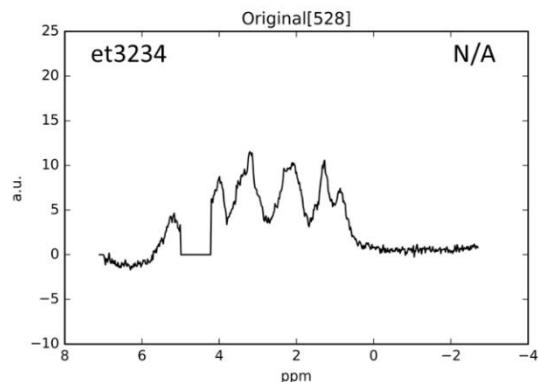


6

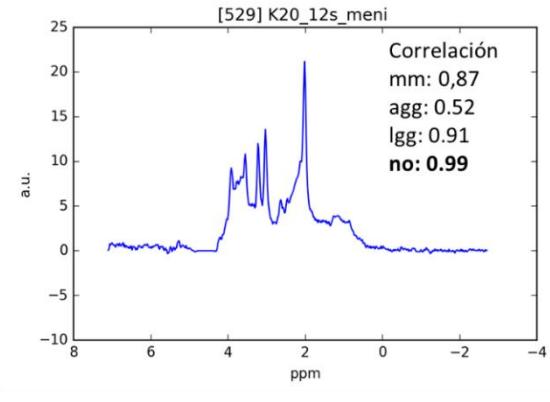
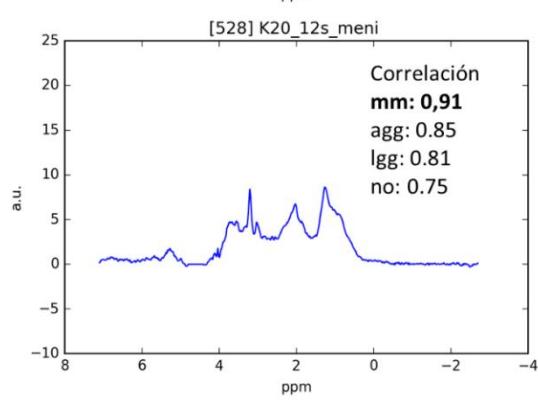




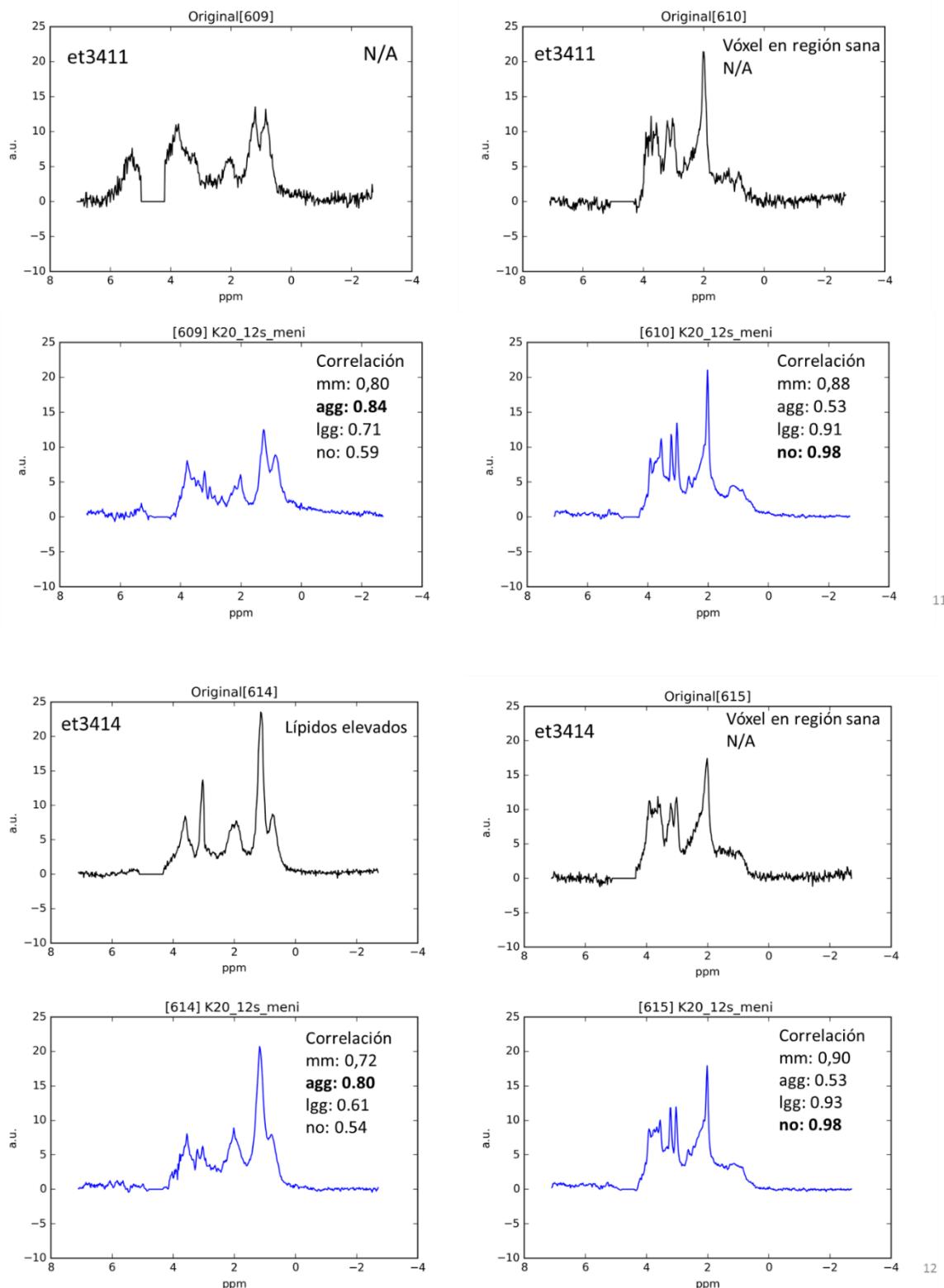
9

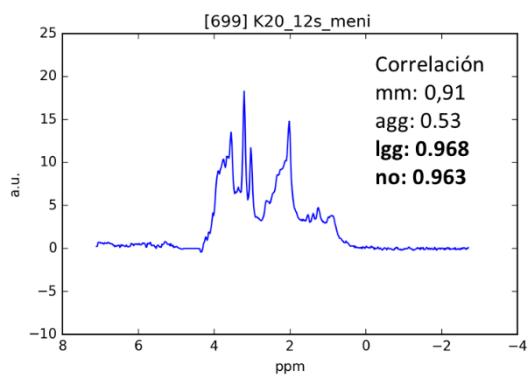
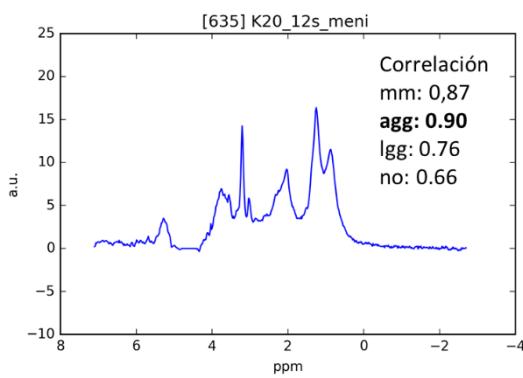
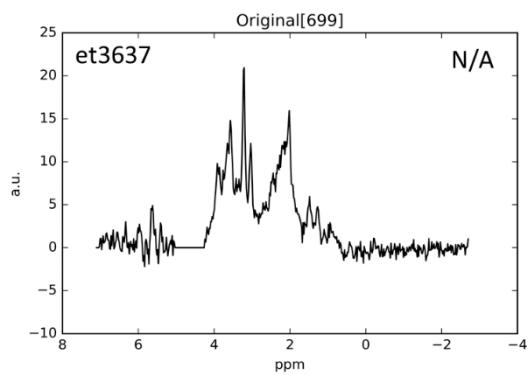
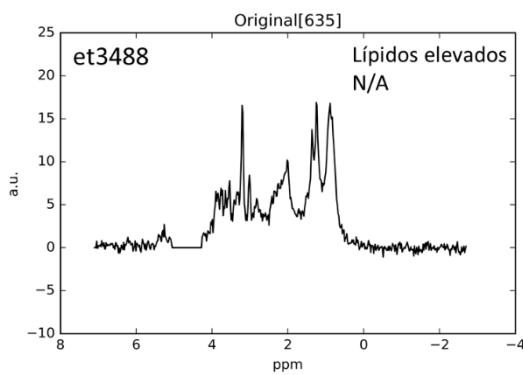


10

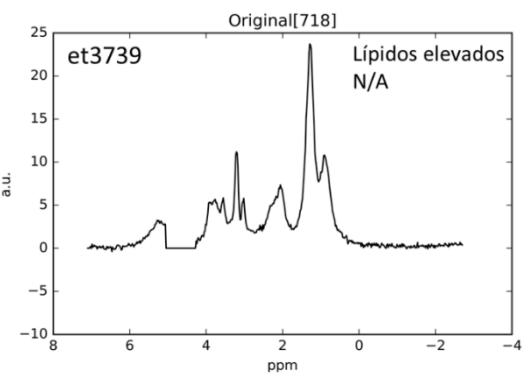
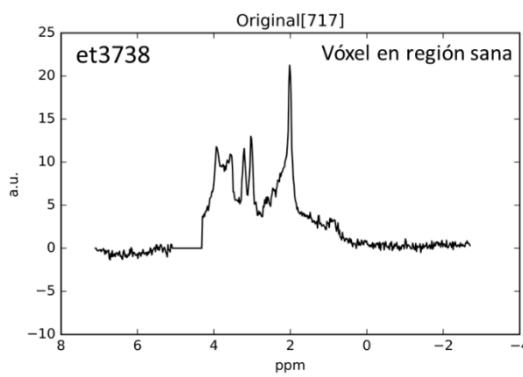


10

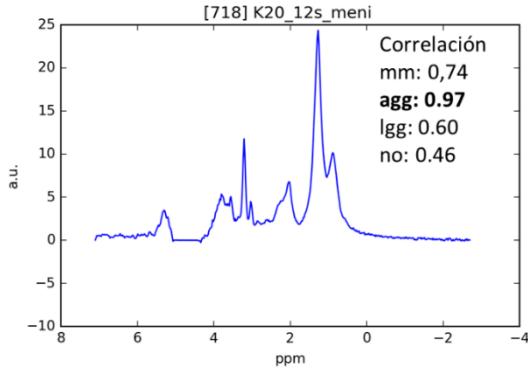
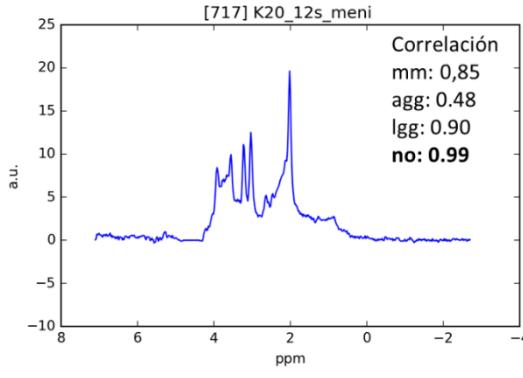




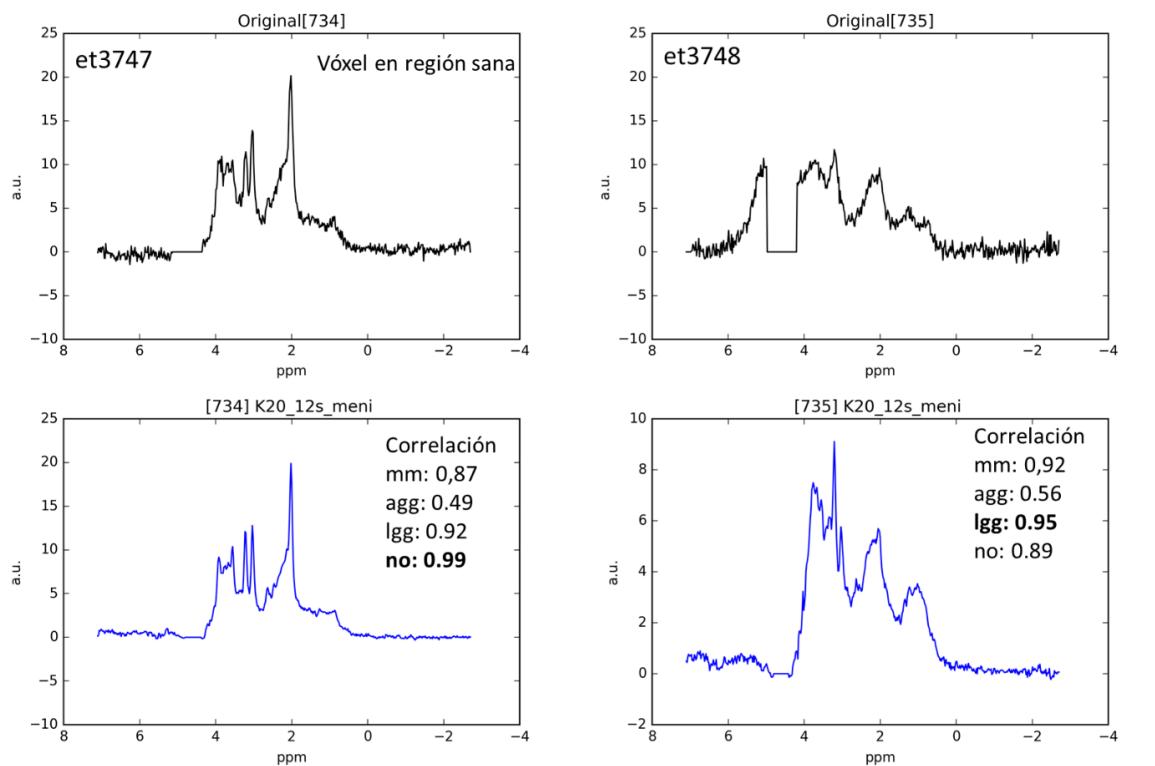
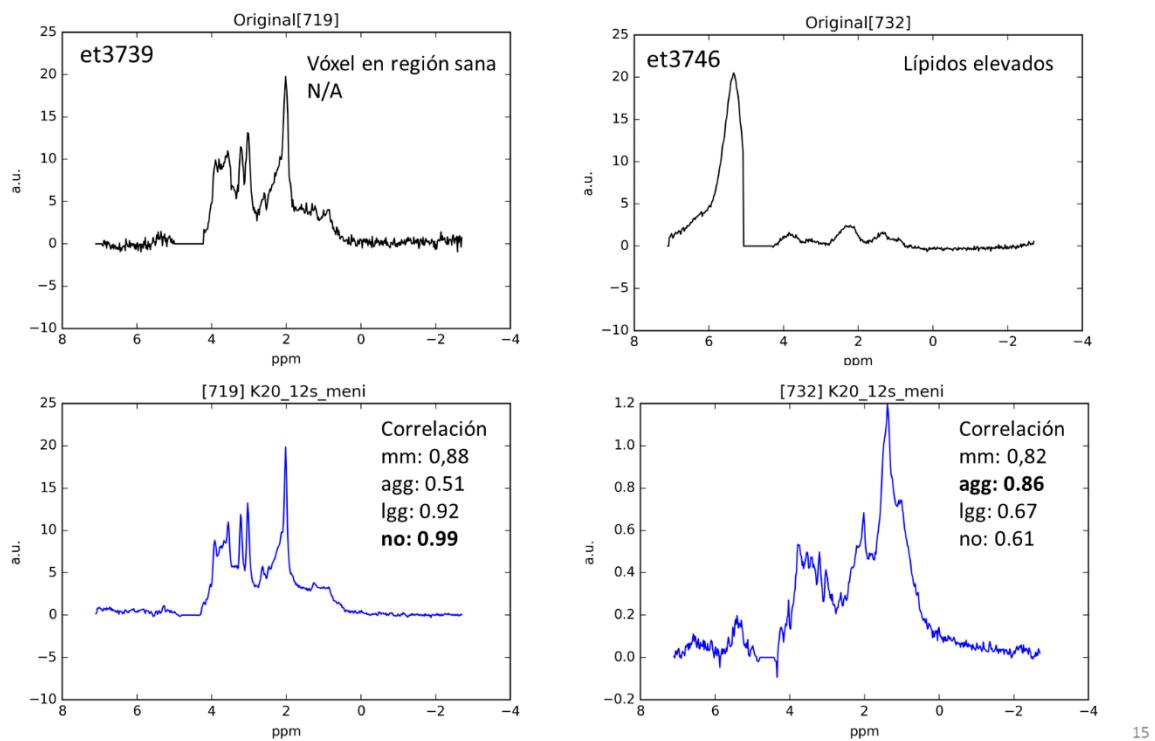
13

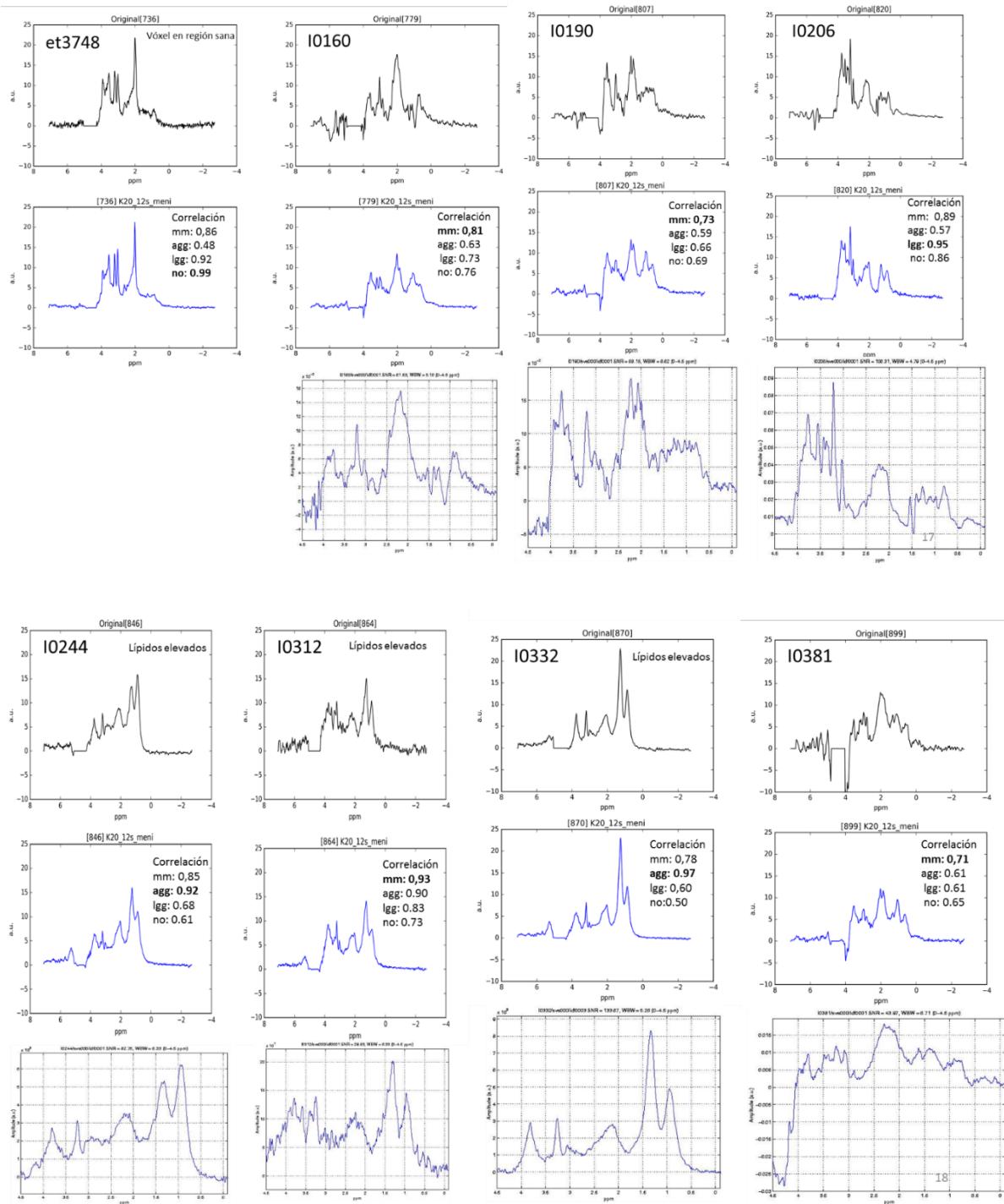


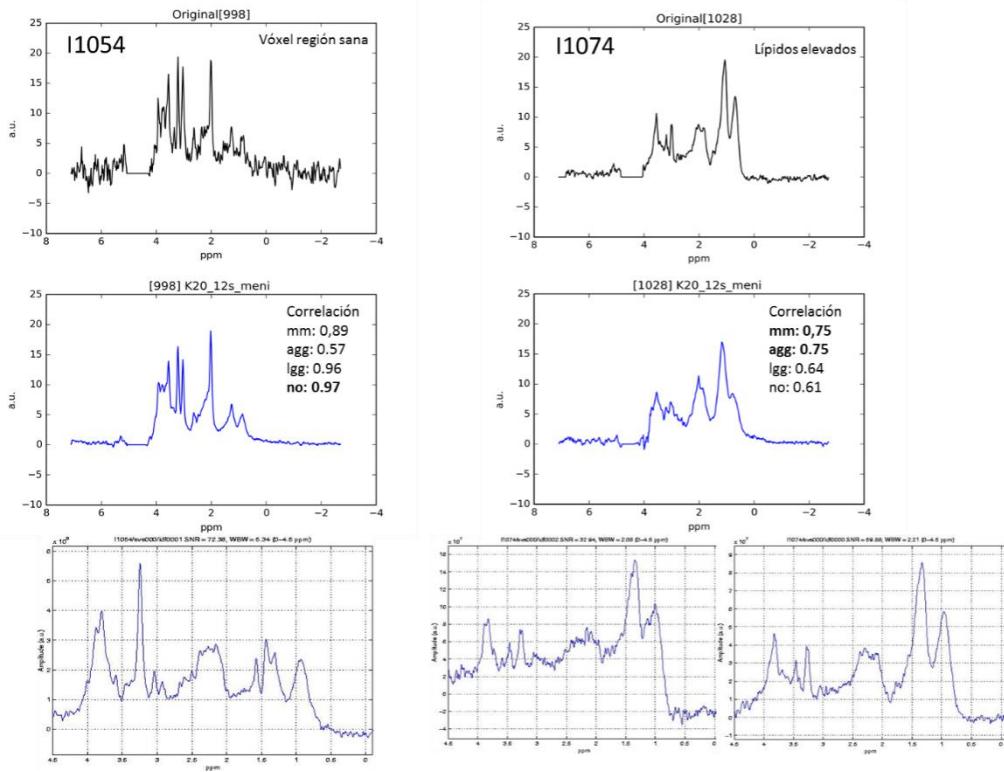
13



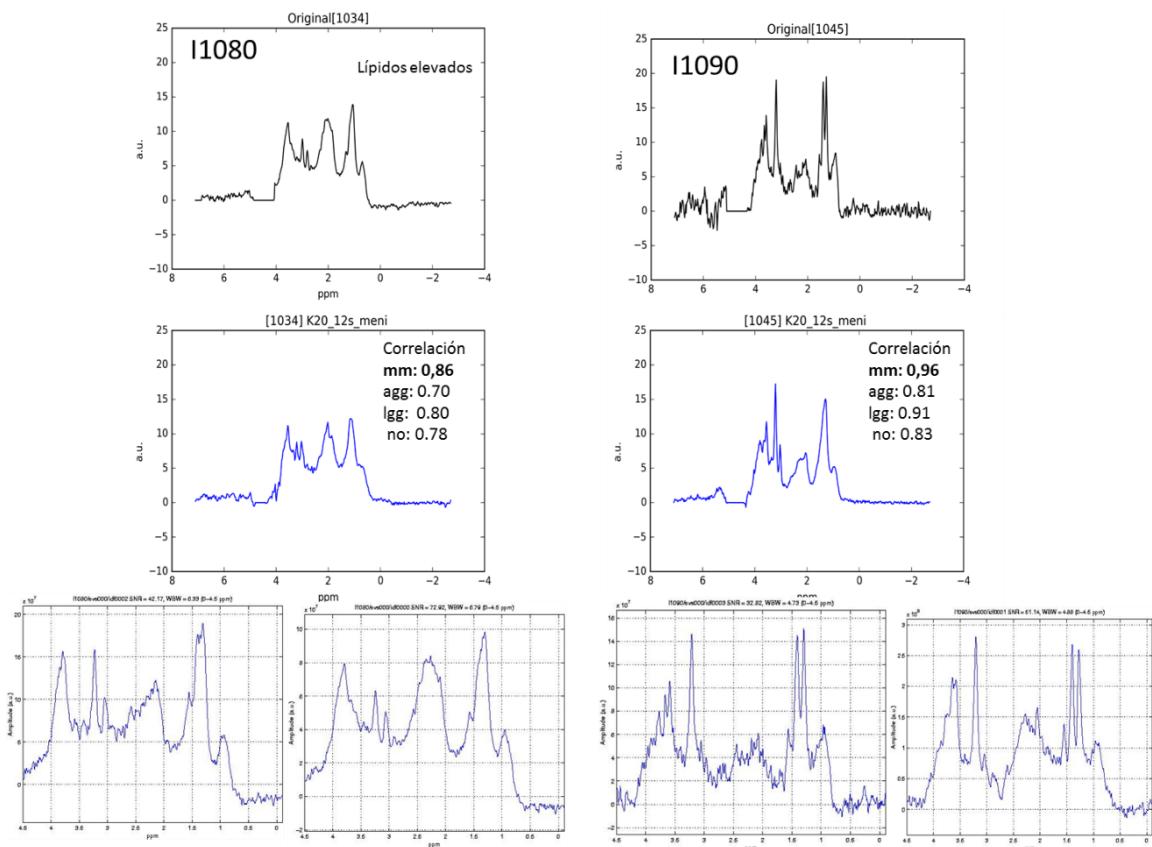
14



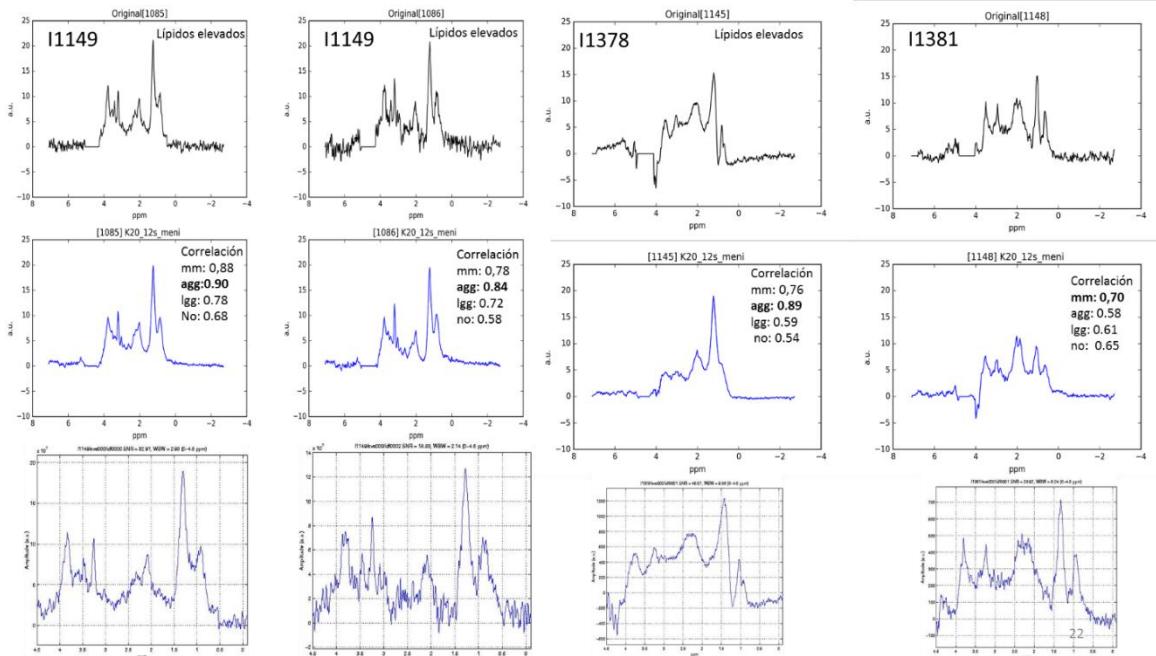
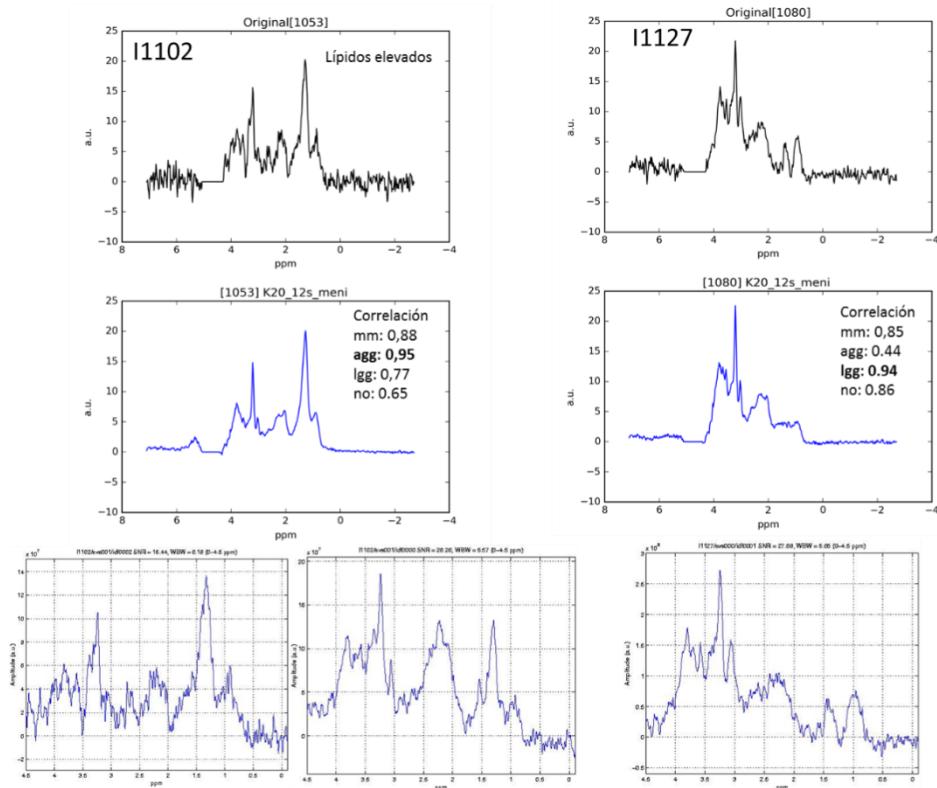


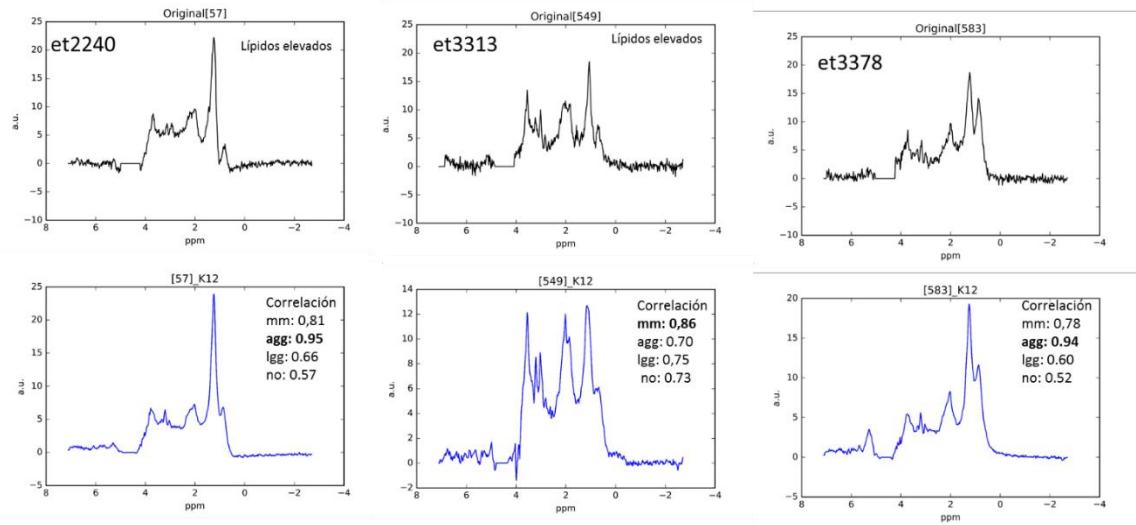


19

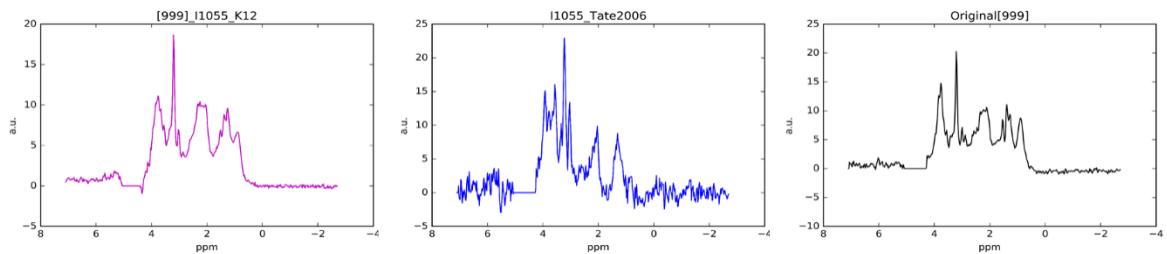


20

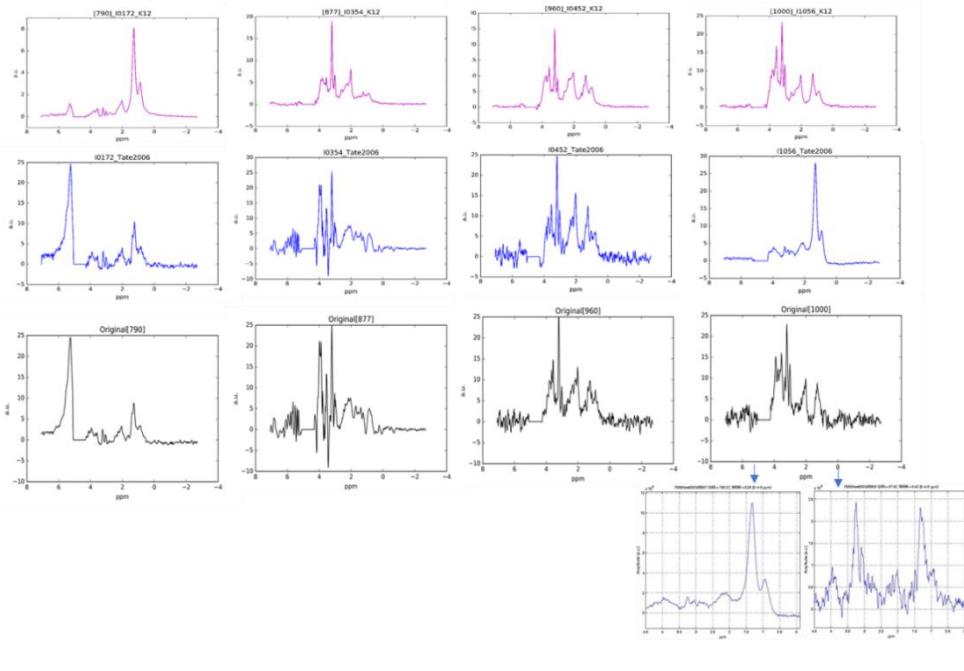




**Anexo 3.6** Caso glioma bajo grado que al ser reconstruido con 12 fuentes se clasifican mal (de los 161 casos bien clasificados según Tate 2006). Espectros originales los de color negro, espectros reconstruidos con 12 fuentes lo de color magenta y espectros obtenidos de la base de datos [53] los de color azul.

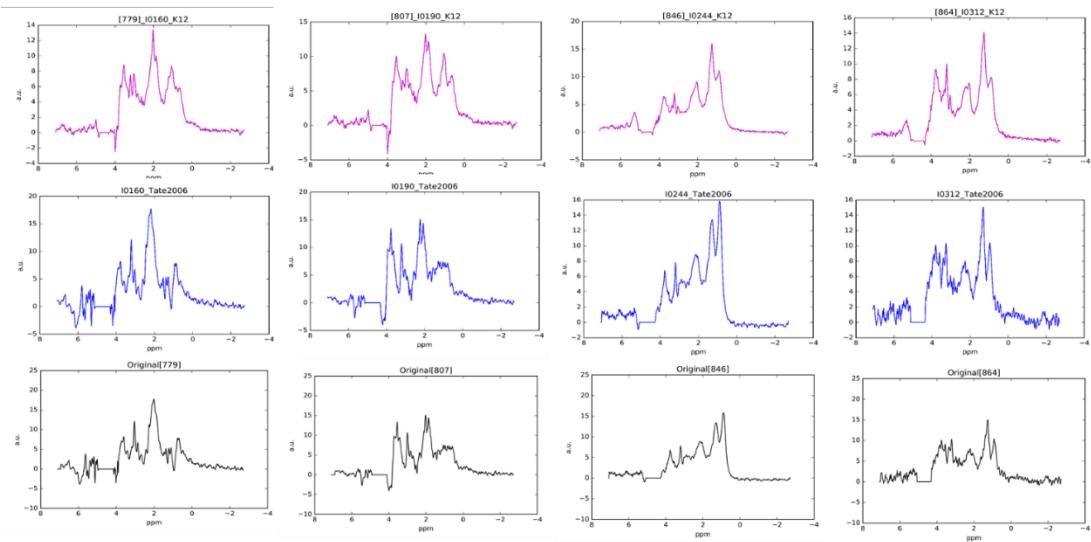


**Anexo 3.7** Cuatro casos de gliomas de alto grado que al ser reconstruidos con 12 fuentes se clasifican mal (de los 161 casos bien clasificados según [53])



45

**Anexo 3.8** Nueve casos de meningiomas que al ser reconstruidos con 12 fuentes se clasifican mal (de los 161 casos bien clasificados según Tate 2006)



47

