



TESIS

Para la obtención del grado de
MAGÍSTER EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA
MENCIÓN INGENIERÍA BIOMÉDICA

por

IRENE MARÍN RADOSZYNSKI

2 de diciembre del 2022

**Análisis del sistema glinfático mediante imágenes de resonancia
magnética por tensor de difusión a lo largo del espacio perivascular
(DTI-ALPS) en pacientes con glioma**

COMISIÓN EVALUADORA

Dra. Stéren Chabert (UV)	Profesor Guía
Dra. Carolina Saavedra (UV)	Profesor Corrector
Dr. Pablo Cox (HCVB)	Profesor Corrector Externo

**MAGÍSTER EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA,
MENCIÓN INGENIERÍA BIOMÉDICA
UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO - FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA CIVIL BIOMÉDICA**

IRENE MARÍN RADOSZYNSKI

ANÁLISIS DEL SISTEMA GLINFÁTICO MEDIANTE IMÁGENES DE RESONANCIA MAGNÉTICA POR TENSOR DE DIFUSIÓN A LO LARGO DEL ESPACIO PERIVASCULAR (DTI-ALPS) EN PACIENTES CON GLIOMA

Tesis entregada a la Escuela de Ingeniería Civil Biomédica de la Universidad de Valparaíso, para dar cumplimiento como requerimiento parcial para la obtención del grado de **Magister en Ciencias de la Ingeniería, mención Ingeniería Biomédica**.

El trabajo fue evaluado por la siguiente Comisión:

Profesor Guía:

Dra. Stéren Chabert
Escuela de Ingeniería Civil Biomédica.
Facultad de Ingeniería.
Universidad de Valparaíso.

Profesor Corrector:

Dra. Carolina Saavedra
Escuela de Ingeniería Civil Biomédica.
Facultad de Ingeniería.
Universidad de Valparaíso.

Profesor Externo:

Dr. Pablo Cox
Hospital Carlos van Buren

**MAGÍSTER EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA,
MENCIÓN INGENIERÍA BIOMÉDICA
UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO - FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA CIVIL BIOMÉDICA**

IRENE MARÍN RADOSZYNSKI

PROFESOR GUÍA: Dra. Stéren Chabert

ANÁLISIS DEL SISTEMA GLINFÁTICO MEDIANTE IMÁGENES DE RESONANCIA MAGNÉTICA POR TENSOR DE DIFUSIÓN A LO LARGO DEL ESPACIO PERIVASCULAR (DTI-ALPS) EN PACIENTES CON GLIOMA

RESUMEN:

Recientemente se ha demostrado la existencia del sistema glinfático como un mecanismo auténtico de drenaje y limpieza del líquido intersticial en el parénquima cerebral. El objetivo de este trabajo consiste en el análisis del sistema glinfático mediante imágenes de resonancia magnética por tensor de difusión, para ver si es posible detectar si existe un mal funcionamiento en gliomas. Para ello, se ha empleado el método del análisis de imágenes por tensor de difusión a lo largo del espacio perivascular (DTI-ALPS), propuesto por primera vez en 2017, que ofrece una oportunidad para la investigación no invasiva del sistema glinfático. Este proyecto se trata de un trabajo exploratorio del comportamiento del índice ALPS, para valorar su reproducibilidad en sujetos sanos, con imágenes DTI de 16 sujetos en 2 sesiones, y su utilidad en caso de glioma, con imágenes DTI de 45 pacientes con glioma del Hospital Carlos Van Buren. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que no hay diferencias significativas para el índice ALPS entre sesiones para sujetos sanos ($p > 0.05$). Tampoco existen diferencias significativas entre los hemisferios cerebrales ni entre el sexo femenino y masculino para sujetos sanos ($p > 0.05$), mientras que sí hay

una correlación negativa significativa entre el índice ALPS y la edad ($p < 0.001$). Por otro lado, en los gliomas existen diferencias significativas para el índice ALPS entre el hemisferio ipsilateral a la lesión y el hemisferio contralateral ($p < 0.05$) y entre gliomas benignos y malignos en el hemisferio ipsilateral ($p < 0.05$). Como conclusión, este estudio muestra la reproducibilidad del índice ALPS en sujetos sanos y confirma la alteración del sistema glinfático en pacientes con glioma. Así, el novedoso método del ALPS pueden ayudar a comprender los gliomas desde una nueva perspectiva.

Para el estudio, se han utilizado imágenes de 45 pacientes con glioma del hospital. Además, el estudio se ha complementado con una base de datos de 16 sujetos sanos a modo de grupo control. **PALABRAS CLAVES:** Sistema glinfático; ALPS; Glioma; Imágenes por tensor de difusión; Resonancia magnética.

**MAGÍSTER EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA,
MENCIÓN INGENIERÍA BIOMÉDICA
UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO - FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA CIVIL BIOMÉDICA**

IRENE MARÍN RADOSZYNSKI

PROFESSOR: Dra. Stéren Chabert

ANÁLISIS DEL SISTEMA GLINFÁTICO MEDIANTE IMÁGENES DE RESONANCIA MAGNÉTICA POR TENSOR DE DIFUSIÓN A LO LARGO DEL ESPACIO PERIVASCULAR (DTI-ALPS) EN PACIENTES CON GLIOMA

ABSTRACT:

The existence of the glymphatic system has recently been demonstrated as a pathway for waste clearance and maintaining fluid balance in the brain parenchymal interstitium. The aim of this work is to analyse this system using diffusion tensor imaging to detect if there are alterations in glioma patients. We have used the diffusion tensor imaging analysis along the perivascular space (DTI-ALPS) method, first proposed in 2017. This method offers an opportunity for non-invasive research of the glymphatic system. This project is an exploratory study about the behaviour of the ALPS index, to evaluate its reproducibility in healthy subjects, using DTI images of 16 subjects in 2 sessions, and its utility in glioma, using DTI images of 45 patients with glioma from the Carlos Van Buren Hospital. The results show that there are no significant differences in the ALPS index between sessions for healthy subjects ($p > 0.05$). No significant differences were found neither between right and left hemisphere and between sex for healthy subjects ($p > 0.05$). There is a significant negative correlation between the ALPS index and age ($p < 0.001$). On the other hand, in gliomas there are significant differences in the ALPS index between the ipsilateral and the

contralateral hemispheres ($p < 0.05$) and between benign and malignant gliomas in the ipsilateral hemisphere ($p < 0.05$). In conclusion, this study shows the reproducibility of the ALPS index in healthy subjects and confirms the alteration of the glymphatic system in glioma patients. Thus, the novel ALPS method may help to understand gliomas from a new perspective.

KEYWORDS: Glymphatic System; ALPS; Glioma; Diffusion tensor imaging; Magnetic Resonance

Dedicatoria

E a coisa mais divina
Que há no mundo
É viver cada segundo
Como nunca mais

A mis abuelos Alfredo y Rachel

A mi familia y a Juan, por apoyarme siempre desde tan cerca aún estando lejos, y a Carlos, por estar a mi lado cada día desde principio a fin de este proyecto.

Agradecimientos

Quiero agradecer esta tesis a la Profesora Stéren Chabert, por haber sido mi tutora, haberme guiado en este proyecto tan interesante y por lo mucho que he aprendido gracias a usted.

Agradecer también al Hospital Van Buren de Valparaíso, por formar parte del proyecto de una manera activa, y en especial al Dr. Pablo Cox, que ha sido cotutor y ha hecho posible este trabajo de investigación.

Por último, agradecer a la Universidad de Valparaíso, que me ha aceptado como alumna de intercambio y me ha brindado esta valiosa experiencia en una ciudad tan única como lo es Valparaíso.

Indice

Resumen	III
Abstract	V
Dedicatoria	VII
Agradecimientos	VIII
Indice	IX
Lista de las Tablas	XI
Lista de las Figuras	XIII
1. Introducción	1
1.1. Papel del sistema glinfático en gliomas	4
1.2. Técnicas de análisis del sistema glinfático	7
1.3. Hipótesis	11
1.4. Objetivos	11
1.4.1. Objetivo General	11
1.4.2. Objetivos Específicos	11
1.5. Principales aportes de la investigación	11
2. Estado del arte	13
2.1. Índice ALPS en gliomas	22
2.2. Limitaciones	24
3. Desarrollo del método propuesto	27
3.1. Contexto y planteamiento del problema	27
3.2. Base de datos	30
3.2.1. Participantes	31
3.2.2. Adquisición de DTI	32
3.3. Procesamiento de las imágenes por tensor de difusión	33
3.4. Cálculo del índice ALPS	38

3.5.	Análisis estadístico	39
3.5.1.	Sujetos sanos	39
3.5.2.	Pacientes con glioma	40
3.5.3.	Diferencias entre las dos bases de datos	40
4.	Resultados	41
4.1.	Participantes	41
4.2.	Sujetos sanos	43
4.2.1.	Reproducibilidad entre sesiones	43
4.2.2.	Diferencias entre hemisferios	46
4.2.3.	Diferencias entre el sexo	47
4.2.4.	Correlación con la edad	48
4.2.5.	Regresión lineal múltiple	49
4.2.6.	Correlación con la FA	49
4.3.	Pacientes con glioma	51
4.3.1.	Correlación con la edad	52
4.3.2.	Diferencias entre el hemisferio ipsilateral y contralateral	53
4.3.3.	Diferencias entre el sexo	55
4.3.4.	Diferencias entre el grado del glioma	56
4.3.5.	Diferencias entre hemisferio, sexo y grado	57
4.3.6.	Correlación con la FA	57
4.3.7.	Correlación con el volumen del tumor	58
4.4.	Diferencias entre sujetos sanos y pacientes con glioma	58
4.5.	Variabilidad del índice ALPS	59
5.	Conclusiones	60
5.1.	Discusión y conclusión	60
5.2.	Limitaciones	63
5.3.	Líneas futuras	64
A.	Estado del arte: Resultados presentados del hemisferio derecho	66
B.	Posicionamiento de las ROIs	68
C.	DSI Studio: paso a paso	69

Índice de cuadros

2.1. Comparativa de los parámetro de adquisición de imágenes utilizadas por diferentes estudios existentes que utilizan el índice ALPS para analizar el sistema glinfático.	14
2.2. Comparativa de las ROIs utilizadas por diferentes estudios existentes que utilizan el índice ALPS para analizar el sistema glinfático.	14
2.3. Comparativa de los resultados obtenidos únicamente en el hemisferio izquierdo por los diferentes estudios que utilizan el índice ALPS para analizar el sistema glinfático.	16
3.1. Comparativa de los parámetro de adquisición.	33
4.1. Datos demográficos.	43
4.2. Análisis descriptivo del índice ALPS agrupado por sesiones y por hemisferio cerebral en sujetos sanos.	44
4.3. Diferencias en el índice ALPS entre sesiones para el hemisferio izquierdo y derecho en sujetos sanos.	44
4.4. Diferencias en el índice ALPS entre el hemisferio izquierdo y derecho en sujetos sanos.	46
4.5. Diferencias en el índice ALPS entre mujeres y hombres en sujetos sanos.	47
4.6. Análisis de regresión lineal entre el índice ALPS y la edad de sujetos sanos.	48
4.7. Análisis de regresión lineal múltiple para la edad, la sesión, el hemisferio y el sexo en sujetos sanos.	49
4.8. Análisis de regresión lineal para la edad y la FA.	50
4.9. Análisis de regresión lineal para la FA y el índice ALPS, corregido para la edad.	51

4.10. Análisis de regresión lineal entre el índice ALPS y la edad en los dos hemisferios en pacientes con glioma.	52
4.11. Análisis descriptivo del índice ALPS agrupado por hemisferio cerebral en pacientes con glioma.	53
4.12. Coeficientes del modelo ajustado para la edad y hemisferios en pacientes con glioma.	54
4.13. Análisis de regresión lineal ajustado para la edad entre el índice ALPS y el sexo en los dos hemisferios en pacientes con glioma.	55
4.14. Análisis de regresión lineal ajustado para la edad entre el índice ALPS y el grado del glioma en los dos hemisferios en pacientes con glioma.	56
4.15. Análisis de regresión lineal múltiple para la edad, el hemisferio, el grado del glioma y el sexo en pacientes con glioma.	57
4.16. Análisis de regresión lineal ajustado para la edad entre el índice ALPS y la FA en los dos hemisferios en pacientes con glioma.	57
4.17. Análisis de regresión lineal ajustado para la edad entre el índice ALPS y la FA en los dos hemisferios en pacientes con glioma.	58
4.18. Coeficiente de variación obtenido para diferentes sujetos sanos y para el conjunto de todos los sujetos sanos. S: sujeto.	59
A.1. Índice ALPS obtenido en ambos hemisferios en [25].	66
A.2. Índice ALPS obtenido en ambos hemisferios en [36].	66
A.3. Índice ALPS medio obtenido en ambos hemisferios en [29].	66
A.4. Índice ALPS obtenido en ambos hemisferios en [12].	67

Índice de figuras

1.1. Concepto del método <i>diffusion tensor image analysis along the perivascular space (DTI-ALPS)</i> [24].	10
2.1. Comparativa del resultado del índice ALPS obtenido por los diferentes estudios, únicamente en el hemisferio izquierdo	15
2.2. Ejemplo de como se segmentaron las regiones de interés en un glioma frontal de grado II en el hemisferio izquierdo [13].	23
3.1. Flujo de trabajo	28
3.2. Ejemplo de tabla de valores de b.	33
3.3. Resultado de aplicar la corrección para artefactos de movimientos y para artefactos causados por <i>eddy currents</i> de DSI Studio.	34
3.4. Comparación de una ROI esférica y rectangular en DSI Studio para un paciente con glioma. Imagen coronal.	36
3.5. Ejemplo de ROIs colocadas en ambos hemisferios para obtener los valores de difusividad de las fibras de proyección y asociación sobre el mapa de color en sujetos sanos y pacientes con glioma.	38
4.1. Pacientes con glioma incluidos en el estudio.	42
4.2. Resultados del análisis descriptivo para el índice ALPS en ambos hemisferios para cada sesión en sujetos sanos.	45
4.3. Diferencias en el índice ALPS entre el hemisferio izquierdo y derecho en sujetos sanos.	46
4.4. Diferencias en el índice ALPS entre mujeres y hombres en sujetos sanos.	47
4.5. Gráfico de dispersión del índice ALPS y la edad de sujetos sanos.	48

4.6. Gráfico de dispersión de la FA y la edad de sujetos sanos.	50
4.7. Análisis de regresión lineal entre el índice ALPS y la edad en pacientes con glioma, separado por hemisferios.	52
4.8. Diferencias en el índice ALPS entre hemisferios en pacientes con glioma.	54
4.9. Diferencias en el índice ALPS entre sexo para cada hemisferio en pacientes con glioma.	55
4.10. Diferencias en el índice ALPS entre el grado para cada hemisferio en pacientes con glioma.	56
4.11. Diferencias en el índice ALPS entre el sujetos sanos y pacientes con glioma.	58

Capítulo 1

Introducción

El sistema linfático es la estructura anatómica que transporta la linfa, un líquido incoloro y acuoso, que se genera como resultado del exceso de líquido en el espacio intersticial procedente de los capilares sanguíneos, y la devuelve al sistema circulatorio (al torrente sanguíneo).

Cada día fluyen unos veinte litros de plasma por las arterias y los vasos sanguíneos arteriales y capilares más pequeños. Tras suministrar nutrientes a las células y tejidos del cuerpo y recibir de vuelta sus productos de desecho, unos diecisiete litros viajan de vuelta a la circulación a través de las venas. Los otros tres litros restantes, se filtran a través de los capilares y llegan a los tejidos del cuerpo. Finalmente, el sistema linfático recoge este exceso de líquido, la linfa, y lo traslada hasta que, por último, vuelve al torrente sanguíneo [1].

Los vasos linfáticos procedentes de los diferentes tejidos corporales aumentan de tamaño progresivamente hasta converger en el conducto torácico o en el conducto linfático derecho. Ambos desembocan en el sistema venoso en el punto de unión entre la vena subclavia y la vena yugular interna, cada uno en su lado. El sistema linfático cumple varias funciones en el organismo. En primer lugar, drena el líquido intersticial sobrante que se encuentra entre las células y lo devuelve a la sangre. En segundo lugar, transporta la mayor parte de las grasas que se absorben en el tubo digestivo. Por último, el sistema linfático juega un papel fundamental en la respuesta inmunitaria: los linfocitos B/T y los macrófagos presentes en los ganglios linfáticos y otros órganos linfoides por los que circula la linfa

reconocen y eliminan sustancias extrañas y microorganismos patógenos [1].

A pesar de su alta tasa metabólica y la alta sensibilidad de la transmisión sináptica a los cambios del ambiente extracelular del entorno, el cerebro y la médula espinal en sí mismos carecen de vasos linfáticos.

Por ello, tradicionalmente, se consideraba que el sistema nervioso central (SNC) era la única estructura del cuerpo humano que no contaba con sistema linfático, y se pensaba que su función crucial de defensa inmunitaria no era necesaria en el SNC al estar protegido por la barrera hematoencefálica (BHE). Por otro lado, se consideraba que los productos de desecho del SNC eran eliminados por el líquido cefalorraquídeo (LCR), mediante difusión simple [1].

Sin embargo, el LCR es solo una pequeña parte del agua que existe dentro del SNC. Así, sabemos que aproximadamente un 60-68% del agua dentro del SNC es intracelular y el 32-40% restante extracelular. Dentro del compartimento extracelular, el 10% del agua se encuentra en el torrente sanguíneo, otro 10% corresponde al LCR y alrededor de un 12-20% del agua está en el espacio intersticial. Por tanto, el espacio intersticial es una porción muy significativa dentro del SNC, pues en él se encuentran neuronas, pericitos y todas las células gliales (astrocitos, oligodendrocitos y microglía) rodeadas de gran cantidad de moléculas, desde proteínas estructurales (como el colágeno, etc.), hasta nutrientes imprescindibles para las células (glucosa, H₂O, etc.) y neurotransmisores de todo tipo. Si tenemos en cuenta la alta actividad metabólica de todos los tipos celulares del espacio intersticial y la existencia de la barrera hematoencefálica, que de hecho lo aísla del torrente sanguíneo adyacente, cuesta creer que los detritus del espacio intersticial del SNC se limpien exclusivamente por su difusión pasiva por el LCR [1].

Además, se ha demostrado que este sistema sería ineficiente, pues la velocidad de depuración depende del tamaño del soluto, y mientras que la urea (60 Da) precisa de 5.4 horas para trasladarse 1 cm, la albúmina (55.5 kDa) puede necesitar hasta 109 horas. En cuanto a los residuos proteicos, se consideraba que el β -amiloide era eliminado únicamente por transportadores específicos a través de la barrera hematoencefálica, mientras que el resto se depuraban por medio de procesos de autofagia y ubiquitinación [2].

En el año 2012, el grupo liderado por Jeffrey J. Iliff, publicó un artículo en el cual demostró que una proporción sustancial del LCR circula dentro del espacio intersticial en el cerebro [3]. Utilizando técnicas de microscopía de fluorescencia de excitación de dos fotones e inyectando trazadores en la cisterna magna de ratones, su grupo demostró que el LCR se introduce desde la corteza cerebral al interior del parénquima, circulando a lo largo de los denominados espacios perivasculares que rodean las arterias perforantes y que continúan en arteriolas y capilares. Estos espacios o canales perivasculares, se encuentran entre la pared arterial, donde está la barrera hematoencefálica, y el espacio intersticial, delimitado por las prolongaciones en forma de pies de los astrocitos. Iliff *et al.*, comprobaron que el agua y los trazadores de pequeño tamaño pasaban sin problemas y rápidamente al espacio intersticial, fundamentalmente impulsados por el latido cardiaco, y que tiempo después eran devueltos al LCR a través de los espacios perivasculares, pero en este caso de aquellos que rodean las venas [1][4]. También comprobaron que, el paso de los espacios perivasculares arteriales al espacio intersticial y de éste a los espacios perivasculares venosos de las moléculas trazadoras de mayor peso molecular era más lento y dependía, en ambos casos, de un transporte activo astrocitario, concretamente de la presencia de canales de acuaporina-4 (AQP4) en los pies de estas células gliales. Así, demostraron que moléculas de desecho celular como la proteína beta-amiloide, implicada de forma crucial en la fisiopatología de la enfermedad del Alzheimer (EA), era transportada por esta ruta, pues se producía un cúmulo de la misma en cerebros de ratón transgénico en los que se había eliminado el gen de la AQP4 [1][3][4][5].

Este estudio, demostró la existencia de un mecanismo auténtico de drenaje y limpieza del líquido intersticial en el parénquima cerebral. Este mecanismo fue nombrado como sistema glinfático, tanto por su funcionamiento similar al del sistema linfático, como por la acción de los canales de AQP4 en células gliales que juegan un papel muy relevante en el funcionamiento de este sistema. Cabe destacar que, tal y como remarcan Iliff *et al.* en su publicación, ya se había planteado la existencia de este sistema en el año 1985, cuando Rennels *et al.* experimentaron con perros y gatos en esta línea [6]. Sin embargo, esta propuesta quedó solo en una hipótesis y la línea de investigación fue olvidada por tantos años, hasta que fue retomada en 2012 por Iliff *et al.*

Como cabe esperar, muchos estudios se están centrando en la implicación del sistema glinfático en diversos procesos patológicos del SNC, como el ictus, incluyendo el edema cerebral, la alteración de la barrera hematoencefálica, la infiltración de células inmunitarias, la neuroinflamación y la apoptosis neuronal. Por otro lado, se ha determinado que el flujo del sistema glinfático, además de ser facilitado por la AQP4, es inducido por pulsaciones arteriales sistólicas, pulsaciones respiratorias, cambios de presión durante la inspiración o incluso la postura corporal, siendo más eficiente en decúbito lateral y supino que en prono. Estudios recientes demuestran que el flujo glinfático aumenta un 95 % durante el sueño natural o inducido por anestésicos, especialmente durante la fase de ondas lentas. Algunos factores como la ingesta de alcohol, el ejercicio, la depresión y la ansiedad también podrían modificar su eficiencia [2].

Además, se ha descubierto que el sistema glinfático estaría fuertemente relacionado con la fisiopatología de otras otras enfermedades no traumáticas, a parte de la enfermedad de Alzheimer, como la enfermedad del Parkinson, la epilepsia, diferentes tipos de cefaleas, la diabetes mellitus tipo 2 y el cáncer, entre otros (Sección 2). En concreto, dentro de los procesos oncológicos, existe un especial interés por estudiar la posible implicación del sistema glinfático en los gliomas, un tipo de tumor que comienza precisamente en las células gliales.

1.1. Papel del sistema glinfático en gliomas

Los tumores cerebrales representan un grupo heterogéneo de tumores dada las diferentes líneas celulares que los originan. Éstos pueden dividirse en dos grandes grupos: lesiones primarias, que se originan a partir de células que pertenecen al sistema nervioso central; y lesiones secundarias, que se originan en otros lugares del cuerpo y se implantan como metástasis en el cerebro. Los tumores primarios más frecuentes son el meningioma y el glioma, mientras que las metástasis más frecuentes son de pulmón, mama y piel [7].

En este trabajo, nos vamos a centrar en el glioma, que es un tipo de tumor que se desarrolla en el cerebro y la médula espinal y que comienza en las células de glía que rodean las neuronas y las ayudan a funcionar. Dada la importante función de estas células,

y en concreto de los astrocitos, en el ya definido sistema glinfático, cabría esperar que estos procesos tumorales tengan una alta implicación en posibles cambios del sistema glinfático.

Los gliomas son uno de los tipos más comunes de tumores cerebrales primarios, representando alrededor del 33 % de todos los tumores cerebrales, y pueden afectar a la función cerebral y ser potencialmente mortales según su ubicación y velocidad de crecimiento [8][9]. Además, los tumores cerebrales, tanto primarios como metastásicos, presentan opciones de tratamiento muy limitadas y suelen tener un mal pronóstico, por lo que se consideran de los más temidos de entre todos los tipos de tumores [10].

Estos tumores se clasifican según el tipo de células gliales que los producen y según las características genéticas del tumor, lo que puede ayudar a predecir su comportamiento con el paso del tiempo y los tratamientos que podrían resultar más efectivos. Los tres tipos de glioma más frecuentes según las células implicadas son los astrocitomas, los ependimomas y los oligodendrogliomas. A su vez, los tumores del SNC se clasifican en cuatro grados según el grado de malignidad dada por la histología del tumor. Los tumores de grado I y II son de bajo grado o benignos. Los tumores de grado I tienen bajo potencial proliferativo y tienen posibilidad de cura al ser resecados quirúrgicamente. Los tumores de grado II son tumores infiltrantes, pero de baja actividad proliferativa celular. Éstos, tienden a recurrir, pero, en algunos casos, pueden progresar a grados superiores (III y IV). Los tumores de grado III son lesiones con evidencia histológica de malignidad y los de grado IV tienen evidencia de malignidad citológica con predisposición a necrosis y están relacionados con una evolución rápida y fatal de la enfermedad, como es el caso del glioblastoma, que es un tipo de astrocitoma. Estos tumores de grado III y IV son denominados de alto grado o malignos [7][8][9][11].

Los gliomas crecen en el propio tejido nervioso (intra-axiales o intracraneales) y, con frecuencia, lo hacen de una manera difusa, sin estar totalmente delimitados del resto del parénquima (infiltrantes). Además, dependiendo de la rapidez de crecimiento y de la agresión que suponga para el tejido cerebral normal circundante, se puede llegar a producir una reacción denominada edema cerebral peritumoral (ECP), que tiene lugar cuando el tumor lesiona la BHE. Como ya hemos visto, esta BHE se encuentra al nivel de la unión

entre la glía y los capilares sanguíneos. Así, el ECP supone un aumento en la cantidad de líquido extracelular e implica un peor funcionamiento neuronal y un aumento del volumen intracraneal [11]. Además, esto provoca un aumento de la presión intracraneal, complica la resección quirúrgica y se asocia con un mayor riesgo de convulsiones, hemorragias intracraneales postoperatorias y de recaídas [12].

La patogénesis del ECP sigue sin estar clara y existen informes contradictorios sobre las correlaciones entre su extensión y las características obtenidas a través de imágenes, como el tamaño o el volumen del tumor, la ubicación del tumor, la obstrucción del flujo venoso, el patrón de suministro de sangre al tumor, y la señal ponderada en T2 del tumor [12].

Estudios recientes están empezando a demostrar que el sistema glinfático podría desempeñar un papel esencial en la respuesta inmune frente a tumores cerebrales, y podría llegar a ser el nuevo objetivo de la inmunoterapia para este tipo de tumores [10][12][13][14].

Los experimentos con roedores han aportado algunas ideas sobre cómo puede afectar el crecimiento de gliomas a ciertos cambios en la función glinfática, pero a pesar de los conocimientos que se han obtenido gracias a los estudios en animales, es necesario seguir investigando para confirmar si estos hallazgos relativos al sistema glinfático se podrían aplicar a los seres humanos [13]. Así, en este tipo de estudios, se ha observado una reducción de la tasa del flujo del LCR [14] y una remodelación de la vía glinfática [10] en ratones con gliomas de alto grado, pudiendo estar estos cambios asociados a la formación del ECP [13].

Ma *et al.* [14] demostraron que el flujo de salida del LCR se reduce drásticamente en ratones portadores de gliomas de grado alto, en concreto de glioblastomas. Para ello, monitorizaron el transporte de trazadores, inyectados en la cisterna magna, desde el LCR a la circulación sanguínea sistémica. Mediante imágenes de resonancia magnética (RM) e imágenes de infrarrojo cercano, vieron que la circulación de trazadores en el LCR se veía obstaculizada después de ser inyectados en la cisterna magna, obteniendo una señal reducida a lo largo de los nervios craneales de salida y de los ganglios linfáticos, que representan la ruta principal de salida del LCR en ratones. Debido al bloqueo de las rutas

normales del LCR, tanto dentro de la cavidad craneal como desde ésta, los trazadores del LCR eran redirigidos al espacio intersticial. Esta reducción del flujo de salida del LCR podría intensificar el edema cerebral, agravar el microambiente del tumor cerebral y atenuar la eficacia de la administración intracraneal de fármacos. Ma *et al.* proponen centrar la atención clínica en posibles fármacos y tratamientos que permitan compensar el flujo de salida del LCR y restaurar así su normal circulación.

Xu *et al.* [15] estudiaron también los cambios en el sistema glinfático y la función de la AQP4 en el flujo glinfático en ratas portadoras de células de glioma malignas, y comprobaron que el glioma bloquea la entrada periarterial del LCR subaracnoideo, sobre todo en aquellos gliomas que presentaban niveles reducidos de AQP4. Estos resultados sugieren que la disminución de la AQP4 en el glioma puede estar relacionada con la reducción del transporte de fármacos a la zona del tumor cuando se administran mediante inyección intratecal, y proponen el uso de AQP4 como medio para restaurar el sistema glinfático del glioma y mejorar la administración de fármacos.

1.2. Técnicas de análisis del sistema glinfático

Como acabamos de mencionar, el sistema glinfático se ha descubierto recientemente, y todavía no se ha establecido un método bien definido para su evaluación en humanos.

Naganawa y Taoka presentaron primero en 2019 el artículo *Glymphatic Imaging Using MRI* [16] y después, en 2020, *The Glymphatic System: A Review of the Challenges in Visualizing its Structure and Function with MR Imaging* [17]. En ambos artículos presentan una revisión de los estudios que utilizan imágenes de RM para intentar visualizar la función y la estructura del sistema glinfático *in vivo*, y discuten las limitaciones de ese momento y las posibles direcciones futuras.

Inicialmente, el sistema glinfático se ha estudiado mediante experimentos con trazadores, sobre todo en animales, aunque también se han llegado a aplicar en humanos. Para visualizar o evaluar los sistemas de transporte de masas *in vivo* en el cuerpo, los estudios con trazadores son uno de los métodos más eficaces, dado que permiten analizar una sustancia y sus interacciones en el cuerpo sin alterar sus propiedades originales. En el cerebro,

los estudios con trazadores se han utilizado para simular o rastrear el transporte dentro del espacio intersticial. Además de pequeñas partículas radiactivas, los trazadores pueden tener otras características que pueden evaluarse cuantitativamente, así como características físicas que pueden detectarse después de largos períodos de tiempo, como la temperatura. Los radioisótopos se utilizan generalmente como trazadores para la obtención de imágenes en el ámbito médico [16].

Los métodos con trazadores empleados para estudiar el sistema glinfático revisados en el primer artículo incluyen *Laser Microscopy Tracer Studies Using Fluorescent Agents* (Xie *et al.* 2013 [18]); *MRI Tracer Studies Using Intrathecal Injection of Gadolinium-Based Contrast Agent (GBCA)* (Iloff *et al.* 2013 [19]); *MRI Tracer Studies Using Intravenous Injection of Gadolinium-Based Contrast Agent* (Taoka *et al.* 2018 [20]); *MRI Tracer Studies Using Gadolinium-Based Contrast Agent and Gadolinium Deposition in the Brain* (Kanda *et al.* 2014 [21]); *MRI Tracer Studies Using Stable Isotopes* (Kudo *et al.* 2018 [22]); y *MRI Tracer Studies Using an Inversion Pulse* (Ohene *et al.* 2019 [23]). Sin embargo, estos métodos son invasivos y la administración de trazadores conlleva siempre ciertos riesgos. Es por esto que es poco probable que este tipo de pruebas se pueda utilizar ampliamente como herramienta de cribado para pacientes asintomáticos.

Naganawa y Taoka [17] concluyen que ninguna de las metodologías del momento con imágenes de RM ha sido capaz de visualizar definitivamente el sistema glinfático en los seres humanos, aunque podría establecerse un método en el futuro que combine varias técnicas. Además, plantean que podría utilizarse un método con imágenes de resonancia magnética menos invasivo que el GBCA intratecal, utilizando GBCA intravenosa, que permitiría obtener datos de cohortes a mayor escala e integrarlos con otros datos biométricos. De esta manera, plantean que en el futuro podría llegar a desarrollarse un sistema que no requiera de este tipo de imágenes, y que se basara en datos biométricos obtenidos durante el día a día en el hogar, con dispositivos portátiles (*wearable*). Estos datos biométricos podrían permitir el diagnóstico del sistema glinfático individual de los pacientes sin necesidad de adquisición de imágenes de resonancia magnética, y concluyen que la creación de este sistema sería muy útil en el futuro.

En 2017, Taoka et al. publicaron *Evaluation of glymphatic system activity with the diffusion MR technique: diffusion tensor image analysis along the perivascular space (DTI-ALPS) in Alzheimer's disease cases* [24]. El propósito de este estudio fue evaluar la viabilidad de utilizar un método no invasivo que permitiera analizar la actividad del sistema glinfático en el cerebro humano, mediante el uso de imágenes por tensor de difusión. Con este método, evaluaron el movimiento de las moléculas de agua en la dirección del espacio perivascular, midiendo su difusividad. A nivel del cuerpo del ventrículo lateral, las venas medulares corren perpendiculares a la pared ventricular, y el espacio perivascular corre en la misma dirección que las venas medulares, que es la dirección derecha-izquierda (eje X). En el plano de esta zona, las fibras de proyección discurren en la dirección cabeza-pie (eje Z), principalmente adyacentes al ventrículo lateral, y los fascículos longitudinales superiores, que representan las fibras de asociación, discurren en la dirección anteroposterior (eje Y), fuera de las fibras de proyección. En consecuencia, en esta zona, el espacio perivascular discurre perpendicular tanto a las fibras de proyección como a las de asociación. Esta conformación del espacio perivascular y de las fibras principales en esta área permite por tanto un análisis casi independiente de la difusividad a lo largo de la dirección del espacio perivascular, porque los tractos de las fibras principales no discurren paralelos a esta dirección. De este modo, cuando haya un cambio histológico a lo largo de la dirección derecha-izquierda (eje X), afectará por igual a las fibras de proyección y a las de asociación. Por lo tanto, cuando se observe un cambio de este tipo en ambos haces de fibras, es probable que al menos una parte de este cambio provenga de alguna patología que afecte al espacio perivascular, es decir, el sistema glinfático.

Además, propusieron el cálculo de un índice que llamaron el índice DTI-ALPS, o simplemente índice ALPS, para evaluar la actividad del sistema glinfático en casos individuales. Este índice viene dado por la relación de dos conjuntos de valores de difusividad que son perpendiculares a las fibras dominantes en el tejido, es decir, la relación de la media de la difusividad en el eje X en la zona de las fibras de proyección (D_{xproj}) y la difusividad en el eje X en el área de las fibras de asociación (D_{xassoc}), con respecto a la media de la difusividad en el eje Y de las fibras de proyección (D_{yproj}) y la difusividad en el eje Z de las fibras de asociación (D_{zassoc}).

Esta relación se muestra en la siguiente ecuación 1.2.1:

$$Indice \ ALPS = \frac{mean(Dxproj, Dxassoc)}{mean(Dyproj, Dzassoc)} \quad (1.2.1)$$

Así, un índice cercano o inferior a 1, refleja una mínima difusión del agua a lo largo del espacio perivascular, mientras que un mayor valor del índice indica una mayor difusividad del agua a lo largo de dicho espacio.

En la siguiente imagen de Taoka *et al.* [24] 1.1, podemos ver gráficamente la configuración del espacio perivascular y los tractos principales.

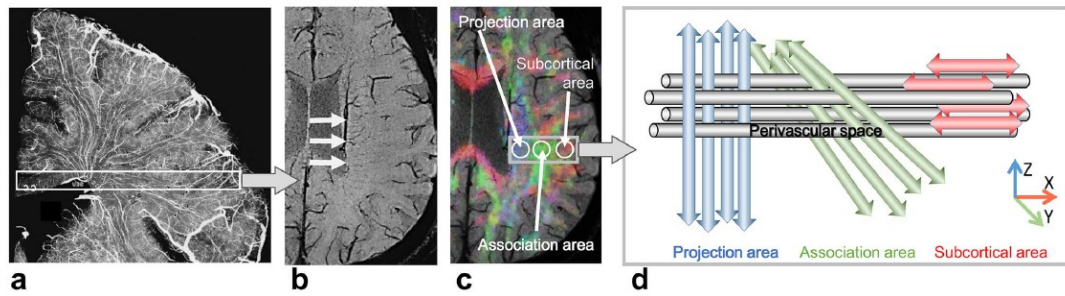


Figura 1.1: Concepto del método *diffusion tensor image analysis along the perivascular space (DTI-ALPS)*[24].

a Roentgenogram of an injected coronal brain slice showing parenchymal vessels that run horizontally on the slice (white box) at the level of the lateral ventricle body. **b** Axial SWI on the slice at the level of the lateral ventricle body indicates that parenchymal vessels run laterally (x-axis). **c** Superimposed color display of DTI on SWI (**b**) indicating the distribution of projection fibers (z-axis: blue), association fibers (y-axis: green), and the subcortical fibers (x-axis: red). Three ROIs are placed in the area with projection fibers (projection area), association fibers (association area) and subcortical fibers (subcortical area) to measure diffusivities of the three directions (x, y, z). **d** Schematic indicating the relationship between the direction of the perivascular space (gray cylinders) and the directions of the fibers. Note that the direction of the perivascular space is perpendicular to both projection and association fibers

El método DTI-ALPS no requiere GBCA y utiliza datos de imagen por tensor de difusión clínicamente comunes, lo que facilita la realización de estudios retrospectivos con datos de imagen previamente adquiridos. Sin embargo, sigue sin estar claro si el índice ALPS no se ve afectado en absoluto por el flujo sanguíneo y si el movimiento del agua a lo largo del espacio perivascular refleja realmente la función del sistema glinfático. Otra

limitación del DTI-ALPS es que el método sólo puede evaluar una región específica del cerebro.

1.3. Hipótesis

La hipótesis de este trabajo es que el índice ALPS representa un biomarcador robusto del sistema glinfático: entrega valores con buena reproducibilidad; las imágenes de DTI a 1.5 T permiten observar el índice en forma similar a lo publicado en la literatura; y el índice es suficientemente sensible para distinguir efectos patológicos en caso de presencia de gliomas de bajo y alto grado.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

El objetivo principal de esta investigación es evaluar la utilidad del método del índice ALPS en pacientes con glioma.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Estudiar el comportamiento del índice ALPS en sujetos sanos: su reproducibilidad entre sesiones y su relación con características demográficas de los sujetos: sexo, edad y valores bilaterales.
- Estudiar el comportamiento del índice ALPS en pacientes con gliomas.

1.5. Principales aportes de la investigación

Los aportes mas relevantes realizadas en esta investigación son:

- Mayor entendimiento de método del índice ALPS y de su variabilidad a la hora de utilizarlo.
- Se ha comprobado la reproducibilidad del método del índice ALPS entre diferentes sesiones para sujetos sanos.

- Mayor conocimiento acerca de cómo afectan los gliomas a la actividad del sistema glinfático, siendo este proyecto el primero, hasta donde llega nuestro conocimiento, en aplicar el método del índice ALPS en pacientes con glioma de una manera bilateral, analizando tanto el hemisferio ipsilateral como el contralateral.
- Capacitación al Hospital Carlos Van Buren para la continuidad de este trabajo en otros estudios clínicos.

Capítulo 2

Estado del arte

Si bien el descubrimiento del sistema glinfático tuvo lugar hace ya 10 años, cuando fue descrito por primera vez en 2012 por Iliff *et al.* [3], la metodología que permite estudiarlo todavía se encuentra en un estado muy inmaduro, no tanto debido al número de estudios existentes, sino a la falta casi absoluta de consenso en la técnica apropiada.

En este capítulo vamos a llevar a cabo un análisis de aquellas publicaciones que emplean el método del índice ALPS para analizar el sistema glinfático, prestando especial interés a su aplicación en pacientes con glioma. Además, nos hemos centrado en los estudios que comparan alguna patología con sujetos sanos, con el propósito de ver si hay ciertos estándares establecidos en cuanto a la metodología y en cuanto a los resultados obtenidos para los sujetos sanos. Por último, presentamos las limitaciones de la técnica que existen hasta el momento.

La Tabla 2.1 refleja un resumen de la metodología empleada por diferentes estudios para la adquisición de las imágenes. Como podemos observar, hay una clara concordancia en cuanto al uso de 3 T y un b-valor de 1000 s/mm^2 . Sin embargo, esta consonancia no existe para el resto de parámetros. En la mayoría de estudios las imágenes por tensor de difusión se han obtenido en torno a las 30-32 direcciones y la resolución en el plano más utilizada es de 2 mm.

Autor	Año	Campo (T)	B-valor (s/mm ²)	Direcciones	TR (ms)	TE (ms)	Resolución espacial (mm ³)
Taoka <i>et al.</i> [24]	2017	3	1000; 2000	30	6600	89	2.45 x 2.45 x 3
Steward <i>et al.</i> [25]	2021	3	1000	30	8700	92	2.5 x 2.5 x 2.5
Yokota <i>et al.</i> [26]	2019	3	1000	64	7900-12000	66-100	2 x 2 x 2
Bae <i>et al.</i> [27]	2021	3	1000	32	9900	77	2 x 2 x 2
Chen <i>et al.</i> [28]	2021	3	1000	13	15800	77	2 x 2 x 2.25
McKnight <i>et al.</i> [29]	2021	3	1000	33	10000	66	2 x 2 x 2
Si <i>et al.</i> [30]	2022	3	1000	30	8000	80	2 x 2 x 2
Lee <i>et al.</i> [31][32][33][34][35]	2021/22	3	1000	32	8620	85	2 x 2 x 2.25
Yang <i>et al.</i> [5]	2020	3	1000; 2000	30	6600	89	2.45 x 2.45 x 5
Zhang <i>et al.</i> [36]	2022	3	1000	64	9000	90	2 x 2 x 3
Wang <i>et al.</i> [37]	2022	3	1000	60	6600	89	2.45 x 2.45 x 3
Toh <i>et al.</i> [13][12]	2021/22	3	1000	20	5800	83	2 x 2 x 2

Tabla 2.1: Comparativa de los parámetro de adquisición de imágenes utilizadas por diferentes estudios existentes que utilizan el índice ALPS para analizar el sistema glinfático.

TR: tiempo de repetición; TE: tiempo de eco; Resolución espacial: XxYxZ.

La Tabla 2.2 muestra la geometría y el volumen de las regiones de interés (ROIs) empleadas por estos estudios para el cálculo del índice ALPS. En este caso, sí podemos observar una gran concordancia en cuanto al uso de ROIs esféricas de 5 mm de diámetro. Los estudios que usan una ROI rectangular utilizan DSI Studio para el procesamiento de las imágenes.

Autor	Geometría	Volumen (mm ³)
Taoka <i>et al.</i> [24]	Esférica	65.45
Steward <i>et al.</i> [25]	Esférica	14.14
Yokota <i>et al.</i> [26]	Esférica	65.45
Bae <i>et al.</i> [27]	Esférica	65.45
Chen <i>et al.</i> [28]	Esférica	65.45
McKnight <i>et al.</i> [29]	**	32
Si <i>et al.</i> [30]	Esférica	65.45
Lee <i>et al.</i> [31][32][33][34][35]	Rectangular	9
Yang <i>et al.</i> [5]	Esférica	65.45
Zhang <i>et al.</i> [36]	Esférica	33.51
Wang <i>et al.</i> [37]	Rectangular	27
Toh <i>et al.</i> [13][12]	Esférica	65.45
Valor medio		47.82 ± 21.80
Rango		9 - 65.45

Tabla 2.2: Comparativa de las ROIs utilizadas por diferentes estudios existentes que utilizan el índice ALPS para analizar el sistema glinfático.

Por otro lado, la Tabla 2.3 y la Figura 2.1 muestran los resultados, únicamente del hemisferio izquierdo, obtenidos en los diferentes estudios revisados. Como podemos observar, los resultados mostrados no siguen un patrón que permita definir un rango de valores para los estados sanos contra los estados patológicos. Uno de los motivos podría ser tanto

la falta de estándares en la técnica de adquisición de las imágenes, como en el procesamiento de las mismas, faltando información todavía que permita comparar, por ejemplo, en qué medida influyen el tamaño y posicionamiento de las ROIs. Lo que si podemos ver es que la mayoría de las publicaciones presentan valores del índice ALPS más bajos para el estado patológico (1.38 ± 0.19) frente a los sujetos sanos (1.52 ± 0.18), siendo estos valores únicamente del hemisferio izquierdo en todos los casos. Los resultados de los artículos que estudian ambos hemisferios se pueden ver en el Anexo A.

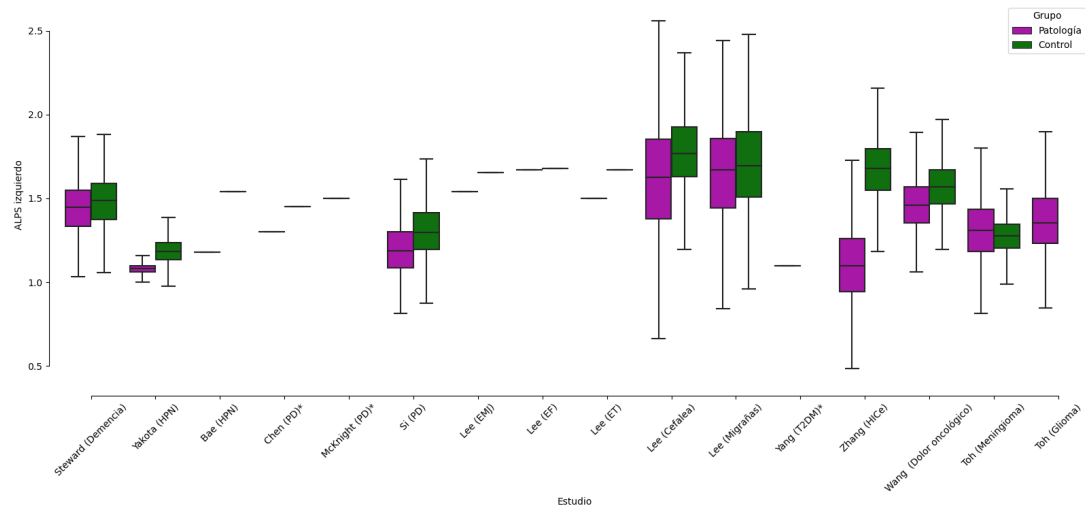


Figura 2.1: Comparativa del resultado del índice ALPS obtenido por los diferentes estudios, únicamente en el hemisferio izquierdo

* El valor del índice ALPS es aproximado, basado en las figuras aportadas en el estudio; HPN: hidrocefalia de presión normal; PD: *Parkinson's Disease*; EMJ: epilepsia mioclónica juvenil; EF: epilepsia focal; ELT: epilepsia del lóbulo temporal; T2DM: *Type 2 Diabetes Mellitus*; HICe: hemorragia intracerebral espontánea;

Como ya hemos comentado, Taoka *et al.* [24] fueron los pioneros en cuanto al análisis del índice ALPS. Los resultados de su estudio mostraron una correlación positiva significativa entre la difusividad del agua a lo largo de los espacios perivasculares y la puntuación del *Mini-Mental State Examination* (MMSE). Así, se mostró una relación entre una difusividad del agua deteriorada y la gravedad de la enfermedad del Alzheimer, del deterioro cognitivo leve (MCI, del inglés *Mild Cognitive Impairment*) y del deterioro cognitivo subjetivo, que fueron los tres tipos de demencia que padecían los 31 paciente del estudio. Concluyeron

Autor	Patología estudiada	Pacientes	Control	Hemisferio	ALPS Pacientes (izq)	ALPS Sanos (izq)
Taoka <i>et al.</i> [24]	AD	31	-	Izquierdo	**	-
Steward <i>et al.</i> [25]	AD MCI	26	10	Bilateral	1.45 ± 0.16 1.43 ± 0.16	1.48 ± 0.17
Yokota <i>et al.</i> [26]	HPN	24	12	Izquierdo	1.08 ± 0.03	1.18 ± 0.08
Bae <i>et al.</i> [27]	HPN	16	16	Izquierdo	1.18 ± **	1.54 ± **
Chen <i>et al.</i> [28]	PD	88	47	Izquierdo	1.3 *	1.45 *
McKnight <i>et al.</i> [29]	PD	181	-	Bilateral	1.5 *	-
Si <i>et al.</i> [30]	PD	168	129	Izquierdo	1.20 ± 0.17	1.31 ± 0.17
Lee <i>et al.</i> [31]	EMJ	39	38	**	1.54 ± **	1.65 ± **
Lee <i>et al.</i> [32]	EF	109	88	**	1.67 ± **	1.68 ± **
Lee <i>et al.</i> [33]	ELT	25	26	**	1.50 ± **	1.67 ± **
Lee <i>et al.</i> [34]	Cefalea en racimos	14	23	**	1.59 ± 0.37	1.79 ± 0.21
Lee <i>et al.</i> [35]	Migraña	92	80	**	1.65 ± 0.33	1.71 ± 0.30
Yang <i>et al.</i> [5]	T2DM	20	10	Izquierdo	1.10 *	1.40 *
Zhang <i>et al.</i> [36]	HICe	20	31	Bilateral	1.11 ± 0.23	1.67 ± 0.19
Wang <i>et al.</i> [37]	CP	67	30	Izquierdo	1.39 ± 0.21	1.57 ± 0.15
	PLC				1.52 ± 0.10	
Toh <i>et al.</i> [12]	Meningioma con ECP	80	44	Bilateral	1.26 ± 0.17	1.27 ± 0.10
	Meningioma sin ECP				1.35 ± 0.21	
Toh <i>et al.</i> [13]	Glioma	201	-	Bilateral	1.37 ± 0.2 ***	-
					Valor medio	1.38 ± 0.19
					Rango	1.08 - 1.67
						1.18 - 1.79

Tabla 2.3: Comparativa de los resultados obtenidos únicamente en el hemisferio izquierdo por los diferentes estudios que utilizan el índice ALPS para analizar el sistema glinfático.

* El valor del índice ALPS es aproximado, basado en las figuras aportadas en el estudio; ** Valor no proporcionado; *** Este valor es del hemisferio ipsilateral a la lesión; - Valor no estudiado; izq: izquierdo; AD: *Alzheimer's Disease*; MCI: *Mild Cognitive Impairment*; HPN: hidrocefalia de presión normal; PD: *Parkinson's Disease*; EMJ: epilepsia mioclónica juvenil; EF: epilepsia focal; ELT: epilepsia del lóbulo temporal; T2DM: *Type 2 Diabetes Mellitus*; HICe: hemorragia intracerebral espontánea; CP: *Cancer Pain*; PLS: *Painless Cancer*; ECP: edema cerebral peritumoral;

por tanto que, una menor difusividad a lo largo del espacio perivasculoso o un menor índice ALPS reflejan un deterioro del sistema glinfático. Este artículo no proporciona un valor medio del índice ALPS obtenido, dificultando su comparación con otros estudios posteriores. Más adelante, Steward *et al.* [25] también mostraron en 2021 un índice reducido en 26 pacientes con demencia o con riesgo de padecerla, mostrando de la misma manera una correlación significativa entre el índice y las puntuaciones del MMSE. Además, en este estudio quisieron ir más allá y compararon los resultados obtenidos con un grupo control, de 10 sujetos con un estado cognitivo normal, y comprobaron que el valor del índice ALPS permitía distinguir entre ambos grupos, siendo más bajo en los pacientes con demencia (Tabla 2.3 y Tabla A.1). Así, este resultado confirma también que los pacientes con demencia presentan un sistema glinfático deteriorado. Sin embargo, es importante mencionar que

las diferencias significativas solo se encontraron para el hemisferio derecho y únicamente cuando se ajustó el modelo para la edad, el sexo y el estado de la apolipoproteína E (APOE-ε3).

Siguiendo en la misma línea de investigación, varios estudios aplicaron este método para analizar el sistema glinfático en pacientes con hidrocefalia de presión normal (HPN) [26][27]. Los síntomas de esta enfermedad incluyen, entre otros, deterioro mental y demencia progresivos, por lo que en muchas ocasiones se diagnostica equivocadamente como Alzheimer. Ambos estudios publicados muestran también que el índice ALPS se ve reducido en estos pacientes, comparado con sujetos sanos. Además, mostraron que cuanto peor es la respuesta al tratamiento, más bajo es el índice obtenido, por lo que pudieron correlacionar una menor actividad glinfática con una mayor gravedad de los síntomas [27]. Sin embargo, cabe destacar que mientras que en [26] consideran un valor del índice de 1.18 ± 0.08 para los sujetos sanos, en el caso de [27] este mismo valor de 1.18 (desviación estándar no proporcionada) lo asocian al estado patológico de HPN (Tabla 2.3). Por tanto, ni siquiera estudios que se centran en la misma patología, permiten comparar el índice ALPS y obtener un rango de valores estándar, y cabe pensar que la metodología podría afectar mucho al resultado.

Otro tipo de demencia que se ha estudiado con el método del ALPS es la demencia por enfermedad de Parkinson (PD, del inglés *Parkinson's Disease*) [28]. En este estudio, evaluaron la posible relación del sistema glinfático con el estado del estrés oxidativo sistémico en pacientes con PD. Para ello, incluyeron a pacientes de PD cognitivamente normales (PDN), con deterioro cognitivo leve (PD-MCI) y con demencia (PDD); y un grupo control. Los resultados que obtuvieron en este estudio mostraron un índice ALPS significativamente menor en los grupos PD-MCI y PDD en comparación con el grupo control, mientras que no hubo diferencias significativas entre el resto de subgrupos. Aunque este estudio tampoco proporciona el valor medio de los índices ALPS obtenidos, basándonos en las gráficas aportadas podemos ver que se encuentran dentro del mismo rango que los valores de los dos primeros estudios mencionados ([24] y [25]).

Además, otros estudios se han centrado en el PD y su relación con la actividad del sistema glinfático y la demencia de estos pacientes [29][30]. Sin embargo, encontramos que tampoco hay un consenso en cuanto a la asociación entre el índice ALPS y el estado cognitivo, pues mientras que el estudio [30] sigue mostrando una correlación, el estudio [29] indica que no existe asociación entre el índice ALPS y el estado de MCI, en pacientes con PD. Un punto a destacar es que este último ([29]) es el único que basa su estudio en la media del índice ALPS de ambos hemisferios, mientras que el resto de estudios recién mencionados se basan únicamente en el hemisferio izquierdo.

En estos dos últimos años, el grupo de investigación liderado por Lee *et al.* ha aplicado este método para otros tipos de trastornos neurológicos, como la epilepsia [31][32][33] o las cefaleas y migrañas [34][35].

Así, este grupo ha publicado tres estudios en los que aplican el método ALPS para evaluar la actividad del sistema glinfático en tres tipos de epilepsia: epilepsia mioclónica juvenil (EMJ) [31], epilepsia focal (EF) recién diagnosticada [32] y epilepsia del lóbulo temporal (ELT) con esclerosis del hipocampo [33], ordenados cronológicamente. En todos ellos, utilizaron la misma metodología, con los mismos parámetros de adquisición de las imágenes (Tabla 2.1) y el mismo preprocesamiento, en concreto utilizando DSI Studio, que es el programa que se va a emplear para este trabajo. En cuanto al número de participantes de cada estudio, sí que podemos encontrar diferencias, pues mientras que en [31] y [33] incluyeron a 39 y 25 pacientes y a 38 y 26 sujetos sanos, respectivamente, en [32] incluyeron 109 pacientes y 88 sujetos sanos, que representa una muestra de más del doble de participantes en ambos casos (Tabla 2.3). Si comparamos los resultados obtenidos, vemos que para los pacientes con EMJ y con ELT encontraron una diferencia significativa en el índice ALPS comparado con los sujetos sanos, mientras que en el caso de pacientes con EF recién diagnosticada esta diferencia no fue significativa. Los valores obtenidos se pueden ver en la Tabla 2.3, y muestran un valor del índice ALPS en pacientes de 1.54, 1.50 y 1.67; y en sujetos sanos de 1.65, 1.67 y 1.68, respectivamente (desviaciones estándar no proporcionadas). Esta concordancia en los resultados obtenidos en estos tres estudios frente a otros estudios publicados podrían hacer pensar que, efectivamente, la metodología empleada afecta al resultado. Por otro lado, se necesitarían más estudios para concluir si el

tamaño de la muestra ha sido un factor limitante en el resultado obtenido para la EF recién diagnosticada, comparada con la EMJ y ELT, o si realmente en estos pacientes no hay una disfunción del sistema glinfático, mientras que en los otros dos tipos de epilepsia sí que la hay. Cabe mencionar también que en el estudio para la ELT con esclerosis del hipocampo no encontraron diferencias significativas para el índice ALPS entre pacientes recientemente diagnosticados no fármaco-dependientes y pacientes crónicos.

Por otro lado, este grupo de investigación ha aplicado el mismo protocolo para estudiar el sistema glinfático en pacientes con cefalea en racimos [34] y con migrañas [35].

Estos estudios muestran que el índice ALPS de los pacientes con cefalea en racimos fue significativamente inferior al de los controles sanos, mientras que entre los pacientes con migraña y los controles sanos no hubo diferencias significativas. Una vez más, si nos fijamos en la muestra utilizada para cada estudio, vemos que en el primer caso incluyeron a 14 pacientes y 23 controles, mientras que en el segundo incluyeron a 92 pacientes y 80 controles, lo que supone un 465% más de participantes. Igualmente, se necesitarían más estudios para concluir de nuevo si el tamaño de la muestra ha sido el factor limitante en la diferencia del resultado obtenido para la migraña y la cefalea en racimos. Por otro lado, si nos fijamos de nuevo en los índices ALPS obtenidos siguiendo la misma metodología que en los estudios anteriores, vemos que seguimos obteniendo valores en el mismo rango, con un índice de $1,59 \pm 0,37$ en pacientes con cefalea frente a $1,79 \pm 0,21$ en sujetos sanos (desviación estándar no proporcionada) en [34]; y $1,65 \pm 0,33$ en pacientes con migraña frente a $1,71 \pm 0,30$ en sujetos sanos en [35]; siendo destacable que el valor para los sujetos sanos es más alto en ambos casos que el que obtuvieron en los estudios para la epilepsia.

Además de aplicarse para trastornos neurodegenerativos, este método del índice ALPS también se ha aplicado para otros tipos de trastornos como la Diabetes Mellitus de tipo 2 (T2DM, del inglés *Type 2 Diabetes Mellitus*) [5], trastornos cardiovasculares [36] o el cáncer [12][37]. Todos ellos, muestran una disfunción significativa del sistema glinfático, con una difusividad del agua en el espacio perivascular y un índice ALPS reducidos, asociados a la gravedad de la enfermedad, frente a valores más altos obtenidos para sujetos sanos.

Para este trabajo, nos ha parecido especialmente interesante el artículo *Evaluation of the Glymphatic System Using the DTI-ALPS Index in Patients with Spontaneous Intracerebral Haemorrhage* [36]. En este estudio, investigaron la función del sistema glinfático en pacientes con hemorragia intracerebral espontánea (HICe), utilizando el método del DTI-ALPS, de una manera bilateral en el cerebro, comparando los valores del índice ALPS obtenidos para el hemisferio ipsilateral y contralateral de pacientes y sujetos sanos. Para ello, adquirieron imágenes de DTI y de SWI (*Susceptibility weighted imaging*) de 20 pacientes con HICe y de 31 controles sanos.

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que el índice ALPS es significativamente menor en el lado de la lesión comparado con el hemisferio contralateral en los pacientes con HICe, y también significativamente menor que el de ambos hemisferios del grupo control. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas entre el índice ALPS del lado no lesionado de los pacientes con HICe y el grupo control. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre los hemisferios cerebrales izquierdo y derecho del grupo control. Por último, el índice ALPS del lado de la lesión en pacientes con HICe mostró una correlación significativa con la duración de la enfermedad. Así, este estudio confirmó que en pacientes con HICe únicamente se encuentra deteriorada la función del sistema glinfático en el hemisferio ipsilateral de la lesión, lo que podría indicar que el sistema glinfático podría ser un sistema separado en los hemisferios cerebrales izquierdo y derecho, aunque todavía consideramos que faltan más estudios que secunden esta idea.

Si nos centramos en publicaciones que apliquen este método en procesos oncológicos (diferentes del glioma), nos encontramos con dos artículos destacables.

Por un lado, Wang *et al.* [37] estudiaron la relación entre el dolor oncológico y los cambios funcionales del sistema glinfático. En este estudio, incluyeron a 97 participantes, de los cuales 40 presentaban dolor oncológico (CP, del inglés *Cancer Pain*), 27 presentaban cáncer sin dolor oncológico (PLC, del inglés *Painless Cancer*) y los 30 participantes restantes constituían el grupo control. Para los tres grupos, se midió la difusividad del agua en el espacio perivascular y se calculó el índice ALPS, para comparar las diferencias del sistema glinfático. Además, se analizó también la función del sistema glinfático antes y después de

la intervención farmacológica contra el dolor oncológico. Los resultados obtenidos mostraron que, tanto la difusividad como el índice ALPS eran significativamente menores en el grupo de pacientes CP que en el grupo de pacientes PLC y el grupo control. Además, ambos parámetros aumentaron tras la intervención para el alivio del dolor. Por otro lado, el índice ALPS se correlacionó negativamente con el grado de dolor en el grupo de pacientes CP. Por tanto, este estudio concluyó que las alteraciones de la función glinfática están estrechamente relacionadas con el dolor oncológico, y que la cuantificación de estos cambios funcionales permite reflejar la gravedad del dolor. Así, estos hallazgos apoyan el uso de biomarcadores de neuroimagen para la evaluación del dolor oncológico e indican que el dolor puede aliviarse regulando el estado de la función cerebral.

Por último, en el artículo *Peritumoral Brain Edema in Meningiomas May Be Related to Glymphatic Dysfunction*, Toh *et al.* investigaron en 2021 si existía una posible correlación entre la función glinfática y el volumen del edema cerebral peritumoral en casos de meningiomas [12]. Para ello, incluyeron de manera retrospectiva un total de 80 pacientes con meningioma y 44 sujetos con una exploración de imágenes de RM cerebral normal (grupo control). Todos ellos contaban con imágenes preoperatorias de resonancia magnética por tensor de difusión, que se utilizó para aplicar el método del índice ALPS.

Los resultados obtenidos en este estudio mostraron que el índice ALPS estaba inversamente correlacionado con el volumen del ECP en meningiomas. Por tanto, concluyen que la relación entre el volumen del ECP y el índice ALPS sugiere que la formación del ECP puede estar relacionada con la disfunción glinfática.

Por otro lado, encontraron que el índice ALPS en el grupo de meningiomas sin ECP era significativamente mayor que el índice en el grupo de meningiomas con ECP y en el grupo control. Este resultado podría sugerir que en estos pacientes, sin ECP, la función glinfática es mayor para facilitar la eliminación del líquido intersticial, reduciendo o evitando así la formación del ECP. Sin embargo, el índice ALPS no fue significativamente diferente entre los meningiomas con ECP y el grupo control, lo que indica que no hay cambios significativos en la función glinfática, al contrario de lo que cabría esperar. A este respecto, Toh *et al.* plantearon que, justamente la ausencia de cambios en la función glinfática en respuesta al crecimiento de un meningioma, podría derivar en una función glinfática insuficiente para la

eliminación del aumento de líquido intersticial y, por tanto, podría dar lugar a la formación del ECP.

2.1. Índice ALPS en gliomas

Toh *et al.* presentaron en 2021 el artículo *Factors Associated With Dysfunction of Glymphatic System in Patients With Glioma* [13], con el objetivo de investigar los cambios en la función glinfática en pacientes con glioma utilizando el método del DTI-ALPS. En concreto, investigaron si existía una correlación entre la función glinfática y el volumen del tumor; el edema cerebral peritumoral; el grado del tumor y el estado de la mutación de la isocitrato deshidrogenasa 1 (IDH1).

Para ello, realizaron un estudio retrospectivo que incluía un total de 201 pacientes con glioma. Todos ellos contaban con imágenes por tensor de difusión preoperatorias, que se utilizaron para calcular el índice ALPS. Además, de cada paciente se recogió la siguiente información: sexo, edad, grado del tumor, estado de la mutación de la IDH1, volumen del edema cerebral peritumoral y volumen del tumor. La edad media de los pacientes era 47,4 años y de ellos 116 eran hombres. En cuanto al grado del tumor, 86 presentaban grado II, 52 grado III y 63 grado IV.

Cabe destacar que, si para un mismo paciente se encontraron tumores en ambos hemisferios, se seleccionaron los del hemisferio con el tumor más grande para medir sus volúmenes. Además, si había varios tumores o zonas de edema cerebral peritumoral, se incluyeron todos siempre y cuando su tamaño fuera mayor que $1 \times 1 \text{ cm}^2$. Es muy importante tener en cuenta que la medida del índice ALPS se hizo siempre en el hemisferio ipsilateral del tumor.

Los volúmenes totales del edema cerebral peritumoral, del tumor completo, de la porción tumoral con realce, de la porción tumoral sin realce, de la porción necrótica y de la porción hemorrágica se calcularon sumando todos los volúmenes de los diferentes cortes.

En la siguiente Figura 2.2 podemos ver un ejemplo de cómo se segmentaron las regiones de interés en un glioma frontal de grado II en el hemisferio izquierdo.

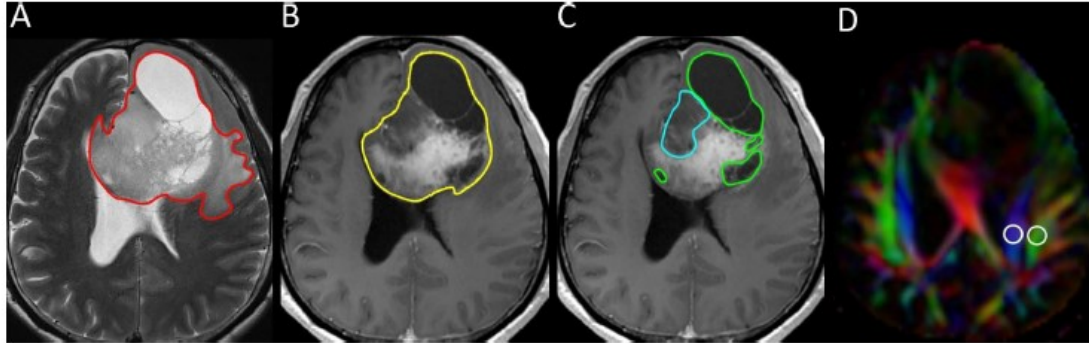


Figura 2.2: Ejemplo de como se segmentaron las regiones de interés en un glioma frontal de grado II en el hemisferio izquierdo [13].

(A) Transverse T2-weighted image showing a manually drawn polygonal ROI (red) that includes the entire peritumoral brain edema and the whole tumor. (B, C) On contrast-enhanced T1-weighted images, the ROIs of whole tumor (yellow), non-enhancing tumor (blue), and necrotic portion (green) are shown. (D) Directionally encoded color map illustrating the ROIs of the projection (blue area) and association (green area) fibers in the left periventricular region for calculation of the analysis along the perivascular space (ALPS) index.

Los resultados que obtuvieron al comparar los diferentes grupos revelaron que:

- El índice ALPS entre hombres y mujeres no era significativamente diferente
- El índice ALPS de gliomas de grado II y III era significativamente mayor que el de gliomas de grado IV ($p < 0.001$)
- El índice ALPS no era diferente entre los gliomas de grado II y III ($p = 0.67$)
- El índice ALPS de los gliomas de IDH1 *wild type* era significativamente menor que el de los gliomas con mutación de IDH1 ($p < 0.001$)

Por otro lado, el análisis de regresión lineal univariable mostró los siguientes resultados:

- El índice ALPS mostró una correlación significativa con: la edad ($b = -0.15$, $p = 0.04$); el sexo ($b = -0.14$, $p = 0.05$); el grado del tumor ($b = -0.36$, $p < 0.001$); la mutación del IDH1 ($b = 0.39$, $p < 0.001$); el volumen del edema cerebral peritumoral ($b = -0.44$, $p < 0.001$); el volumen del tumor con realce ($b = -0.35$, $p < 0.001$); y el volumen del tumor sin realce ($b = 0.31$, $p < 0.001$).

- No fueron estadísticamente significativas las asociaciones del índice ALPS con el volumen total del tumor ($b = 0.10$, $p = 0.15$); el volumen de la porción necrótica ($b = -0.06$, $p = 0.41$); y el volumen de la porción hemorrágica ($b = 0.002$, $p = 0.98$).

En el análisis de regresión lineal múltiple, la mutación del IDH1 ($b = 0.31$, $p < 0.001$) y el volumen del edema cerebral peritumoral ($b = -0.35$, $p < 0.001$) fueron los dos factores independientes asociados al índice ALPS. Un índice ALPS más bajo se asoció con los gliomas con IDH1 *wild type* y con aquellos con un mayor volumen de edema cerebral peritumoral.

En conclusión, los gliomas con IDH1 *wild type* y los gliomas con mayores volúmenes de edema cerebral peritumoral se asociaron con un índice ALPS más bajo, lo que podría reflejar una función glinfática deteriorada. Toh *et al.* concluyen que el índice ALPS más bajo en los gliomas con IDH1 *wild type* puede sugerir una asociación entre la disfunción glinfática y la agresividad del tumor. Además, sugieren que la correlación entre mayores volúmenes de edema cerebral peritumoral y un índice ALPS más bajo muestra que la formación de edema cerebral peritumoral puede estar relacionada con la disfunción glinfática.

En nuestra opinión, la principal duda que nos surge acerca de este estudio es si realmente se pueden analizar por igual las imágenes que presentan gliomas en el hemisferio izquierdo, en el derecho o incluso en ambos. De igual manera, comparan los resultados de igual manera para pacientes con uno o varios gliomas.

2.2. Limitaciones

Queremos empezar esta sección destacando la gran ventaja que presenta este método no invasivo, que es su fácil adquisición y posterior observación, permitiendo su aplicación en la práctica clínica usando DTI clínicamente comunes y ya incluidas en los diferentes protocolos de los hospitales.

Por otro lado, en esta sección vamos a presentar las principales limitaciones encontradas hasta el momento en los estudios que aplican el método del índice ALPS para el análisis del sistema glinfático.

- En primer lugar, este método solo describe el drenaje del líquido intersticial en el espacio perivascular a nivel del ventrículo lateral, mediante una fórmula matemática. Sin embargo, la dinámica de los fluidos dentro de cada región anatómica aún no se conoce del todo, por lo que no se sabe realmente en qué segmentos de la vía glinfática debe medirse el flujo del líquido intersticial para poder estimar la función glinfática global. Así, el drenaje del líquido intersticial en el cerebro puede estar regionalizado, lo que significa que las funciones y las estructuras espaciales pueden ser diferentes entre las distintas regiones del cerebro, y la medición de la función de drenaje para una región puede no reflejar la alteración funcional global del cerebro. [37]
- En segundo lugar, el índice ALPS evalúa el flujo de agua a lo largo de las venas medulares profundas y sigue sin estar claro si esta medida refleja la función global del sistema glinfático o sólo el flujo de salida del líquido intersticial hacia los espacios perivascuales venosos. Por tanto, la correlación entre la difusividad del agua en dirección derecha-izquierda a lo largo de las venas medulares profundas y la actividad glinfática necesita una mayor validación.
- Además, como ya hemos visto, se necesita una muestra mucho más amplia para investigar los factores que influyen en los cambios del sistema glinfático y poder validarlos. Así, las muestras de los estudios son, en general, insuficientes y retrospectivas, con una mediana de 39 participantes. Por otro lado, las desviaciones estándares de los resultados publicados que encontramos tienen un rango de entre 0.03 y 0.37, con una mediana de 0.17, por lo que podemos ver que hay una gran variabilidad en los datos presentados. Además, falta conocimiento acerca de cómo afectan el posicionamiento de las ROIs, su tamaño, la bilateralidad del cerebro, ciertos factores longitudinales como la aplicación de tratamientos, etc.
- La mayoría de estudios analizan únicamente el hemisferio izquierdo del cerebro, abogando que los participantes del estudio son diestros y que, por tanto, los tractos de asociación son más gruesos en el hemisferio dominante. En la Tabla 2.3 se puede ver qué publicaciones tienen en cuenta la bilateralidad en sus estudios. De las 17 publicaciones revisadas en este trabajo, solo 5 (29.41 %) presentan resultados de ambos hemisferios.

- Por último, volver a destacar la falta absoluta de consenso acerca de un valor de referencia del índice ALPS obtenido para sujetos sanos y un rango para estados patológicos, que no permite comparar los resultados obtenidos por las diferentes publicaciones; la cuál probablemente está provocada por la falta de una metodología estándar bien definida.

Como ya hemos comentado, el sistema glinfático ha sido reconocido recientemente y todavía no existen métodos no invasivos bien establecidos para medir su función en humanos, por lo que todavía existen grandes limitaciones.

Como conclusión, parece evidente que todavía falta mucho por investigar en cuanto a la función glinfática y su correlación con las diferentes enfermedades con implicaciones neurológicas y, aunque el método del índice ALPS parece una muy buena herramienta para estudiar este sistema de una manera no invasiva, todavía se encuentra en una fase prematura en cuanto a la consolidación de la técnica.

Capítulo 3

Desarrollo del método propuesto

En este capítulo, se presenta el flujo de trabajo seguido, las bases de datos utilizadas y el método empleado en este estudio.

3.1. Contexto y planteamiento del problema

Este trabajo implementa y evalúa el método del índice ALPS para comparar la actividad del sistema glinfático en sujetos sanos y pacientes con glioma. Para ello, el desarrollo se ha basado en el método propuesto por primera vez en el artículo científico *Evaluation of glymphatic system activity with the diffusion MR technique: diffusion tensor image analysis along the perivascular space (DTI-ALPS) in Alzheimer's disease cases* [24].

El enfoque presentado en 2017 en [24], que todavía podríamos considerar como novedoso, consiste en utilizar imágenes de resonancia magnética por tensor de difusión cerebrales, para extraer la difusividad del agua en las fibras de proyección y asociación en las tres dirección (x, y, z), y calcular con estos conjuntos de datos una métrica, el índice ALPS, que nos permita analizar la actividad del sistema glinfático a nivel individual. Las medidas de la difusividad en ambos haces de fibras deben ser obtenidas al nivel del cuerpo del ventrículo lateral, donde se puede considerar que el espacio perivascular fluye en dirección perpendicular a ambos tractos dominantes. Mediante un análisis estadístico para los diferentes valores del índice ALPS obtenidos, podemos evaluar su aplicación como biomarcador de la actividad del sistema glinfático.

El flujo de trabajo está dividido en las siguientes etapas (Figura 3.1):

- Selección de las bases de datos con imágenes de resonancia magnética por tensor de difusión.
- Preprocesamiento de las imágenes (corrección de movimiento y corrección de eddy currents) y obtención de los mapas de difusividad (D_{xx} , D_{yy} , D_{zz} y FA).
- Posicionamiento de las regiones de interés.
- Cálculo del índice ALPS.
- Análisis estadístico.

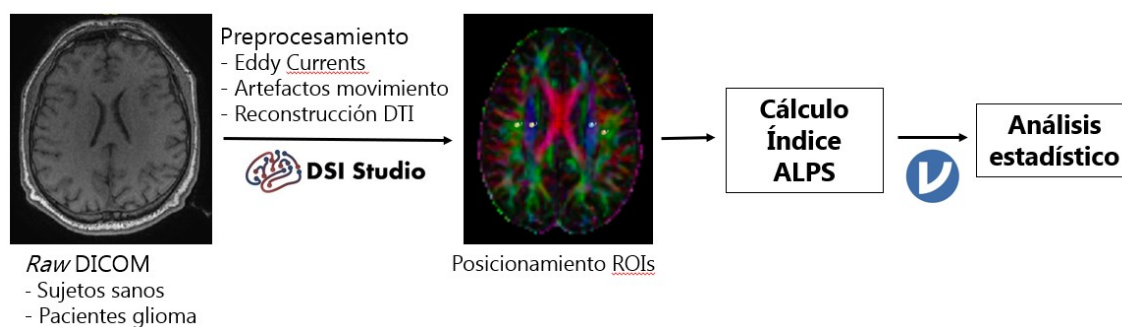


Figura 3.1: Flujo de trabajo

Además, en este estudio se ha querido analizar la estabilidad del índice ALPS como biomarcador longitudinal del sistema glinfático, utilizando imágenes obtenidas en dos sesiones diferentes para los sujetos sanos. También, se ha querido analizar la actividad de este sistema de una manera bilateral, recogiendo las medidas para ambos hemisferios cerebrales. Por último, se ha querido analizar si existe una correlación entre el índice ALPS y el grado de malignidad del glioma, diferenciando el análisis para los gliomas de grado II (benignos) y los de grado III y IV (malignos); así como con la edad y el sexo de los participantes.

Todo el preprocesamiento de las DTI se ha llevado a cabo con DSI Studio (v3.8.2022) [38], una herramienta de software (SW) abierto de tractografía que mapea las conexiones

cerebrales y permite correlacionar los resultados obtenidos con trastornos neuropsicológicos. El software es una implementación colectiva de varios métodos de resonancia magnética de difusión, incluyendo la reconstrucción de imágenes por tensor de difusión, *generalized q-sampling imaging (GQI)*, *q-space diffeomorphic reconstruction (QSDR)*, *diffusion MRI connectometry* y *generalized deterministic fiber tracking*. DSI Studio se ha utilizado en más de 1400 publicaciones y los estudios de investigación que lo utilizan se han publicado en revistas de gran prestigio como *Nature Neuroscience*, *Nature Human Behavior*, *Nature Communication*, *Brain*, *Cerebral Cortex* y *NeuroImage*. Además, el método de tractografía determinista (del inglés *deterministic fiber tracking method*) de DSI Studio ha logrado la precisión más alta de entre 96 métodos presentados por 20 grupos de investigación diferentes, examinados mediante un concurso abierto [39].

Por otro lado, la interfaz gráfica de usuario de DSI Studio se caracteriza por su amigabilidad para el usuario (del inglés *user friendly*), que hace que sea fácil de usar y rápida de aprender, y además permite el procesado de imágenes en lote sin necesidad de utilizar la interfaz de línea de comandos. Si además tenemos en cuenta que es de acceso libre para cualquier sistema operativo, consideramos que se podría implementar fácilmente en muchos hospitales y, podría ser muy útil, incluir este software como una herramienta de trabajo utilizada para el diagnóstico y seguimiento de diversas enfermedades neurológicas, en nuestro caso concreto del cáncer de glioma.

Cabe volver a remarcar que, las publicaciones revisadas en el Capítulo 2 del grupo de investigación liderado por Lee *et al.* utilizan este SW para su estudio [31][32][33][34][35].

Para llevar a cabo el análisis estadístico, se ha utilizado JAMOVI (v2.3.18) [40]. El proyecto jamovi se fundó para desarrollar una plataforma estadística libre y abierta, de uso intuitivo y que pueda ofrecer los últimos avances en metodología estadística, construida sobre el lenguaje estadístico R. Su principal ventaja es su gran *usabilidad*, con una interfaz de usuario muy fácil de entender y que permite llevar a cabo análisis estadísticos completos rápidamente, por lo que representa una buena alternativa a otros SWs estadísticos más complejos como SPSS y SAS.

3.2. Base de datos

Como se ha podido ver en el Capítulo 2, no existe un consenso sobre qué requisitos deben cumplir las bases de datos utilizadas para la aplicación del método del índice ALPS, sobre todo en lo que respecta a los parámetros de adquisición de las imágenes, haciendo muy difícil una posible comparativa entre evaluaciones. Por otro lado, si que hay una clara unanimidad en cuanto al uso de un campo de 3 T y un b-valor de 1000 s/mm² en todos los estudios presentados. Este hecho podría deberse a un posible sesgo en los campos de adquisición que se utilizan en los centros de investigación, lo que no tendría por qué representar realmente la práctica clínica.

Afortunadamente, para la realización de este trabajo hemos podido contar con una base de datos de DTI de pacientes con glioma del Hospital Carlos Van Buren, obtenida en el contexto del proyecto FONIS SA17I0124. Este proyecto contó con la aprobación del comité de ética (CEC – SSVSA 72/2017) y todos los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito. Es destacable señalar que el campo utilizado en el protocolo de adquisición de imágenes del hospital es de 1.5 T por lo que, hasta donde alcanza nuestro conocimiento, nos convierte en el primer estudio que aplica el método del índice ALPS en imágenes adquiridas en 1.5 T.

Dado que uno de los objetivos iniciales de este trabajo consistía en comparar el método empleado entre la base de datos recién mencionada y una base de datos de sujetos sanos, y que no sabemos cómo afecta el campo de adquisición a la medición del índice ALPS, pues no tenemos estudios que lo demuestren, consideramos que éste sería un factor condicionante para elegir la base de datos de sujetos sanos. Por otro lado, como el tiempo ha sido un factor limitante en este trabajo, tuvimos que descartar la posibilidad de adquirir las imágenes, que podría ser muy interesante para posibles líneas futuras de este estudio. Por tanto, hicimos una búsqueda exhaustiva en diversas páginas y, aunque encontramos que la mayoría de bases de datos públicas de DTI de sujetos sanos presentaban un campo de 3 T, finalmente optamos por utilizar la base de datos disponible en [41], que cuenta con adquisiciones de 1.5 T de imágenes por tensor de difusión de 16 sujetos sanos, con dos sesiones diferentes para cada sujeto.

En esta sección vamos a describir tanto las características de los participantes del estudio como los parámetros de adquisición de las imágenes de RM.

3.2.1. Participantes

La base de datos disponible en [41] cuenta con imágenes por tensor de difusión de 16 sujetos sanos y de 9 pacientes con ataxia espinocerebelosa tipo 2, de las cuáles estas últimas fueron descartadas para este trabajo. Los sujetos sanos no tenían antecedentes familiares o personales de disfunción neurológica o psiquiátrica y presentaron un examen neurológico normal tanto de inicio como de seguimiento [42]. Para cada uno, se adquirieron DTI en dos sesiones diferentes, separadas entre sí una media de 3.3 ± 1.0 años.

La base de datos del Hospital está formada por DTIs de 48 pacientes con glioma. Estas imágenes fueron adquiridas dentro del protocolo preoperatorio para dichos pacientes, lo que refuerza la fortaleza de este método en su fácil aplicación en la práctica clínica, pues no requiere una modificación del protocolo del hospital. Además, cuatro de los pacientes contaban con imágenes tomadas en dos sesiones, para dos procesos preoperatorios de gliomas diferentes, por lo que se incluyeron ambas sesiones como participantes diferentes. Por tanto, hay un total de 52 participantes.

Los criterios de inclusión empleados fueron los siguientes:

- Pacientes con gliomas del Hospital Carlos Van Buren que se sometieron a un DTI preoperatorio y resección quirúrgica entre julio de 2016 y octubre de 2022.
- El diagnóstico y el grado del glioma se confirmaron mediante histopatología.
- Los gliomas de grado 2 se clasificaron como grado bajo o benigno, y los de grado 3 y 4 se clasificaron como grado alto o maligno.
- Las localizaciones de los tumores (hemisferio y lóbulo/os) fueron registradas por neurocirujanos y neurorradiólogos experimentados.
- Los pacientes no presentaban ninguna otra enfermedad neurodegenerativa.

- Se incluyeron aquellos pacientes en los que se pudiera posicionar las ROIs en al menos uno de los dos hemisferios.

Por otro lado, los criterios de exclusión empleados fueron:

- Se excluyeron los pacientes con tumores que se extendían a ambos hemisferios, porque esto no permitía contrastar la actividad en el hemisferio ipsilateral frente al contralateral.
- Se excluyeron aquellos pacientes con una estructura anatómica cerebral totalmente modificada por el glioma, impidiendo el posicionamiento de las ROIs en ambos hemisferios.
- Se excluyeron aquellas imágenes que tras el procesamiento presentaban una mala relación señal-ruido, impidiendo el uso de las mismas.

3.2.2. Adquisición de DTI

Las imágenes de difusión de la base de datos de sujetos sanos fueron adquiridas con un escáner Philips Intera de 1.5 T. Los parámetros utilizados fueron: un valor de tiempo de eco de 89 ms y un tiempo de repetición de 9394 ms; para todas las imágenes se empleó un esquema DTI de difusión con un total de 15 direcciones de difusión adquiridas; el valor de b fue de 1000 s/mm²; la resolución en el plano fue de 2 mm y el grosor de corte de 3 mm.

Por otro lado, las imágenes de difusión del Hospital Van Buren fueron adquiridas con un escáner GE SignaHDxt de 1.5 T con una secuencia de difusión. Los parámetros utilizados en este caso fueron: un valor de tiempo de eco de 95 ms y un tiempo de repetición de 12000 ms; para todas las imágenes se empleó un esquema DTI de difusión con un total de 32 direcciones de difusión adquiridas; el valor de b fue de 1000 s/mm²; la resolución en el plano fue de 1.0156 mm y el grosor de corte de 3 mm.

Estos datos se pueden visualizar en la siguiente Tabla 3.1.

BD	Campo (T)	B-valor (s/mm ²)	Direcciones	TR (ms)	TE (ms)	Resolución espacial (mm ³)
Sujetos sanos	1.5	1000	15	9394	89	2 x 2 x 3
Pacientes con glioma	1.5	1000	32	12000	95	1 x 1 x 3

Tabla 3.1: Comparativa de los parámetro de adquisición.

BD: base de datos. TR: tiempo de repetición. TE: tiempo de eco

3.3. Procesamiento de las imágenes por tensor de difusión

Como ya hemos mencionado en la Sección 3.1, el procesamiento de las imágenes por tensor de difusión se ha llevado a cabo utilizando el software DSI Studio. Para los sujetos sanos, el procesamiento de las imágenes se llevó a cabo de manera individual, lo que permitió mejorar el manejo de la herramienta con una muestra más pequeña, mientras que para las imágenes de pacientes con glioma se hizo utilizando la herramienta de procesamiento en lote que ofrece el programa.

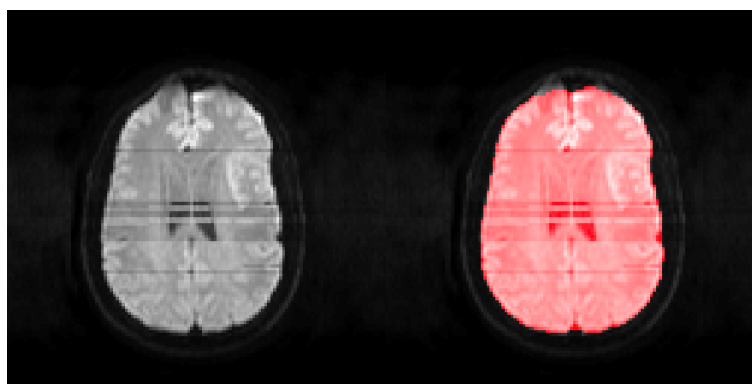
En ambos casos, los pasos a seguir han sido los siguientes:

- Primero, las DTI *raw* fueron leídas en formato DICOM para crear un archivo SRC (*Source Code File*). En este paso el SW muestra la tabla de valores de b extraída de los DICOM, para poder confirmar las distintas direcciones y sus valores de b.

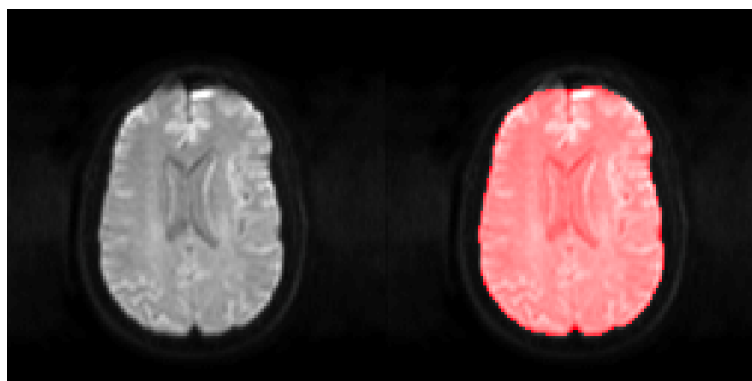
File Name	b value	bx	by	bz
1 DTI_32Direction...	0	0	0	0
2 DTI_32Direction...	1000	1	0	0
3 DTI_32Direction...	999.598	0.494198	0.869349	0
4 DTI_32Direction...	999.922	-0.120009	0.64105	-0.758059
5 DTI_32Direction...	999.959	0.919038	-0.331014	0.214009
6 DTI_32Direction...	1000.26	-0.11197	-0.630833	-0.767797
7 DTI_32Direction...	999.666	-0.914305	-0.236079	-0.32911
8 DTI_32Direction...	1000.23	0.680844	0.30293	-0.666847
9 DTI_32Direction...	1000.33	0.0669778	0.99767	0.0129957
10 DTI_32Direction...	1000.41	0.917623	0.152937	-0.366849

Figura 3.2: Ejemplo de tabla de valores de b.

- El segundo paso de preprocesamiento consiste en la conversión del archivo SRC obtenido a un archivo FIB. En este paso, el SW permite navegar entre las diferentes direcciones de ponderación en difusión y entre los distintos cortes, ofreciendo una primera visualización rápida, que permite confirmar la presencia de posibles artefactos de movimiento o producidos por *eddy currents*, así como detectar si algún corte pudiera estar invertido. Además, el programa permite detectar automáticamente cortes defectuosos y eliminarlos si se considera necesario. Para mejorar la calidad de las imágenes y eliminar los posibles artefactos, DSI Studio ofrece una corrección de ambos tipos de artefactos mencionados, que es importante ejecutar antes de seguir con la reconstrucción. En la siguiente imagen (Figura 3.3) podemos ver un ejemplo del resultado obtenido para una de las imágenes de un sujeto sano al aplicar esta corrección.



(a) Imagen sin procesar



(b) Imagen corregida

Figura 3.3: Resultado de aplicar la corrección para artefactos de movimientos y para artefactos causados por *eddy currents* de DSI Studio.

El SW crea automáticamente una máscara, para filtrar la región de fondo, aumentar la eficacia de la reconstrucción y facilitar la visualización más adelante. Cuando se procesan las imágenes individualmente, esta máscara puede ser manipulada manualmente para ajustarla mejor a la imagen, utilizando funciones basadas en el umbral, suavizado, expansión, erosión y fragmentación. Por último, para este trabajo, la reconstrucción se realizó mediante el método DTI, que genera una orientación de fibra por vóxel y la medida de anisotropía y difusividad asociada. En este momento, es importante especificar que se desea obtener como parámetro de salida el tensor de difusión, pues no viene incluido por defecto y es el parámetro que nos va a proporcionar los valores de la difusividad en el eje X (txx), en el eje Y (tyy) y en el eje Z (tzz) para calcular el índice ALPS. Para ello, hay que escribir la palabra *tensor* en los parámetros de salida deseados. La reconstrucción, sobre todo si se lleva a cabo la corrección de artefactos, es muy lenta desde el punto de vista computacional, llegando a tardar más de una hora por imagen.

- Una vez finalizada la reconstrucción y obtenidos los archivos FIB, el último paso consistió en el posicionamiento de las ROIs de manera individual para cada imagen, que nos permitió obtener los valores de difusividad de las fibras de proyección y de asociación. Para poder encontrar fácilmente los tractos buscados utilizamos los mapas de color, sabiendo que las fibras de proyección a nivel del cuerpo del ventrículo lateral se presentan de color azul (eje z) y las de asociación de color verde (eje y), siguiendo el estándar de colores establecido. Además, para localizar los cortes deseados nos hemos basado en las indicaciones del neurorradiólogo Pablo Cox, cotutor de este trabajo. Con sus indicaciones, junto con las gráficas aportadas por las publicaciones citadas en el estado del arte, buscamos posicionar las ROIs a la altura del cuerpo del ventrículo lateral, perpendicular al espacio perivascular y evitando entrar en los núcleos de la base. En la mayoría de los casos, el corte donde mejor se aprecian los tractos buscados es aquél en el que ya vemos por completo el cuerpo calloso (Figura 3.5). En caso de no poder apreciar los tractos nítidamente en este corte, se ha buscado el corte más cercano en el que pudiéramos ver claramente el tracto de proyección de color azul junto con el de asociación de color verde. Es importante no confundir el epéndimo que recubre los ventrículos, y que también aparece de color

verde, con las fibras de asociación, que siempre deben aparecer más externas que las de proyección. Sin embargo, nos hemos encontrado que las publicaciones anteriores no definen dónde posicionan sus ROIs de una manera exacta, por lo que es difícil saber si todas eligen la misma altura simplemente basándonos en las gráficas aportadas a modo de ejemplos, así como saber en qué medida afecta el corte seleccionado a los resultados obtenidos. En cuanto a la geometría de las ROIs, parece que hay un amplio consenso en utilizar regiones esféricas con un diámetro de 5 mm (Tabla 2.2). Al intentar dibujar una ROI de estas características con DSI Studio nos encontramos que la región esférica en el espacio 3D incluye los cortes adyacentes, englobando otras estructuras anatómicas más allá de los tractos de proyección y asociación, por lo que no es válida para la técnica que buscamos. La Figura 3.4 muestra un ejemplo de una ROI esférica que engloba más de un corte con DSI Studio, motivo por el cual esta geometría fue descartada. Por otro lado, si nos fijamos en los estudios que utilizaron DSI Studio, vemos que utilizaron una ROI rectangular, que es la alternativa que ofrece este SW a las geometrías del espacio 3D.

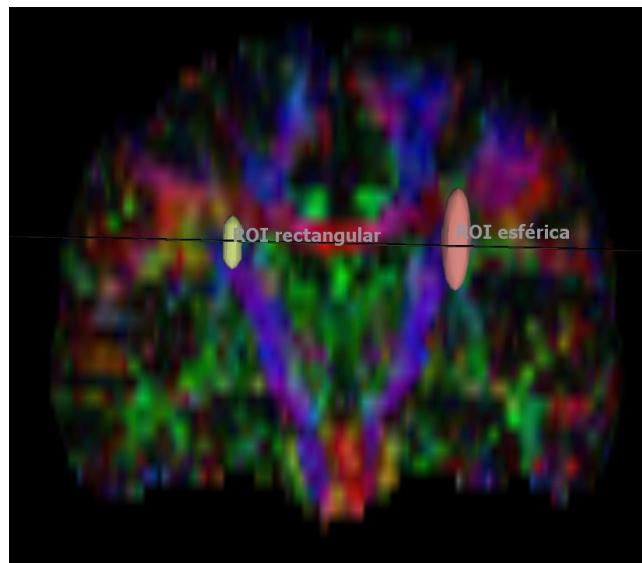
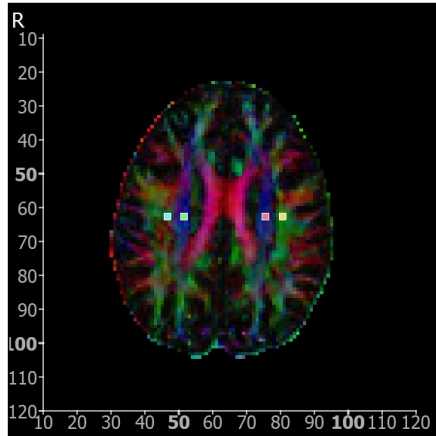


Figura 3.4: Comparación de una ROI esférica y rectangular en DSI Studio para un paciente con glioma. Imagen coronal.

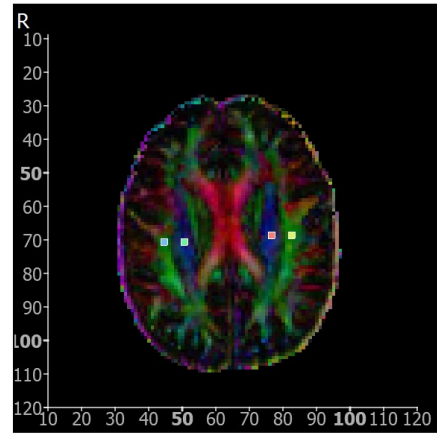
Como se puede apreciar, el grosor de la ROI esférica es mayor que el grosor de un corte, representado por la ROI rectangular.

Para elegir el tamaño de las ROIs, nos hemos fijado en el tamaño empleado por las publicaciones citadas, siendo la mayoría de 65 mm^3 , como acabamos de mencionar, mientras que los estudios que utilizan DSI Studio toman un tamaño de tan solo 9 mm^3 , pues seleccionan con una ROI rectangular un único píxel por tracto. En nuestro caso, para la base de datos de sujetos sanos, se mantuvo un tamaño de 48 mm^3 para todas las ROIs, con rectángulos de $4 \times 4 \times 3 \text{ mm}^3$. Esta medida se seleccionó porque permitía dibujar una ROI dentro de cada tracto para todas las imágenes de sujetos sanos, aproximándonos al volumen más empleado en la revisión de la técnica. Para los pacientes con glioma, vimos que en muchos casos la anatomía se encuentra modificada por los tumores, por lo que no fue tan fácil mantener un tamaño fijo para las ROIs. Por último, en el estado de la técnica tampoco queda clara la altura exacta del plano axial en el que se posicionan las ROIs, ni tampoco cómo influye si no se posicionan exactamente a la misma altura. A este respecto, hemos considerado que si tienen que colocarse siempre a la misma altura exacta no sería posible aplicarlo en la práctica clínica, pues cada paciente va a presentar una DTI ligeramente diferente anatómicamente, o muy diferente en el caso de los pacientes con glioma. Por ello, se buscaron posicionar siempre lo más alineadas posibles, priorizando los lugares en los que mejor definidas estuvieran las difusividades en los tractos (según el color). En la Figura 3.5 se puede visualizar un ejemplo del posicionamiento de las ROIs en sujetos sanos y en pacientes con glioma. Además, el posicionamiento de las ROIs para cada imagen se puede visualizar en el Anexo B incluido en este trabajo. Por último, para obtener el tensor de difusión de cada ROI, DSI Studio permite exportar las métricas asociadas a cada región, que incluyen también otros parámetros como su tamaño, ubicación, anisotropía fraccional (FA), coeficiente de difusión aparente (ADC)... La información se exportó en archivos de tipo valores separados por comas (csv).

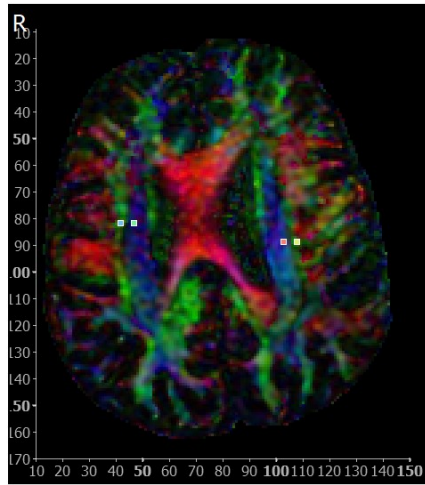
En el Anexo C incluido en este trabajo se puede encontrar un vídeo que recoge los pasos seguidos recién explicados.



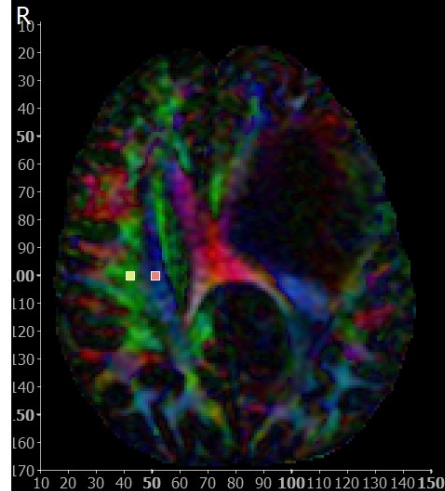
(a) Imagen de un sujeto sano.



(b) Imagen de un sujeto sano.



(c) Imagen de un paciente con glioma.



(d) Imagen de un paciente con glioma.

Figura 3.5: Ejemplo de ROIs colocadas en ambos hemisferios para obtener los valores de difusividad de las fibras de proyección y asociación sobre el mapa de color en sujetos sanos y pacientes con glioma.

Como se puede apreciar, mientras que en los sujetos sanos la anatomía se mantiene entre sujetos, en los pacientes con glioma nos encontramos casos como en 3.5(d) en los que el tumor modifica la anatomía que buscamos en el hemisferio izquierdo, por lo que solo ha sido posible posicionar las ROIs en los tractos del hemisferio derecho.

3.4. Cálculo del índice ALPS

Como ya hemos explicado en la sección 1.2, el índice ALPS se calcula como la relación de la media de la difusividad en el eje X en la zona de las fibras de proyección (D_{xproj}) y

la difusividad en el eje X en el área de las fibras de asociación (D_{xassoc}), con respecto a la media de la difusividad en el eje Y de las fibras de proyección (D_{yproj}) y la difusividad en el eje Z de las fibras de asociación (D_{zassoc}), siguiendo la siguiente fórmula:

$$Indice \ ALPS = \frac{mean(D_{xproj}, D_{xassoc})}{mean(D_{yproj}, D_{zassoc})} \quad (3.4.1)$$

3.5. Análisis estadístico

Para llevar a cabo el análisis estadístico, nos centramos primero en la base de datos de sujetos sanos, después en la de pacientes con glioma y, por último, llevamos a cabo una comparación entre ambas bases de datos. Para todo el estudio se definió la significación estadística con un valor de $p < 0,05$.

La normalidad de las variables se comprobó en todos los casos mediante el método de Shapiro-Wilk. La prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas se ha empleado para todas las pruebas T.

En el informe, las variables categóricas se expresan como números y porcentajes, mientras que las variables continuas con distribución normal se representaron como valores medios y sus desviaciones estándar.

3.5.1. Sujetos sanos

Para comprobar si los valores obtenidos del índice ALPS son reproducibles entre sesiones para cada hemisferio se ha realizado la prueba t de Student para muestras independientes.

Para comprobar si los valores obtenidos del índice ALPS son significativamente diferentes entre hemisferios se ha realizado la prueba t de Student para muestras apareadas. Como la muestra empleada en esta base de datos no es muy grande ($N=16$) y teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el test anterior de contraste entre sesiones, esta última prueba se ha realizado usando el valor del índice de cada sesión para cada sujeto ($N = 32$).

Para analizar la relación entre el índice ALPS y el sexo se ha realizado la prueba t de

Welch para muestras independientes, teniendo en cuenta la inhomogeneidad de las varianzas mediante la prueba de Levene.

Por último, para analizar la correlación entre el índice y la edad de los participantes, se ha realizado una regresión lineal simple y un modelo de regresión lineal múltiple ajustado para la edad, las sesiones y los hemisferios.

3.5.2. Pacientes con glioma

En los pacientes con glioma, se han llevado a cabo modelos de regresión lineal simples ajustados para la edad, considerando como variable dependiente el índice ALPS, como covariable la edad, y como factor la localización del tumor (ipsilateral frente a contralateral); el grado del tumor (benigno frente a maligno); y el sexo de los participantes.

También se ha utilizado un modelo de regresión lineal múltiple para tener en cuenta todos los factores recién mencionados.

3.5.3. Diferencias entre las dos bases de datos

Aunque la idea inicial consistía en comparar estadísticamente los resultados obtenidos para los sujetos sanos con los pacientes de glioma, teniendo en cuenta el hemisferio ipsilateral y el contralateral, finalmente este análisis no se ha llevado a cabo. Esto se debe a la gran variabilidad que hemos encontrado en el estado del arte de los resultados presentados por los diferentes estudios. Pensamos que una de las razones es la diferencia en las técnicas de adquisición de las imágenes y, como nuestras bases de datos no han sido adquiridas por el mismo equipo con el mismo protocolo de adquisición, pensamos que los resultados de un análisis estadístico para compararlos no serían fiables.

Capítulo 4

Resultados

En este capítulo, se detallan los datos de los participantes que se han incluido finalmente en el estudio, teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión, y se presentan los resultados obtenidos para el cálculo del índice ALPS y su análisis estadístico, en cada una de las bases de datos.

Además, aunque no formaba parte del alcance inicial de este proyecto, se ha incluido un breve análisis acerca de cómo influye la FA y el volumen de los gliomas al índice ALPS. Por último, se ha comprobado cuál es la variabilidad del valor índice ALPS según el posicionamiento de las ROIs en diferentes cortes, para los sujetos sanos.

4.1. Participantes

Los 16 sujetos sanos de la base de datos disponible en [41] han sido incluidos para este trabajo. De todos ellos, 7 (43.75%) son mujeres. En cuanto a la edad media, para la primera sesión es de 49.83 ± 18.40 (25.07 - 72,43) años, mientras que para la segunda sesión es de 53.12 ± 17.54 (29.34 - 74,50) años. La edad media incluyendo las edades de cada participante en ambas sesiones es de 51.48 ± 18.05 años.

De los 52 participantes de la base de datos de pacientes con glioma, 3 fueron excluidos porque presentaban un tumor bilateral; 3 fueron excluidos al tener una mala relación señal-ruido que impedía el uso de las imágenes; 1 fue excluido al presentar una anatomía totalmente modificada por la presencia del tumor, impidiendo el posicionamiento de las ROIs en ninguno de los dos hemisferios; y 1 fue excluido al desconocerse la localización

del tumor (lesión no evidente). La Figura 4.1 muestra este flujo de una manera gráfica. Por tanto, finalmente se incluyeron para el estudio 44 pacientes con glioma.

De todos ellos, 22 (50 %) son mujeres; y la media de edad es de 40.04 ± 13.85 (15 - 71). Respecto al grado de los gliomas, 24 (54.55 %) son de grado II (benignos), 9 (20.45 %) de grado III y 3 (6.82 %) de grado IV (12 malignos). Se desconoce el grado de los 8 (18.18 %) tumores restantes, por lo que estas imágenes no se incluyeron en el estudio concreto para el grado del tumor. En cuanto a la localización de los gliomas, 28 (63.64 %) se ubican en el hemisferio izquierdo.

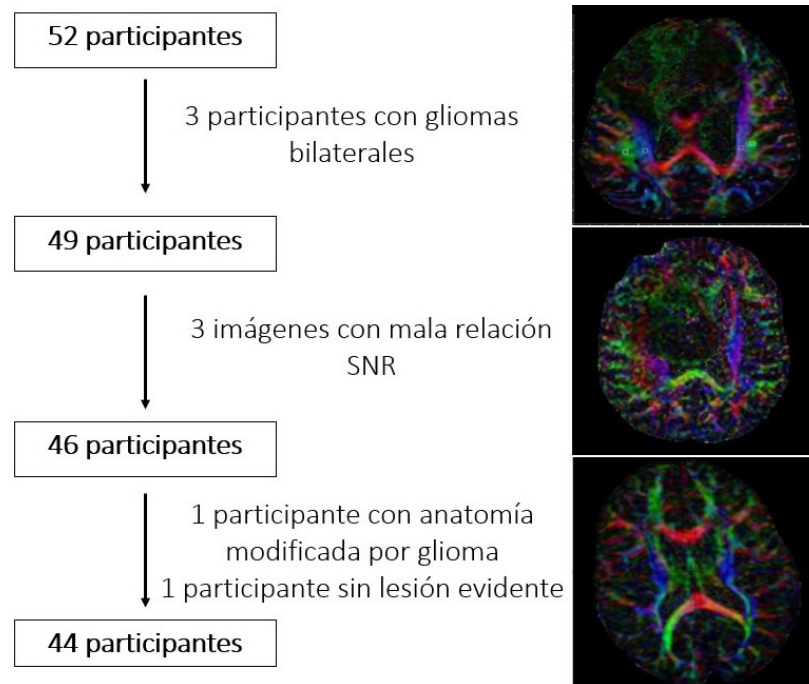


Figura 4.1: Pacientes con glioma incluidos en el estudio.

La tabla 4.1 refleja un resumen de estos datos para ambas bases de datos. Cabe mencionar que desconocemos para ambos casos el porcentaje de sujetos diestros y zurdos, por lo que no podemos tener este factor en cuenta a la hora de analizar los datos.

	Sujetos sanos	Pacientes con glioma
Participantes	16	44
Nº imágenes	32	44
Sexo femenino	7 (43.75 %)	22 (50 %)
Edad (años)	51.48 ± 18.05	40.04 ± 13.85
Rango de edad (años)	29.34 - 74,50	15 - 71
Tumor benigno	-	24 (54.55 %)
Tumor maligno	-	12 (27.27 %)

Tabla 4.1: Datos demográficos.

Los datos categóricos se presentan como valor (porcentaje) y los continuos como la media \pm desviación estándar.

4.2. Sujetos sanos

Para la base de datos de sujetos sanos se han planteado las siguientes preguntas: ¿El índice ALPS es reproducible entre sesiones?; ¿Hay diferencias significativas entre hemisferios?; ¿Hay diferencias significativas entre el sexo?; y ¿Existe una correlación significativa con la edad?

4.2.1. Reproducibilidad entre sesiones

La Tabla 4.2 y la Figura 4.2 muestran los resultados del análisis descriptivo realizado para el índice ALPS categorizado por hemisferios para cada sesión. Como podemos ver, los datos para el índice ALPS en el hemisferio derecho se aproximan más a una distribución normal que para el hemisferio izquierdo. Igualmente, en ambos casos podemos considerar que los datos siguen una distribución normal ($p > 0.05$) para llevar a cabo el análisis estadístico y evaluar la reproducibilidad entre sesiones.

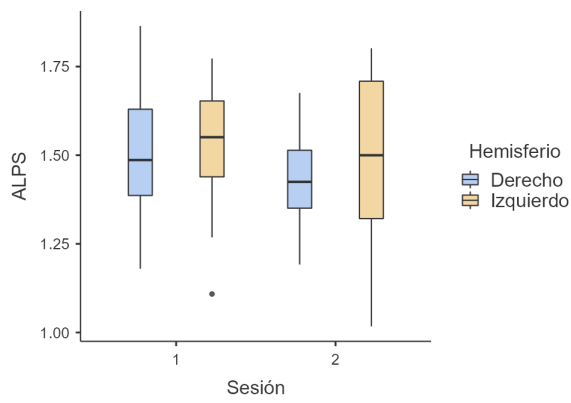
Los resultados obtenidos al realizar la prueba t de Student para muestras independientes (Tabla 4.3) señalan que **no hay una diferencia significativa entre el índice ALPS obtenido en la sesión 1 y 2 para los sujetos sanos en ninguno de los dos hemisferios ($p > 0.05$ en ambos casos)**. Con este resultado, podemos considerar que los datos son reproducibles entre las sesiones y, por tanto, vamos a usar los índices obtenidos en ambas para realizar los siguientes análisis.

Descriptivas			
	Sesión	ALPS Izquierdo	ALPS Derecho
N	1	16	16
	2	16	16
Media	1	1.53	1.52
	2	1.50	1.43
Desviación estándar	1	0.178	0.188
	2	0.227	0.138
Mínimo	1	1.11	1.18
	2	1.02	1.19
Máximo	1	1.77	1.86
	2	1.80	1.68
W de Shapiro-Wilk	1	0.945	0.975
	2	0.943	0.977
Valor p de Shapiro-Wilk	1	0.418	0.915
	2	0.381	0.930

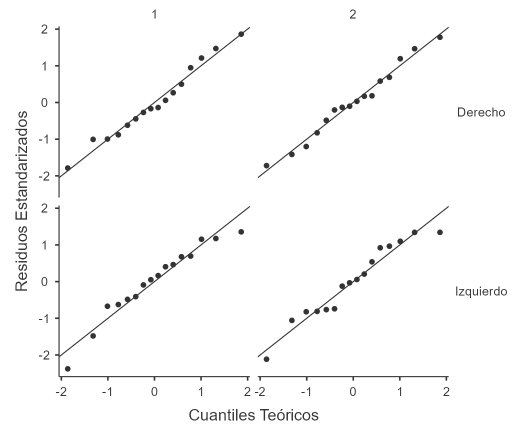
Tabla 4.2: Análisis descriptivo del índice ALPS agrupado por sesiones y por hemisferio cerebral en sujetos sanos.

Prueba T para Muestras Independientes				
		Estadístico	gl	p
ALPS Izquierdo	T de Student	0.478	30.0	0.636
ALPS Derecho	T de Student	1.465	30.0	0.153

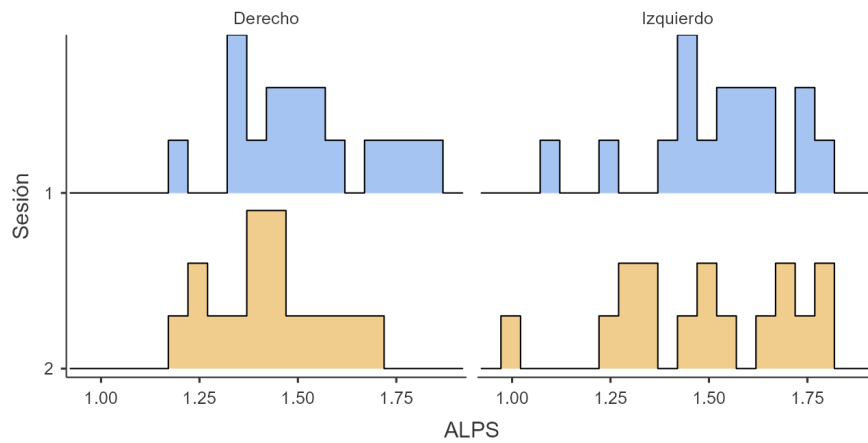
Tabla 4.3: Diferencias en el índice ALPS entre sesiones para el hemisferio izquierdo y derecho en sujetos sanos.



(a) Valores del Índice ALPS



(b) Normalidad del Índice ALPS



(c) Histograma del Índice ALPS

Figura 4.2: Resultados del análisis descriptivo para el índice ALPS en ambos hemisferios para cada sesión en sujetos sanos.

4.2.2. Diferencias entre hemisferios

El índice ALPS obtenido para el hemisferio izquierdo es de 1.51 ± 0.20 y para el hemisferio derecho de 1.47 ± 0.17 . Al realizar la prueba t de Student para muestra apareadas, hemos visto que **no hay diferencias significativas entre hemisferios para sujetos sanos** ($p = 0.15$). Por tanto, podemos considerar un valor medio de 1.49 ± 0.18 para el índice ALPS en sujetos sanos.

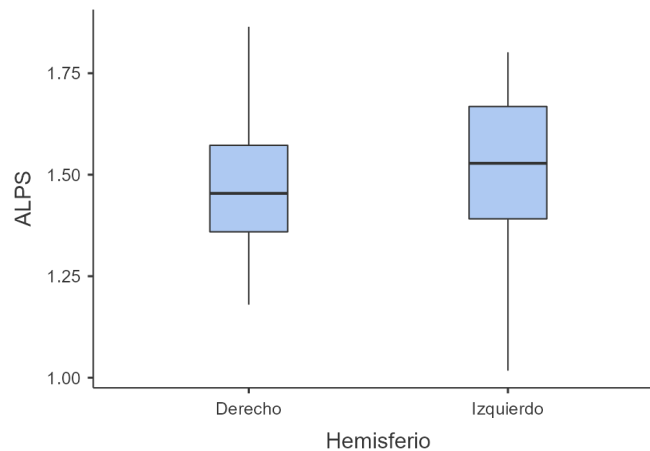


Figura 4.3: Diferencias en el índice ALPS entre el hemisferio izquierdo y derecho en sujetos sanos.

Prueba T para Muestras Apareadas			estadístico	gl	p
ALPS Izquierdo	ALPS Derecho	T de Student	1.48	31.0	0.150

Tabla 4.4: Diferencias en el índice ALPS entre el hemisferio izquierdo y derecho en sujetos sanos.

4.2.3. Diferencias entre el sexo

Para analizar si hay diferencias entre el sexo femenino y masculino, se han utilizado los datos obtenidos para ambas sesiones y para ambos hemisferios como muestras independientes, dado que se ha comprobado que no existen diferencias significativas en ninguno de los dos casos. De esta manera, podemos ampliar la muestra de estudio.

El índice ALPS obtenido para el sexo femenino es de 1.45 ± 0.13 mientras que para los hombres es de 1.53 ± 0.21 . La prueba de Levene para la homogeneidad muestra que las varianzas entre ambas categorías no son iguales ($p < 0.05$), por lo que se ha llevado a cabo una prueba t de Welch para estudiar si existen diferencias significativas entre sexos. El resultado de esta prueba ha sido de $p = 0.09$, por lo que **no hay diferencias significativas en el índice ALPS entre mujeres y hombres.**

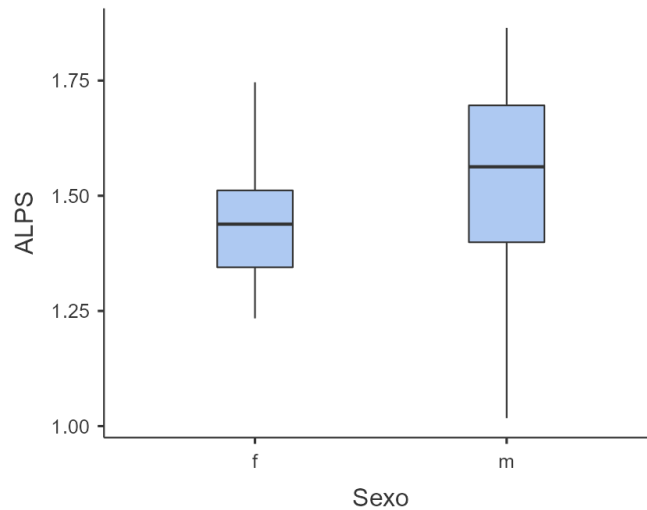


Figura 4.4: Diferencias en el índice ALPS entre mujeres y hombres en sujetos sanos.

f: femenino; m: masculino.

Prueba T para Muestras Independientes				
		Estadístico	gl	p
ALPS	T de Welch	1.70	58.8	0.094

Tabla 4.5: Diferencias en el índice ALPS entre mujeres y hombres en sujetos sanos.

4.2.4. Correlación con la edad

Mediante una regresión simple, hemos comprobado que **existe una correlación negativa significativa entre el índice ALPS y la edad ($p < 0.001$, $r^2 = 0.384$) para los sujetos sanos.**

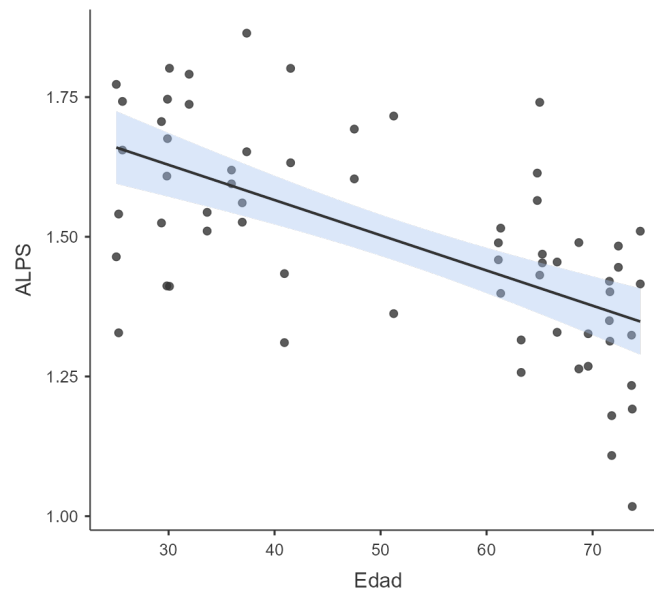


Figura 4.5: Gráfico de dispersión del índice ALPS y la edad de sujetos sanos.

Coefficientes del Modelo - ALPS

Predictor	Estimador	EE	t	p
Constante	1.81776	0.05532	32.86	< .001
Edad	-0.00630	0.00101	-6.21	< .001

Tabla 4.6: Análisis de regresión lineal entre el índice ALPS y la edad de sujetos sanos.

4.2.5. Regresión lineal múltiple

Tras comprobar que existe una correlación del índice ALPS con la edad, se ha comprobado mediante un modelo de regresión lineal múltiple ajustado para la edad, que siguen sin existir diferencias significativas entre sesiones ($p = 0.29$) ni entre hemisferios ($p = 0.26$) ni entre sexo femenino y masculino ($p = 0.92$), con una $r^2 = 0.41$.

Coeficientes del Modelo - ALPS				
Predictor	Estimador	EE	t	p
Constante *	1.80762	0.07156	25.2617	< .001
Edad	-0.00617	0.00108	-5.7245	< .001
Sesión:				
2 - 1	-0.03959	0.03694	-1.0715	0.288
Hemisferio:				
Izquierdo - Derecho	0.04199	0.03677	1.1418	0.258
Sexo:				
m - f	0.00377	0.03904	0.0965	0.923

* Representa el nivel de referencia

Tabla 4.7: Análisis de regresión lineal múltiple para la edad, la sesión, el hemisferio y el sexo en sujetos sanos.

m: masculino; f: femenino.

4.2.6. Correlación con la FA

Por último, hemos comprobado si existe una correlación del índice ALPS con la FA. Sabiendo que existe una correlación significativa entre el índice ALPS y la edad, lo primero que hemos comprobado es si ésta también existe entre la FA y la edad, mediante un modelo de regresión lineal simple. Los resultados obtenidos se pueden observar en la Figura 4.6 y la Tabla 4.8, que muestra una correlación significativa entre la FA y la edad con un valor de $p = 0.01$ y una $r^2=0.10$.

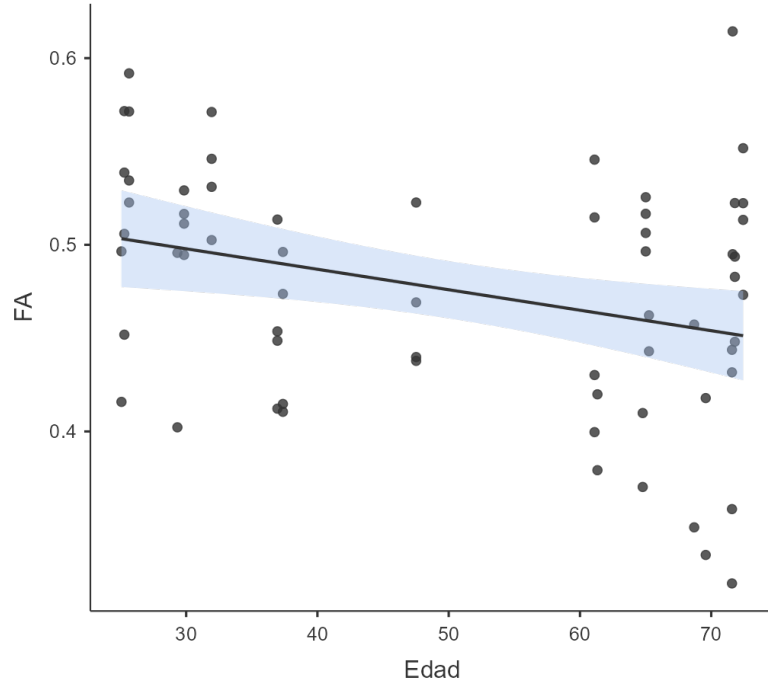


Figura 4.6: Gráfico de dispersión de la FA y la edad de sujetos sanos.

Coeficientes del Modelo - FA

Predictor	Estimador	EE	t	p
Constante	0.53076	0.0222	23.93	< .001
Edad	-0.00110	4.14e-4	-2.65	0.010

Tabla 4.8: Análisis de regresión lineal para la edad y la FA.

Teniendo en cuenta este resultado, hemos utilizado un modelo de regresión lineal corregido para la edad, para ver si existe una dependencia entre el índice ALPS y la FA. Este modelo muestra un valor de $p = 0.48$ con una $r^2 = 0.38$, por lo que **no existe una correlación significativa entre el índice ALPS y la FA**. Este resultado apoya la idea de que las diferencias obtenidas para el índice ALPS están asociadas al sistema glinfático, y no a otros factores como la FA o el volumen parcial.

Coeficientes del Modelo - ALPS

Predictor	Estimador	EE	t	p
Constante	1.68301	0.17151	9.813	< .001
Edad	-0.00583	0.00106	-5.522	< .001
FA	0.21767	0.30695	0.709	0.481

Tabla 4.9: Análisis de regresión lineal para la FA y el índice ALPS, corregido para la edad.

4.3. Pacientes con glioma

Para los pacientes con gliomas hemos analizado si existe una correlación con la edad, igual que en los sujetos sanos, y si existen diferencias significativas para el índice ALPS entre el hemisferio ipsilateral del tumor y el hemisferio contralateral; entre tumores benignos y malignos; y entre el sexo femenino y masculino. Todos los análisis se han hecho para el hemisferio ipsilateral y el hemisferio contralateral, sin diferenciar entre izquierdo y derecho, teniendo en cuenta que para sujetos sanos no existen diferencias significativas entre hemisferios.

Como los resultados obtenidos en los sujetos sanos muestran una correlación significativa entre el índice y la edad, hemos realizado modelos de regresión lineal ajustados para la edad para responder a las preguntas planteadas.

4.3.1. Correlación con la edad

A diferencia de los sujetos sanos, en los pacientes con gliomas el índice ALPS no tiene una correlación significativa con la edad para ninguno de los dos hemisferios (ipsilateral: $p = 0.13$, $r^2 = 0.06$; contralateral: $p = 0.35$, $r^2 = 0.02$).

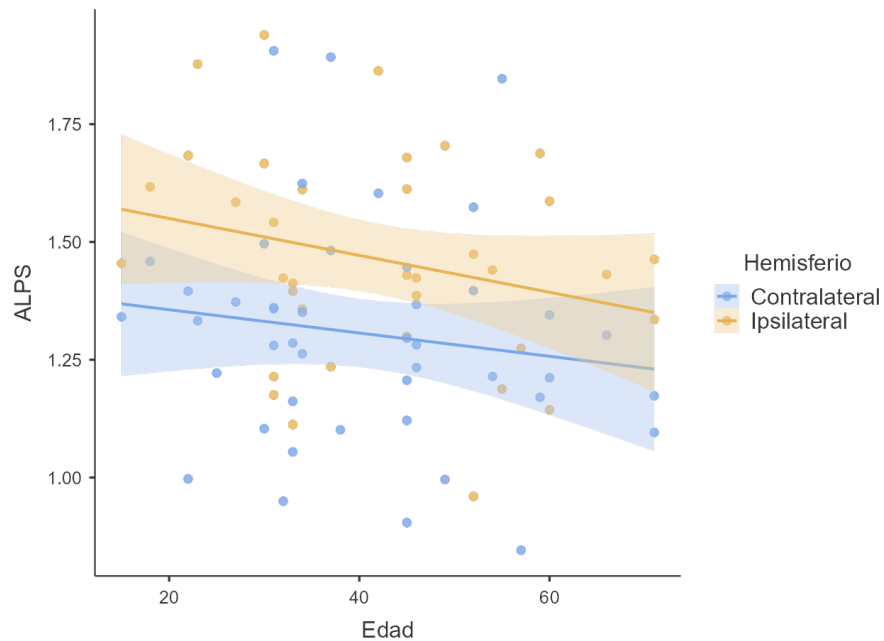


Figura 4.7: Análisis de regresión lineal entre el índice ALPS y la edad en pacientes con glioma, separado por hemisferios.

(a) Hemisferio ipsilateral					(b) Hemisferio contralateral				
Coeficientes del Modelo - Ipsilateral					Coeficientes del Modelo - Contralateral				
Predictor	Estimador	EE	t	p	Predictor	Estimador	EE	t	p
Constante	1.62808	0.11326	14.37	< .001	Constante	1.40568	0.11166	12.589	< .001
Edad	-0.00391	0.00255	-1.54	0.134	Edad	-0.00247	0.00260	-0.952	0.347

Tabla 4.10: Análisis de regresión lineal entre el índice ALPS y la edad en los dos hemisferios en pacientes con glioma.

Aún así, se han utilizado modelos corregidos para la edad para el resto de preguntas planteadas, teniendo en cuenta que en sujetos sanos sí existe una correlación significativa.

4.3.2. Diferencias entre el hemisferio ipsilateral y contralateral

La Tabla 4.11 muestra los resultados obtenidos del análisis descriptivo para el índice ALPS en el hemisferio ipsilateral y contralateral. El valor del índice ALPS obtenido para el hemisferio ipsilateral del glioma ha sido de 1.46 ± 0.24 , frente a un valor de 1.31 ± 0.22 para el hemisferio contralateral.

Descriptivas		
	Hemisferio	ALPS
N	Contralateral	44
	Ipsilateral	36
Perdidos	Contralateral	0
	Ipsilateral	8
Media	Contralateral	1.31
	Ipsilateral	1.46
Mediana	Contralateral	1.29
	Ipsilateral	1.44
Desviación estándar	Contralateral	0.237
	Ipsilateral	0.225
Mínimo	Contralateral	0.846
	Ipsilateral	0.960
Máximo	Contralateral	1.91
	Ipsilateral	1.94

Tabla 4.11: Análisis descriptivo del índice ALPS agrupado por hemisferio cerebral en pacientes con glioma.

Para saber si existen diferencias significativas entre el hemisferio afectado y el que no está afectado por el tumor, se ha realizado una regresión lineal corregida para la edad. El resultado obtenido muestra que **existen diferencias significativas entre hemisferios para pacientes con glioma ($p < 0.05$, $r^2 = 0.14$)**. Dada esta diferencia significativa, el resto del estudio estadístico se ha realizado por separado para cada hemisferio.

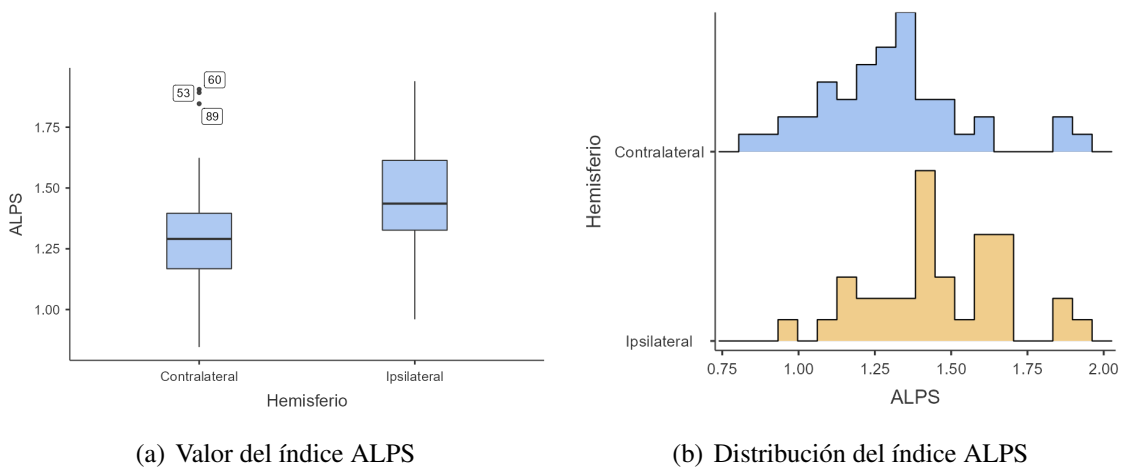


Figura 4.8: Diferencias en el índice ALPS entre hemisferios en pacientes con glioma.

Coefficientes del Modelo - ALPS

Predictor	Estimador	EE	t	p
Constante ^a	1.43343	0.08164	17.56	< .001
Edad	-0.00315	0.00182	-1.74	0.087
Hemisferio:				
Ipsilateral – Contralateral	0.16267	0.05145	3.16	0.002

^a Representa el nivel de referencia

Tabla 4.12: Coeficientes del modelo ajustado para la edad y hemisferios en pacientes con glioma.

Esta diferencia bilateral se puede observar también en la Figura 4.7, que muestra dos rectas bien diferenciadas, sobre todo en la parte central donde el número de muestras es mayor y el error estándar obtenido es menor.

4.3.3. Diferencias entre el sexo

Para analizar si hay diferencias entre el sexo femenino y masculino, se ha realizado una regresión lineal simple corregida para la edad en cada hemisferio.

Los resultados obtenidos muestran **que no hay diferencias significativas en el índice ALPS entre el sexo femenino y el masculino en ninguno de los dos hemisferios.**

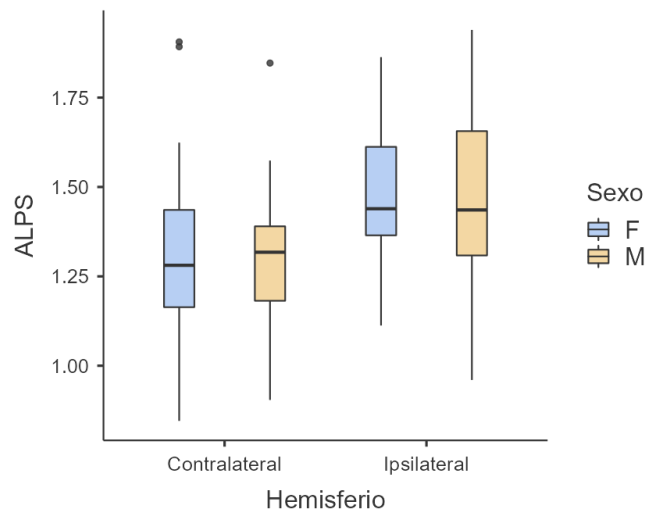


Figura 4.9: Diferencias en el índice ALPS entre sexo para cada hemisferio en pacientes con glioma.

F: femenino; M:masculino.

(a) Hemisferio ipsilateral

Coeficientes del Modelo - Ipsilateral				
Predictor	Estimador	EE	t	p
Constante *	1.62312	0.11517	14.093	< .001
Edad	-0.00420	0.00266	-1.580	0.124
Sexo:				
M - F	0.03393	0.07666	0.443	0.661

* Representa el nivel de referencia

(b) Hemisferio contralateral

Coeficientes del Modelo - Contralateral				
Predictor	Estimador	EE	t	p
Constante *	1.40899	0.11384	12.377	< .001
Edad	-0.00234	0.00269	-0.872	0.388
Sexo:				
M - F	-0.01714	0.07402	-0.232	0.818

* Representa el nivel de referencia

Tabla 4.13: Análisis de regresión lineal ajustado para la edad entre el índice ALPS y el sexo en los dos hemisferios en pacientes con glioma.

F: femenino; M:masculino.

4.3.4. Diferencias entre el grado del glioma

Los resultados de la regresión lineal ajustada para la edad en el hemisferio ipsilateral muestra una diferencia significativa entre gliomas benignos y malignos ($p < 0.05$, $r^2 = 0.27$), mientras que para el lado contralateral esta diferencia no es significativa ($p = 0.40$, $r^2 = 0.04$).

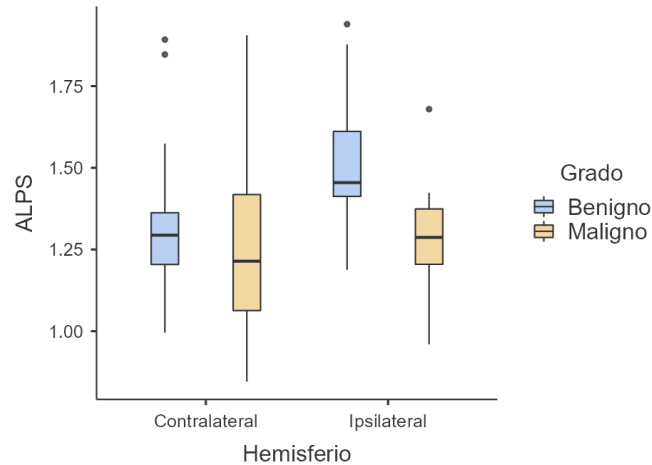


Figura 4.10: Diferencias en el índice ALPS entre el grado para cada hemisferio en pacientes con glioma.

(a) Hemisferio ipsilateral					(b) Hemisferio contralateral				
Coeficientes del Modelo - Ipsilateral					Coeficientes del Modelo - Contralateral				
Predictor	Estimador	EE	t	p	Predictor	Estimador	EE	t	p
Constante *	1.68278	0.11900	14.14	< .001	Constante *	1.45094	0.14937	9.713	< .001
Edad	-0.00408	0.00255	-1.60	0.122	Edad	-0.00296	0.00325	-0.910	0.369
Malignidad:					Malignidad:				
Maligno - Benigno	-0.21924	0.07857	-2.79	0.010	Maligno - Benigno	-0.07624	0.08961	-0.851	0.401

* Representa el nivel de referencia

Tabla 4.14: Análisis de regresión lineal ajustado para la edad entre el índice ALPS y el grado del glioma en los dos hemisferios en pacientes con glioma.

4.3.5. Diferencias entre hemisferio, sexo y grado

También se ha realizado un modelo de regresión lineal múltiple corregido para la edad para el hemisferio afectado, el sexo de los participantes y el grado de los gliomas. Los resultados de este modelo muestran que la localización del glioma es el factor más correlado al índice ALPS ($p = 0.01$), seguido del grado ($p = 0.03$), mientras que sigue sin existir correlación para el sexo ($p = 0.61$), con un $r^2 = 0.12$.

Predictor	Estimador	EE	t	p
Constante *	1.49460	0.10029	14.902	< .001
Edad	-0.00390	0.00221	-1.765	0.083
Hemisferio:				
Ipsilateral – Contralateral	0.14132	0.05654	2.499	0.015
Grado:				
Maligno – Benigno	-0.13349	0.06159	-2.167	0.034
Sexo:				
M – F	0.03037	0.05938	0.511	0.611

* Representa el nivel de referencia

Tabla 4.15: Análisis de regresión lineal múltiple para la edad, el hemisferio, el grado del glioma y el sexo en pacientes con glioma.

m: masculino; f: femenino.

4.3.6. Correlación con la FA

Para los pacientes con glioma, **tampoco existe una correlación entre el índice ALPS y la FA en ninguno de los dos hemisferios.**

(a) Hemisferio ipsilateral					(b) Hemisferio contralateral				
Coeficientes del Modelo - ALPS ipsilateral					Coeficientes del Modelo - ALPS contralateral				
Predictor	Estimador	EE	t	p	Predictor	Estimador	EE	t	p
Constante	1.34458	0.32904	4.086	< .001	Constante	1.50874	0.28379	5.316	< .001
Edad	-0.00495	0.00259	-1.912	0.065	Edad	-0.00187	0.00286	-0.654	0.517
FA ipsilateral	0.58244	0.59124	0.985	0.332	FA contralateral	-0.21970	0.52087	-0.422	0.675

Tabla 4.16: Análisis de regresión lineal ajustado para la edad entre el índice ALPS y la FA en los dos hemisferios en pacientes con glioma.

4.3.7. Correlación con el volumen del tumor

Los resultados obtenidos para una regresión lineal corregida para la edad y teniendo como factor la malignidad del tumor muestran que no existe una correlación entre el volumen del glioma y el índice ALPS en el hemisferio ipsilateral. Sin embargo, esta correlación sí existe en el hemisferio contralateral. Sería necesario un estudio más exhaustivo para poder obtener conclusiones de estos resultados.

(a) Hemisferio ipsilateral					(b) Hemisferio contralateral				
Coeficientes del Modelo - Ipsilateral					Coeficientes del Modelo - Contralateral				
Predictor	Estimador	EE	t	p	Predictor	Estimador	EE	t	p
Constante *	1.71343	0.13672	12.532	< .001	Constante *	1.60306	0.15441	10.382	< .001
Edad	-0.00408	0.00268	-1.521	0.142	Edad	-0.00382	0.00309	-1.235	0.226
Volumen (mm3)	-3.32e-7	7.08e-7	-0.468	0.644	Volumen (mm3)	-1.54e-6	6.04e-7	-2.553	0.016
Malignidad:					Malignidad:				
Maligno - Benigno	-0.20914	0.09172	-2.280	0.032	Maligno - Benigno	0.04270	0.09631	0.443	0.661

* Representa el nivel de referencia

Tabla 4.17: Análisis de regresión lineal ajustado para la edad entre el índice ALPS y la FA en los dos hemisferios en pacientes con glioma.

4.4. Diferencias entre sujetos sanos y pacientes con glioma

Por último, aunque no hemos evaluado si existen diferencias estadísticas entre los sujetos sanos y los pacientes con glioma, vemos que el índice ALPS medio bilateral obtenido para los sujetos sanos es 1.49 ± 0.18 , mientras que en los pacientes con glioma tiene un valor de 1.46 ± 0.24 en el hemisferio ipsilateral y de 1.31 ± 0.22 en el contralateral.

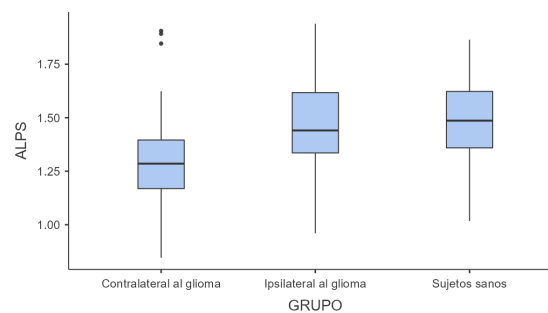


Figura 4.11: Diferencias en el índice ALPS entre el sujetos sanos y pacientes con glioma.

4.5. Variabilidad del índice ALPS

Por último, hemos evaluado cómo varía el valor del índice ALPS en función del posicionamiento de las ROIs en distintos cortes axiales. Para ello, hemos posicionado las ROIs a diferentes alturas para un mismo sujeto y hemos calculado los índices ALPS correspondientes a cada altura. Este proceso lo hemos repetido para 5 sujetos sanos. Con los resultados obtenidos, hemos calculado el coeficiente de variación de cada sujeto, que es el cociente entre la desviación estándar y la media. Los resultados obtenidos se pueden ver en la Tabla 4.18.

	S1	S2	S4	S5	S6	Total sujetos sanos
ALPS medio	1.27	1.60	1.33	1.49	1.66	1.49
Desviación estándar	0.05	0.10	0.12	0.11	0.16	0.18
Coefficiente de variación	4.3 %	6.5 %	8.8 %	7.1 %	9.4 %	12.1 %

Tabla 4.18: Coeficiente de variación obtenido para diferentes sujetos sanos y para el conjunto de todos los sujetos sanos. S: sujeto.

Como podemos observar, aunque existe una variabilidad de los resultados obtenidos para cada sujeto, el coeficiente de variación no es muy elevado. Además, si lo comparamos con el coeficiente de variación obtenido para el índice ALPS medio de todos los sujetos sanos, podemos ver que nos encontramos en un rango parecido, siendo este último valor incluso un poco más elevado.

Capítulo 5

Conclusiones

5.1. Discusión y conclusión

Con este proyecto, se ha querido evaluar la utilidad del método del índice ALPS para analizar la actividad del sistema glinfático en sujetos sanos y en pacientes con glioma.

Para los sujetos sanos, hemos obtenido un valor del índice ALPS en el hemisferio izquierdo de 1.51 ± 0.20 , que se encuentra muy próximo al resultado medio obtenido para este hemisferio por las publicaciones revisadas en el estado del arte, que es de 1.52 ± 0.18 . Así mismo, vemos que la varianza obtenida de 0.20, la cuál indica una variabilidad de nuestros datos, también se encuentra dentro del rango obtenido por las publicaciones revisadas.

Por otro lado, en el hemisferio derecho hemos obtenido un valor inferior, de 1.47 ± 0.17 . Pocos estudios publicados presentan el valor del índice ALPS en el hemisferio derecho, mientras que la mayoría de los estudios revisados abogan que todos sus participantes son diestros y que, por tanto, los tractos de asociación son más gruesos en el hemisferio dominante. Si nos fijamos en los resultados recogidos en el Anexo A, podemos ver que en el estudio [36] y [12] también obtienen un índice ALPS ligeramente inferior en el hemisferio derecho, mientras que en [25] el resultado es mayor. Sin embargo, desconocemos el porcentaje de participantes diestros de nuestro estudio.

Estadísticamente, hemos obtenido que no existe una diferencia significativa entre los hemisferios cerebrales para el índice ALPS, en consonancia con el resultado obtenido en los estudios recién mencionados. Sin embargo, se necesitan más estudios para verificar las

propiedades funcionales del sistema glinfático de una manera bilateral. Además, considerar la estimación de valor en ambos hemisferios en caso de patologías no localizada permitiría también tener dos medidas, proporcionando una estimación más robusta del indicador.

Hasta donde llega nuestro entendimiento, este es el primer estudio que demuestra que no existen diferencias significativas entre sesiones para el índice ALPS en sujetos sanos. Esta observación refuerza el uso de esta técnica para el estudio del sistema glinfático, permitiendo la reproducibilidad en el tiempo de los resultados obtenidos. Igualmente, se necesitan más estudios longitudinales y muestras más grandes que refuercen esta idea.

En cuanto a los datos demográficos de los participantes, no hemos encontrado diferencias significativas entre mujeres y hombres ni en sujetos sanos ni en pacientes con glioma. Sin embargo, pensamos que sería interesante conocer cómo afectan los diferentes ciclos hormonales, más presentes en mujeres, a la actividad del sistema glinfático, y conocer si hay diferencias entre mujeres premenopáusicas y menopáusicas, en mujeres embarazadas, entre diferentes etapas del ciclo menstrual... Son muchos los factores que desconocemos y que se podrían tener en cuenta a la hora de estudiar el sistema glinfático y las diferencias significativas entre el sexo. Por eso, es difícil comparar los resultados obtenidos a este respecto entre estudios, cuando todos estos factores de desconocen para las mujeres participantes. Así, la influencia del sexo en la función glinfática sigue siendo objeto de investigación. Además, se sabe que los varones suelen tener un mayor diámetro de las arterias y una mayor dilatación del espacio perivascular en comparación con las mujeres. Por otro lado, las mujeres suelen tener una mayor velocidad de la sangre en las arterias carótidas comunes. La combinación de estos factores podría anular el efecto de cada uno de ellos y producir un drenaje glinfático comparable entre el sexo [43].

Por otro lado, para la edad sí que parece haber una consonancia en que existe una correlación negativa significativa, que indica un sistema glinfático deteriorado con la edad. Parece que la función glinfática disminuye drásticamente durante el envejecimiento debido a varios factores. Estudios en animales envejecidos muestran que la reducción de los canales de acuaporina-4 en los extremos de las células astrocitarias, la disminución de la producción de LCR y de la presión del LCR y la disminución de la pulsatilidad arterial

podrían conducir a una función glinfática comprometida [43].

Para los pacientes con glioma, vemos que existen diferencias significativas entre el hemisferio ipsilateral y el hemisferio contralateral, lo que podría secundar la idea propuesta por Zhang *et al*[36] acerca de un sistema glinfático separado en los hemisferios cerebrales izquierdo y derecho. Esta diferencia significativa también se ha obtenido en pacientes con meningiomas. En nuestro estudio, hemos encontrado que el hemisferio ipsilateral tiene una mayor actividad del sistema glinfático que el hemisferio contralateral.

Estudios anteriores propusieron una correlación inversa entre el índice ALPS y el volumen del edema cerebral peritumoral en los meningiomas y en los gliomas [12][13]. Así, se propuso que el crecimiento del tumor altera el equilibrio entre la entrada de LCR periarterial y la salida de líquido intersticial perivenoso y da lugar a la acumulación de líquido intersticial, es decir, al edema cerebral peritumoral. Una mayor función glinfática puede facilitar la eliminación del líquido intersticial y reducir o incluso prevenir el edema. Por el contrario, una función glinfática insuficiente para la eliminación del líquido intersticial puede contribuir a la formación del edema. En nuestro caso, lamentablemente desconocemos por el momento la presencia de ECP en nuestros participantes, pero siguiendo la línea de investigación propuesta por Toh *et al.*, podríamos considerar que en el hemisferio ipsilateral encontramos una función glinfática aumentada, resultado de un desequilibrio de líquido intersticial y una mayor necesidad de drenaje y depuración. Para apoyar esta idea, sería muy interesante poder comparar los resultados obtenidos con una base de datos de sujetos sanos obtenidos en el hospital, para ver si realmente el sistema glinfático está alterado en el hemisferio ipsilateral, presentando una mayor actividad de la habitual, o si por el contrario, es el hemisferio contralateral el que presenta una actividad reducida, por algún factor desconocido por el momento.

Por último, es muy interesante el resultado obtenido en cuanto a la relación entre el índice ALPS y el grado del tumor. Por un lado, encontramos que en el hemisferio ipsilateral hay diferencias significativas entre los gliomas benignos y malignos, mientras que estas diferencias no son significativas para el lado contralateral. Esto podría indicarnos que la actividad del sistema glinfático en el lado no lesionado no se ve afectada. Por otro lado,

si nos fijamos en el hemisferio ipsilateral, encontramos que el tumor benigno es el que tiene un mayor índice, que a priori podría parecer lo contrario a lo que cabría esperar. Sin embargo, si seguimos con la idea planteada en el párrafo anterior, podríamos volver a suponer que con estos tumores, menos agresivos, el sistema glinfático todavía puede aumentar su actividad para compensar el desequilibrio causado, mientras que en tumores más agresivos podría darse que el sistema glinfático ya no pueda abarcar la actividad que se necesitaría para restablecer el flujo del líquido intersticial.

5.2. Limitaciones

Además de las limitaciones a nivel general, descritas en la Sección 2.2, para el desarrollo de este proyecto nos hemos encontrado con las siguientes limitaciones:

- La novedad de la técnica y su falta de asentamiento en la práctica, ha sido la principal dificultad que hemos encontrado a la hora de seguir una metodología y de comparar los resultados obtenidos.
- Al no haber tenido disponible una base de datos de sujetos sanos con imágenes adquiridas en el Hospital Carlos Van Buren, con el mismo protocolo que las imágenes de los pacientes con gliomas, no hemos podido realizar una comparación estadística de los resultados, pues esta técnica todavía parece estar muy influenciada por los parámetros de adquisición de las imágenes.
- La muestra empleada para este trabajo exploratorio no es muy grande, por lo que faltaría abordar una muestra mucho mayor para obtener resultados más representativos.
- El tiempo ha sido un factor limitante en este proyecto.
- No todos los pacientes contaban con una histopatología confirmada, por lo que el grado de algunos gliomas se desconoce. Además, la proporción de tumores benignos frente a malignos es de 24 frente a 12, por lo que tenemos el doble de gliomas benignos que de gliomas malignos.

- Debido al desuso de las infraestructuras de la Universidad de Valparaíso en los últimos años, por diversos factores, nos hemos encontrado desactualizaciones informáticas en los equipos previstos para la realización del proyecto, que en algunas ocasiones han supuesto un retraso en la metodología.

5.3. Líneas futuras

En esta sección, presentamos posibles líneas futuras de trabajo que podemos introducir gracias a este proyecto.

Mirando a largo plazo sería interesante:

- Estudiar cómo afectan al índice ALPS otros factores de los gliomas, como la presencia del edema cerebral peritumoral o la mutación de algún factor relevante.
- Estudiar la implicación del volumen de los gliomas en el índice ALPS.
- Comparar estadísticamente los resultados obtenidos para el grupo patológico y un grupo control, con imágenes obtenidas en el mismo resonador del Hospital y siguiendo el mismo protocolo, ajustado para la edad y el sexo de los participantes.
- Incluir también datos longitudinales de los pacientes con glioma, para poder estudiar los cambios temporales del índice ALPS y relacionarlo con factores como el volumen del tumor o del edema cerebral peritumoral tras el tratamiento.

Como conclusión, el uso de imágenes por tensor de difusión puede aportar grandes beneficios para ayudar a comprender el sistema glinfático y su implicación en un gran abanico de patologías. En concreto, la novedosa y prometedora técnica del índice ALPS nos ha permitido diferenciar entre el hemisferio ipsilateral y contralateral en pacientes con glioma, así como entre sus grados. Para sujetos sanos, hemos podido comprobar que este índice no presenta diferencias significativas ni entre sesiones separadas por una media de tres años ni entre hemisferios. Así, hemos validado la hipótesis de este proyecto, confirmando la robustez del índice ALPS como biomarcador, que presenta: una buena reproducibilidad; la

posibilidad de usarlo con imágenes DTI a 1.5 T; y una sensibilidad suficiente para distinguir efectos patológicos en caso de presencia de gliomas de bajo y alto grado.

Sin embargo, todavía falta responder a muchas preguntas acerca de cómo utilizar esta técnica y si es posible su aplicación real en la práctica clínica. Por ello, se necesitan más estudios de imágenes para mejorar la visualización del espacio perivascular que permitan ayudar a validar la utilidad del índice ALPS y ayudar a definir si puede llegar a convertirse en un biomarcador de la dinámica de los neurofluidos en el sistema glinfático.

Apéndice A

Estado del arte: Resultados presentados del hemisferio derecho

Autor	Patología estudiada	Pacientes (izq)	Pacientes (dcho)	Sanos (izq)	Sanos (dcho)
Steward <i>et al.</i> [25]	AD	1.45 ± 0.16	1.49 ± 0.14	1.45 ± 0.16	1.58 ± 0.23
	MCI	1.43 ± 0.16	1.50 ± 0.23		

Tabla A.1: Índice ALPS obtenido en ambos hemisferios en [25].

Izq: izquierdo; Dcho: derecho; AD: *Alzheimer's Disease*; MCI: *Mild Cognitive Impairment*.

Autor	Patología estudiada	Pacientes (ipsi)	Pacientes (contra)	Sanos (ipsi)	Sanos (contra)
Zhang <i>et al.</i> [36]	HICe	1.11 ± 0.23	1.64 ± 0.41	1.67 ± 0.19	1.63 ± 0.19

Tabla A.2: Índice ALPS obtenido en ambos hemisferios en [36].

Ipsi: ipsilateral; Contra: contralateral; HICe: hemorragia intracerebral espontánea. En todos los casos, el hemisferio ipsilateral corresponde al hemisferio izquierdo, y el contralateral al derecho.

mALPS	
PD	1.452 ± 0.158
ET	1.483 ± 0.161

Tabla A.3: Índice ALPS medio obtenido en ambos hemisferios en [29].

mALPS: valor medio del índice ALPS obtenido para ambos hemisferios.

Index	Right-side meningioma		Normal subject (<i>n</i> = 44)
	PTBE- (<i>n</i> = 13)	PTBE+ (<i>n</i> = 31)	
Right ALPS	1.502 ± 0.089	1.260 ± 0.112	1.215 ± 0.093
Left ALPS	1.353 ± 0.213	1.263 ± 0.173	1.273 ± 0.105
Index	Left-side meningioma		Normal subject (<i>n</i> = 44)
	PTBE- (<i>n</i> = 11)	PTBE+ (<i>n</i> = 25)	
Right ALPS	1.272 ± 0.167	1.198 ± 0.204	1.215 ± 0.093
Left ALPS	1.513 ± 0.198	1.304 ± 0.178	1.273 ± 0.105

Tabla A.4: Índice ALPS obtenido en ambos hemisferios en [12].

Apéndice B

Posicionamiento de las ROIs

Este anexo es una carpeta con archivos de tipo .jpg, incluida en la versión digital del trabajo, donde se encuentran capturas de imagen con el posicionamiento de las ROIs de cada participante.

Apéndice C

DSI Studio: paso a paso

Este anexo es un archivo de tipo .MOV, incluido en la versión digital del trabajo.

Bibliografía

- [1] María Toriello, Vicente González-Quintanilla y Julio Pascual. “El sistema glinfático y su implicación en las enfermedades del sistema nervioso”. En: *Medicina Clínica* 156.7 (2021), págs. 339-343. ISSN: 00257753. DOI: 10.1016/j.medcli.2020.08.020. URL: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-clinica-2-articulo-el-sistema-glinfatico-su-implicacion-S0025775320308551>.
- [2] Alex Jaimes. “Sistema glinfático y cefalea”. En: *Kranion XVI* (2021), págs. 11-16.
- [3] Jeffrey J. Iliff et al. “A Paravascular Pathway Facilitates CSF Flow Through the Brain Parenchyma and the Clearance of Interstitial Solutes, Including Amyloid ”. En: *Science Translational Medicine* 4.147 (2012), 147ra111-147ra111. DOI: doi : 10.1126/scitranslmed.3003748. URL: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/scitranslmed.3003748>.
- [4] N. A. Jessen et al. “The Glymphatic System: A Beginner’s Guide”. En: *Neurochem Res* 40.12 (2015). 1573-6903 Jessen, Nadia Aalling Orcid: 0000-0001-6995-1590 Munk, Anne Sofie Finmann Lundgaard, Iben Nedergaard, Maiken Journal Article Research Support, N.I.H., Extramural Review 2015/05/08 Neurochem Res. 2015 Dec;40(12):2583-99. doi: 10.1007/s11064-015-1581-6. Epub 2015 May 7., págs. 2583-99. ISSN: 0364-3190 (Print) 0364-3190. DOI: 10.1007/s11064-015-1581-6.
- [5] G. Yang et al. “Evaluation of Glymphatic System Using Diffusion MR Technique in T2DM Cases”. En: *Front Hum Neurosci* 14 (2020). 1662-5161 Yang, Guangwei Deng, Nan Liu, Yi Gu, Yingjiang Yao, Xiang Journal Article 2020/09/15 Front Hum Neurosci. 2020 Aug 13;14:300. doi: 10.3389/fnhum.2020.00300. eCollection 2020., pág. 300. ISSN: 1662-5161 (Print) 1662-5161. DOI: 10.3389/fnhum.2020.00300.

- [6] Marshall L. Rennels et al. “Evidence for a ‘Paravascular’ fluid circulation in the mammalian central nervous system, provided by the rapid distribution of tracer protein throughout the brain from the subarachnoid space”. En: *Brain Research* 326.1 (1985), págs. 47-63. ISSN: 0006-8993. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)91383-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)91383-6). URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0006899385913836>.
- [7] Luis Enrique Contreras. “EPIDEMIOLOGÍA DE TUMORES CEREBRALES”. En: *Revista Médica Clínica Las Condes* 28.3 (2017), págs. 332-338. ISSN: 07168640. DOI: 10.1016/j.rmclc.2017.05.001. URL: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-articulo-epidemiologia-de-tumores-cerebrales-S0716864017300585>.
- [8] Mayo Clinic. *Glioma*. 2022. URL: <http://https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/glioma/symptoms-causes/syc-20350251>.
- [9] Gamma Knife. *Glioma vs glioblastoma: cómo aprender a diferenciarlos*. 2022. URL: <https://blog.gammaknifedelpacifico.com/glioma-vs-glioblastoma-como-aprender-a-diferenciarlos>.
- [10] Xueting Hu et al. “Meningeal lymphatic vessels regulate brain tumor drainage and immunity”. En: *Cell Research* 30.3 (2020), págs. 229-243. ISSN: 1748-7838. DOI: 10.1038/s41422-020-0287-8. URL: <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0287-8>.
- [11] Rafael García de Sola. *¿Qué es un Glioma?* 2011. URL: <https://neurorgs.net/informacion-al-paciente/patologia-craneoencefalica/que-es-un-glioma/>.
- [12] Cheng Hong Toh, Tiing Yee Siow y Mauricio Castillo. “Peritumoral Brain Edema in Meningiomas May Be Related to Glymphatic Dysfunction”. En: *Frontiers in Neuroscience* 15 (2021). ISSN: 1662-453X. DOI: 10.3389/fnins.2021.674898. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2021.674898>.
- [13] C. H. Toh y T. Y. Siow. “Factors Associated With Dysfunction of Glymphatic System in Patients With Glioma”. En: *Front Oncol* 11 (2021). 2234-943x Toh, Cheng Hong Siow, Tiing Yee Journal Article 2021/10/12 Front Oncol. 2021 Sep 23;11:744318.

- doi: 10.3389/fonc.2021.744318. eCollection 2021., pág. 744318. ISSN: 2234-943X (Print) 2234-943x. DOI: 10.3389/fonc.2021.744318.
- [14] Q. Ma et al. “Lymphatic outflow of cerebrospinal fluid is reduced in glioma”. En: *Sci Rep* 9.1 (2019). 2045-2322 Ma, Qiaoli Orcid: 0000-0002-9932-8668 Schlegel, Felix Bachmann, Samia B Schneider, Hannah Decker, Yann Rudin, Markus Weller, Michael Proulx, Steven T Orcid: 0000-0003-2154-8502 Detmar, Michael Orcid: 0000-0002-5351-5054 Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov’t 2019/10/17 Sci Rep. 2019 Oct 15;9(1):14815. doi: 10.1038/s41598-019-51373-9., pág. 14815. ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-019-51373-9.
- [15] D. Xu et al. “Impediment of Cerebrospinal Fluid Drainage Through Glymphatic System in Glioma”. En: *Front Oncol* 11 (2021). 2234-943x Xu, Dan Zhou, Jie Mei, Hao Li, Huan Sun, Wenbo Xu, Haibo Journal Article 2022/01/28 Front Oncol. 2022 Jan 10;11:790821. doi: 10.3389/fonc.2021.790821. eCollection 2021., pág. 790821. ISSN: 2234-943X (Print) 2234-943x. DOI: 10.3389/fonc.2021.790821.
- [16] T. Taoka y S. Naganawa. “Glymphatic imaging using MRI”. En: *J Magn Reson Imaging* 51.1 (2020). Taoka, Toshiaki Naganawa, Shinji 2019/8/20, págs. 11-24. ISSN: 1522-2586. DOI: 10.1002/jmri.26892. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31423710>.
- [17] S. Naganawa y T. Taoka. “The Glymphatic System: A Review of the Challenges in Visualizing its Structure and Function with MR Imaging”. En: *Magn Reson Med Sci* 21.1 (2022). 1880-2206 Naganawa, Shinji Taoka, Toshiaki Journal Article Review 2020/12/01 Magn Reson Med Sci. 2022 Mar 1;21(1):182-194. doi: 10.2463/mrms.rev.2020-0122. Epub 2020 Nov 27., págs. 182-194. ISSN: 1347-3182 (Print) 1347-3182. DOI: 10.2463/mrms.rev.2020-0122.
- [18] L. Xie et al. “Sleep drives metabolite clearance from the adult brain”. En: *Science* 342.6156 (2013). 1095-9203 Xie, Lulu Kang, Hongyi Xu, Qiwu Chen, Michael J Liao, Yonghong Thiyagarajan, Meenakshisundaram O’Donnell, John Christensen, Daniel J Nicholson, Charles Iliff, Jeffrey J Takano, Takahiro Deane, Rashid Nedergaard, Maiken Journal Article Research Support, N.I.H., Extramural 2013/10/19

- Science. 2013 Oct 18;342(6156):373-7. doi: 10.1126/science.1241224., págs. 373-7. ISSN: 0036-8075 (Print) 0036-8075. DOI: 10.1126/science.1241224.
- [19] J. J. Iliff et al. “Brain-wide pathway for waste clearance captured by contrast-enhanced MRI”. En: *J Clin Invest* 123.3 (2013). Iliff, Jeffrey J Lee, Hedok Yu, Mei Feng, Tian Logan, Jean Nedergaard, Maiken Benveniste, Helene 2013/2/26, págs. 1299-309. ISSN: 1558-8238. DOI: 10.1172/JCI67677. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23434588>.
- [20] T. Taoka et al. “Impact of the Glymphatic System on the Kinetic and Distribution of Gadodiamide in the Rat Brain: Observations by Dynamic MRI and Effect of Circadian Rhythm on Tissue Gadolinium Concentrations”. En: *Invest Radiol* 53.9 (2018). Taoka, Toshiaki Jost, Gregor Frenzel, Thomas Naganawa, Shinji Pietsch, Hubertus 2018/4/14, págs. 529-534. ISSN: 1536-0210. DOI: 10.1097/RLI.0000000000000473. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29652699>.
- [21] T. Kanda et al. “High signal intensity in the dentate nucleus and globus pallidus on unenhanced T1-weighted MR images: relationship with increasing cumulative dose of a gadolinium-based contrast material”. En: *Radiology* 270.3 (2014). Kanda, Tomonori Ishii, Kazunari Kawaguchi, Hiroki Kitajima, Kazuhiro Takenaka, Daisuke 2014/1/31, págs. 834-41. ISSN: 1527-1315. DOI: 10.1148/radiol.13131669. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24475844>.
- [22] K. Kudo et al. “Indirect Proton MR Imaging and Kinetic Analysis of”. En: *Magn Reson Med Sci* 17.3 (2018). Kudo, Kohsuke Harada, Taisuke Kameda, Hiroyuki Uwano, Ikuko Yamashita, Fumio Higuchi, Satomi Yoshioka, Kunihiro Sasaki, Makoto 2017/11/17, págs. 223-230. ISSN: 1880-2206. DOI: 10.2463/mrms.mp.2017-0094. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29142152>.
- [23] Y. Ohene et al. “Non-invasive MRI of brain clearance pathways using multiple echo time arterial spin labelling: an aquaporin-4 study”. En: *Neuroimage* 188 (2019). Ohene, Yolanda Harrison, Ian F Nahavandi, Payam Ismail, Ozama Bird, Eleanor V Ottersen, Ole P Nagelhus, Erlend A Thomas, David L Lythgoe, Mark F Wells, Jack A 2018/12/18, págs. 515-523. ISSN: 1095-9572. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2018.12.026. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30557661>.

- [24] T. Taoka et al. “Evaluation of glymphatic system activity with the diffusion MR technique: diffusion tensor image analysis along the perivascular space (DTI-ALPS) in Alzheimer’s disease cases”. En: *Jpn J Radiol* 35.4 (2017). Taoka, Toshiaki Masutani, Yoshitaka Kawai, Hisashi Nakane, Toshiki Matsuoka, Kiwamu Yasuno, Fumihiko Kishimoto, Toshifumi Naganawa, Shinji 2017/2/16, págs. 172-178. ISSN: 1867-108X. DOI: 10.1007/s11604-017-0617-z. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28197821>.
- [25] C. E. Steward et al. “Assessment of the DTI-ALPS Parameter Along the Perivascular Space in Older Adults at Risk of Dementia”. En: *J Neuroimaging* 31.3 (2021). 1552-6569 Steward, Christopher E Orcid: 0000-0001-8949-4139 Venkatraman, Vijay K Lui, Elaine Malpas, Charles B Ellis, Kathryn A Cyarto, Elizabeth V Vivas, Lucy O’Brien, Terence J Velakoulis, Dennis Ames, David Masters, Colin L Lautenschlager, Nicola T Bammer, Roland Desmond, Patricia M Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov’t United States 2021/02/09 J Neuroimaging. 2021 May;31(3):569-578. doi: 10.1111/jon.12837. Epub 2021 Feb 8., págs. 569-578. ISSN: 1051-2284. DOI: 10.1111/jon.12837.
- [26] H. Yokota et al. “Diagnostic Performance of Glymphatic System Evaluation Using Diffusion Tensor Imaging in Idiopathic Normal Pressure Hydrocephalus and Mimickers”. En: *Curr Gerontol Geriatr Res* 2019 (2019). 1687-7071 Yokota, Hajime Vijayarathi, Arvind Orcid: 0000-0001-7362-9246 Cekic, Milos Hirata, Yoko Linetsky, Michael Ho, Michael Kim, Won Salamon, Noriko Journal Article 2019/07/20 Curr Gerontol Geriatr Res. 2019 Jun 20;2019:5675014. doi: 10.1155/2019/5675014. eCollection 2019., págs. 5675014. ISSN: 1687-7063 (Print) 1687-7063. DOI: 10.1155/2019/5675014.
- [27] Y. J. Bae et al. “Altered glymphatic system in idiopathic normal pressure hydrocephalus”. En: *Parkinsonism Relat Disord* 82 (2021). 1873-5126 Bae, Yun Jung Choi, Byung Se Kim, Jong-Min Choi, Ji-Hyun Cho, Se Jin Kim, Jae Hyoung Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov’t England 2020/11/29 Parkinsonism Relat Disord. 2021 Jan;82:56-60. doi: 10.1016/j.parkreldis.2020.11.009. Epub 2020 Nov 20., págs. 56-60. ISSN: 1353-8020. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2020.11.009.

- [28] H. L. Chen et al. “Associations among Cognitive Functions, Plasma DNA, and Diffusion Tensor Image along the Perivascular Space (DTI-ALPS) in Patients with Parkinson’s Disease”. En: *Oxid Med Cell Longev* 2021 (2021). 1942-0994 Chen, Hsiu-Ling Chen, Pei-Chin Lu, Cheng-Hsien Tsai, Nai-Wen Yu, Chiun-Chieh Chou, Kun-Hsien Lai, Yun-Ru Taoka, Toshiaki Orcid: 0000-0001-9227-0240 Lin, Wei-Che Orcid: 0000-0002-1326-0587 Journal Article 2021/03/09 Oxid Med Cell Longev. 2021 Feb 16;2021:4034509. doi: 10.1155/2021/4034509. eCollection 2021., pág. 4034509. ISSN: 1942-0900 (Print) 1942-0994. DOI: 10.1155/2021/4034509.
- [29] C. D. McKnight et al. “Diffusion along perivascular spaces reveals evidence supportive of glymphatic function impairment in Parkinson disease”. En: *Parkinsonism Relat Disord* 89 (2021). 1873-5126 McKnight, Colin D Trujillo, Paula Lopez, Alexander M Petersen, Kalen Considine, Ciaran Lin, Ya-Chen Yan, Yan Kang, Hakmook Donahue, Manus J Claassen, Daniel O R01 AG062574/AG/NIA NIH HHS/United States R01 AT011456/AT/NCCIH NIH HHS/United States R01 NR015079/NR/NINR NIH HHS/United States T32 EB001628/EB/NIBIB NIH HHS/United States Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov’t 2021/07/17 Parkinsonism Relat Disord. 2021 Aug;89:98-104. doi: 10.1016/j.parkreldis.2021.06.004. Epub 2021 Jun 10., págs. 98-104. ISSN: 1353-8020 (Print) 1353-8020. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2021.06.004.
- [30] X. Si et al. “Neuroimaging evidence of glymphatic system dysfunction in possible REM sleep behavior disorder and Parkinson’s disease”. En: *NPJ Parkinsons Dis* 8.1 (2022). 2373-8057 Si, Xiaoli Guo, Tao Wang, Zhiyun Fang, Yi Gu, Luyan Cao, Lanxiao Yang, Wenyi Gao, Ting Song, Zhe Tian, Jun Yin, Xinzhen Guan, Xiaojun Zhou, Cheng Wu, Jingjing Bai, Xueqin Orcid: 0000-0002-9092-7824 Liu, Xiaocao Zhao, Guohua Orcid: 0000-0003-0593-9175 Zhang, Minming Orcid: 0000-0003-0145-7558 Pu, Jiali Orcid: 0000-0002-6719-4060 Zhang, Baorong Orcid: 0000-0002-8099-7407 Journal Article 2022/04/30 NPJ Parkinsons Dis. 2022 Apr 29;8(1):54. doi: 10.1038/s41531-022-00316-9., pág. 54. ISSN: 2373-8057 (Print) 2373-8057. DOI: 10.1038/s41531-022-00316-9.
- [31] H. J. Lee et al. “Glymphatic system dysfunction in patients with juvenile myoclonic epilepsy”. En: *J Neurol* 269.4 (2022). 1432-1459 Lee, Ho-Joon Lee, Dong Ah Shin,

Kyong Jin Park, Kang Min Orcid: 0000-0002-4229-7741 Journal Article Germany 2021/09/13 J Neurol. 2022 Apr;269(4):2133-2139. doi: 10.1007/s00415-021-10799-w. Epub 2021 Sep 12., págs. 2133-2139. ISSN: 0340-5354. DOI: 10.1007/s00415-021-10799-w.

- [32] D. A. Lee et al. “Glymphatic system function in patients with newly diagnosed focal epilepsy”. En: *Brain Behav* 12.3 (2022). 2162-3279 Lee, Dong Ah Park, Bong Soo Orcid: 0000-0001-8999-386x Ko, Junghae Park, Si Hyung Park, Jin-Han Kim, Il Hwan Lee, Yoo Jin Park, Kang Min Orcid: 0000-0002-4229-7741 Journal Article 2022/02/03 Brain Behav. 2022 Mar;12(3):e2504. doi: 10.1002/brb3.2504. Epub 2022 Feb 2., e2504. DOI: 10.1002/brb3.2504.
- [33] D. A. Lee et al. “Glymphatic system dysfunction in temporal lobe epilepsy patients with hippocampal sclerosis”. En: *Epilepsia Open* 7.2 (2022). 2470-9239 Lee, Dong Ah Orcid: 0000-0001-8114-1371 Park, Bong Soo Orcid: 0000-0001-8999-386x Ko, Junghae Park, Si Hyung Lee, Yoo Jin Kim, Il Hwan Park, Jin Han Park, Kang Min Orcid: 0000-0002-4229-7741 Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov’t 2022/03/20 Epilepsia Open. 2022 Jun;7(2):306-314. doi: 10.1002/epi4.12594. Epub 2022 Mar 27., págs. 306-314. ISSN: 2470-9239. DOI: 10.1002/epi4.12594.
- [34] J. Kim et al. “Glymphatic system dysfunction in patients with cluster headache”. En: *Brain Behav* 12.6 (2022). 2162-3279 Kim, Jinseung Lee, Dong Ah Lee, Ho-Joon Park, Bong Soo Orcid: 0000-0001-8999-386x Ko, Junghae Park, Si Hyung Lee, Yoo Jin Kim, Il Hwan Park, Jin Han Park, Kang Min Orcid: 0000-0002-4229-7741 Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov’t 2022/05/19 Brain Behav. 2022 Jun;12(6):e2631. doi: 10.1002/brb3.2631. Epub 2022 May 17., e2631. DOI: 10.1002/brb3.2631.
- [35] D. A. Lee, H. J. Lee y K. M. Park. “Normal glymphatic system function in patients with migraine: A pilot study”. En: *Headache* 62.6 (2022). 1526-4610 Lee, Dong Ah Lee, Ho-Joon Park, Kang Min Orcid: 0000-0002-4229-7741 Journal Article United States 2022/05/14 Headache. 2022 Jun;62(6):718-725. doi: 10.1111/head.14320. Epub 2022 May 11., págs. 718-725. ISSN: 0017-8748. DOI: 10.1111/head.14320.

- [36] C. Zhang et al. “Evaluation of the Glymphatic System Using the DTI-ALPS Index in Patients with Spontaneous Intracerebral Haemorrhage”. En: *Oxid Med Cell Longev* 2022 (2022). 1942-0994 Zhang, Chao Orcid: 0000-0002-6895-9117 Sha, Jingyun Cai, Lulu Xia, Yingying Li, Danyang Zhao, Houliang Meng, Chong Xu, Kai Orcid: 0000-0001-5407-5671 Journal Article 2022/07/19 Oxid Med Cell Longev. 2022 Jul 5;2022:2694316. doi: 10.1155/2022/2694316. eCollection 2022., pág. 2694316. ISSN: 1942-0900 (Print) 1942-0994. DOI: 10.1155/2022/2694316.
- [37] A. Wang et al. “Evaluation of the Glymphatic System With Diffusion Tensor Imaging-Along the Perivascular Space in Cancer Pain”. En: 1662-4548 (Print) ().
- [38] Fang-Cheng (Frank) Yeh. *DSI STUDIO*. Ver. v2022-08-03. URL: <https://dsi-studio.labsolver.org/>.
- [39] Klaus H. Maier-Hein et al. “The challenge of mapping the human connectome based on diffusion tractography”. En: (). ISSN: 1. URL: <https://www.nature.com/articles/s41467-017-01285-x>.
- [40] *The jamovi project*. Ver. jamovi (Version 2.3). 2022. URL: <https://www.jamovi.org>.
- [41] Mario Mascalchi. ”*SCA2 Diffusion Tensor Imaging*”. OpenNeuro, 2018. URL: <https://openneuro.org/datasets/ds001378/versions/00003>.
- [42] M. Mascalchi et al. “Histogram analysis of DTI-derived indices reveals pontoce-rebellar degeneration and its progression in SCA2”. En: *PLoS One* 13.7 (2018). 1932-6203 Mascalchi, Mario Orcid: 0000-0002-5537-2982 Marzi, Chiara Gianneli, Marco Ciulli, Stefano Bianchi, Andrea Ginestroni, Andrea Tessa, Carlo Nicolai, Emanuele Aiello, Marco Salvatore, Elena Soricelli, Andrea Diciotti, Stefano Journal Article United States 2018/07/13 PLoS One. 2018 Jul 12;13(7):e0200258. doi: 10.1371/journal.pone.0200258. eCollection 2018., e0200258. ISSN: 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0200258.

- [43] T. Taoka et al. “Diffusion-weighted image analysis along the perivascular space (DWI-ALPS) for evaluating interstitial fluid status: age dependence in normal subjects”. En: *Jpn J Radiol* 40.9 (2022). 1867-108x Taoka, Toshiaki Orcid: 0000-0001-9227-0240 Ito, Rintaro Nakamichi, Rei Nakane, Toshiki Sakai, Mayuko Ichikawa, Kazushige Kawai, Hisashi Naganawa, Shinji 21k07563/kakenhi/ Journal Article 2022/04/28 Jpn J Radiol. 2022 Sep;40(9):894-902. doi: 10.1007/s11604-022-01275-0. Epub 2022 Apr 27., págs. 894-902. ISSN: 1867-1071 (Print) 1867-1071. DOI: 10.1007/s11604-022-01275-0.