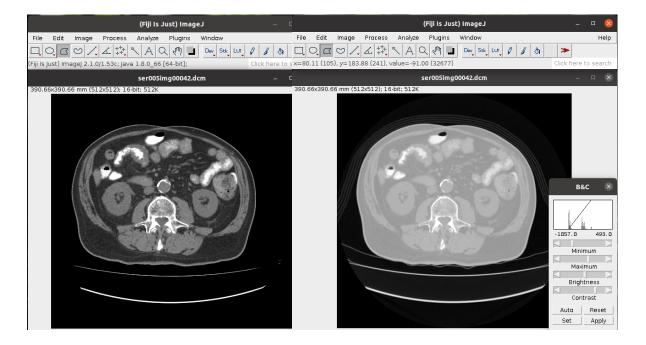
PROTOCOLO PARA MEDIR COMPOSICIÓN CORPORAL DE IMÁGENES DE TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA EN L3 UTILIZANDO EL SOFTWARE LIBRE IMAGEJ DEL NIH

El orden en el que se guardan los resultados será crucial para que el script de R realice los cálculos de forma correcta.

0. Ajustar automáticamente brillo y contraste

 $Image \rightarrow Ajust \rightarrow Brightness \ and \ contrast \rightarrow Auto \ (ventana \ emergente)$



1. Delimitar el contorno del cuerpo

En esta fase se delimita el círculo de fuera, es decir, el contorno del cuerpo. En esta ocasión no se realiza a mano, sino que ponemos un umbral para que se coloree todo el corte y con la herramienta "Wand" pulsamos sobre lo que sería el contorno para que lo rodee de forma automática.

PASO 1:

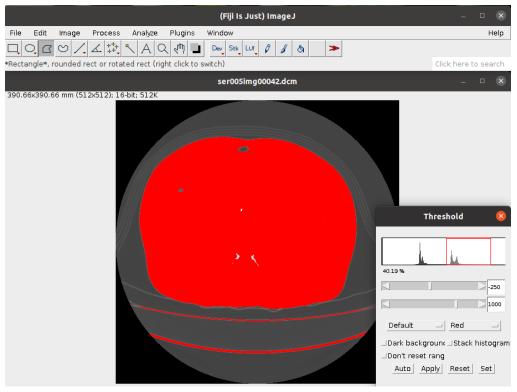
 $Image \rightarrow Adjust \rightarrow Threshold \rightarrow Set$ (ventana emergente)

PASO 2:

(ventana emergente)

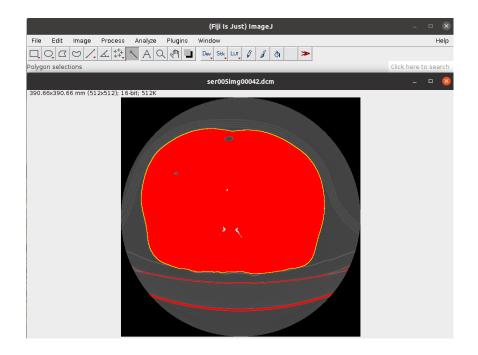
Lower threshold level: -250

Upper threshold level: 1000

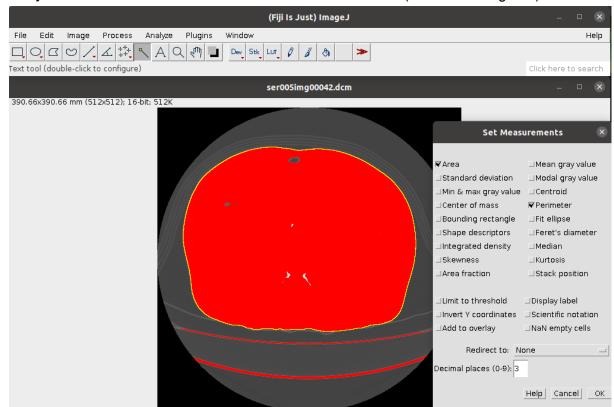


PASO 4:

Seleccionar herramienta "Wand" y pulsar sobre el contorno para que lo rodee automáticamente.



PASO 5:



Analyze → *Set measurements* → *Select Area* and *Perimeter* (ventana emergente)

El área está en mm² y el perímetro en mm. Este área total será importante para normalizar.

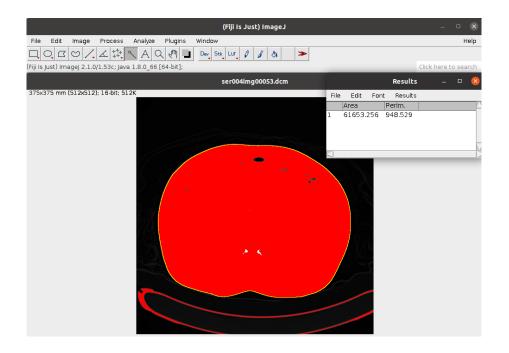
PASO 6:

Aquí procedemos a calcular el área total, es decir, la comprendida por el contorno del cuerpo.

Analyze → Measure

Surgirá una ventana emergente donde aparecerá el resultado. En esa misma, a medida que vayamos haciendo más, se irán situando debajo. No debemos cerrarla, porque sino perderemos los resultados.

A continuación, tendremos que establecer los umbrales correspondientes a músculo y grasa para, posteriormente, realizar los cálculos pertinentes que nos lleven a saber los valores dentro del corte.

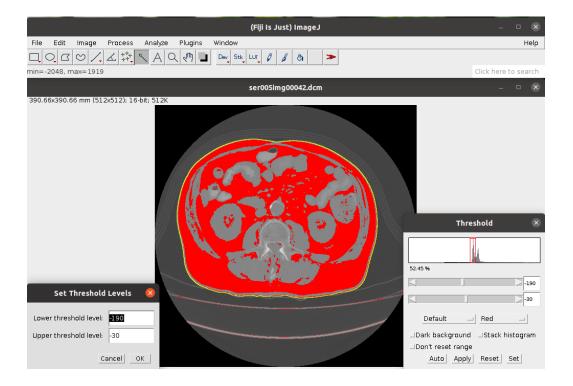


PASO 7:

Mediremos la grasa total introduciendo sus unidades Hounsfield.

Image → *Threshold* → *Set* (ventana emergente)

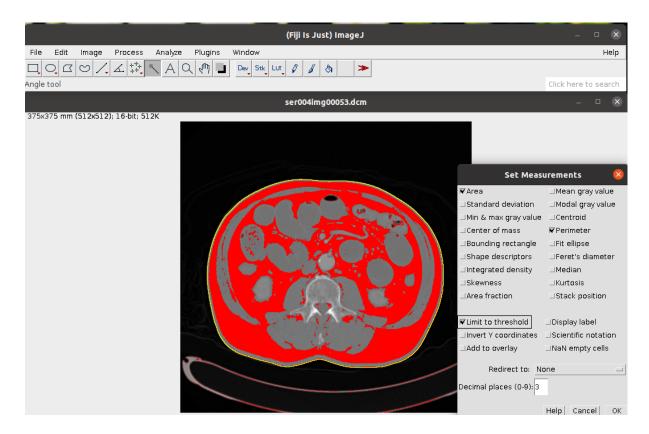
Lower threshold level: -190 Upper threshold level: -30



PASO 8:

A partir de este punto, las áreas que midamos deben ser tomadas según las delimitaciones y las unidades Hounsfield que hayamos especificado (en rojo). Por ello, debemos marcar una opción más en "Set measures"

Analyze → Set measurements → Select Area, Perimeter and Limit to threshold (ventana emergente)



PASO 9:

Medimos la grasa total.

Analyze → Measure

En este punto, se mide: grasa subcutánea, visceral, intramuscular y un error. Este error viene de partes internas de algunos órganos que comparten unidades Hounsfield. Se eliminará más adelante. La medición se añadirá a los resultados.

2. Delimitar la línea de fuera del músculo

PASO 1:

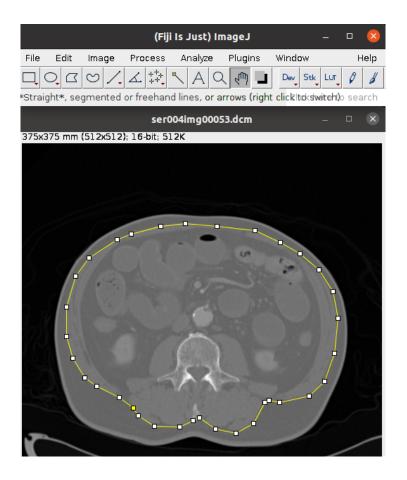
Unidades Hounsfield a -250 y -250. De esta forma no se selecciona nada y volvemos a ver la imagen al desnudo para el siguiente paso.

 $Image \rightarrow Threshold \rightarrow Set$ (ventana emergente)

Lower threshold level: -250 Upper threshold level: -250

PASO 2:

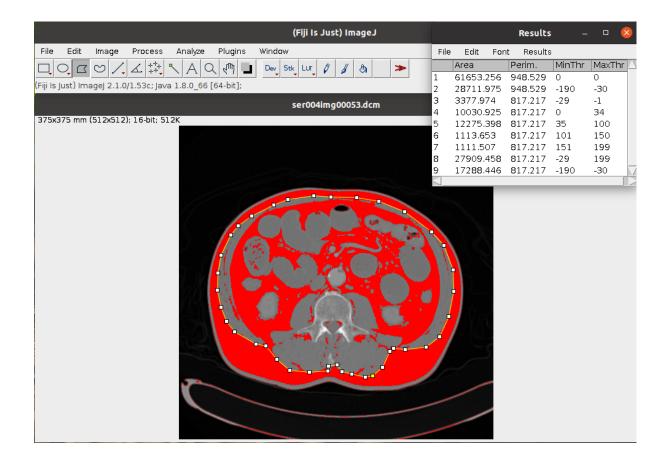
A mano y usando la herramienta "Polygon selections", vamos estableciendo este perímetro clicando y haciendo puntos. De esta manera, podemos conseguir una delimitación más fina y que podemos perfilar moviendo dichos puntos. Es muy importante no incluir tendones u otros elementos que darían lugar a un error en la medición. Además, la línea debe ser lo más ajustada posible para minimizar errores.++++***



PASO 3:

Plugins → Macros → Run

Automático: Se corre la macro *BC_ImageJ_1.imj* en la cual se toman las medidas de las unidades Hounsfield del músculo, entre las que encontramos la que lo comprende en su totalidad y aquellas que diferencian por densidad muscular. También medimos grasa con el fin de obtener aquella que se encuentra infiltrada en el músculo. Recordemos que también incluimos vísceras en este paso. Estas medidas serán automáticamente recogidas y aparecerán en la ventana emergente de "Results" debajo de la que ya habíamos tomado.



3. Delimitar la línea interior del músculo

PASO 1:

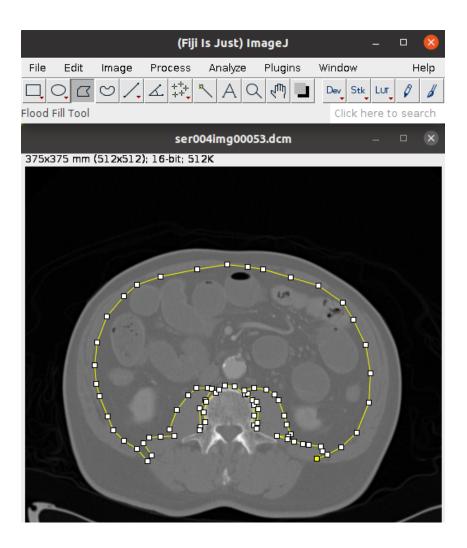
Unidades Hounsfield a -250 y -250. De esta forma no se selecciona nada y volvemos a ver la imagen al desnudo para el siguiente paso.

Image → *Threshold* → *Set* (ventana emergente)

Lower threshold level: -250 Upper threshold level: -250

PASO 2:

A mano y usando la herramienta "Polygon selections", vamos estableciendo este perímetro clicando y haciendo puntos. De esta manera, podemos conseguir una delimitación más fina y que podemos perfilar moviendo dichos puntos. Es muy importante no incluir tendones, ni órganos u otros elementos que darían lugar a un error en la medición.***



PASO 3:

Plugins → Macro → Run

Automático: Se corre la macro *BC_ImageJ_1.imj* en la cual se toman las medidas de las unidades Hounsfield del músculo, entre las que encontramos la que lo comprende en su totalidad y aquellas que diferencian por densidad muscular, y de la grasa. En el caso del músculo, solo obtendremos los errores de las vísceras, ya que los músculos que queremos medir están entre el círculo exterior y este interior. En el caso de la grasa, obtendremos únicamenta la visceral (que es la que comprenderá este círculo) y lor errores en el interior de los órganos. Estas medidas serán automáticamente recogidas y aparecerán en la ventana emergente de "Results" debajo de la que ya habíamos tomado.

4. Delimitar la vértebra

PASO 1:

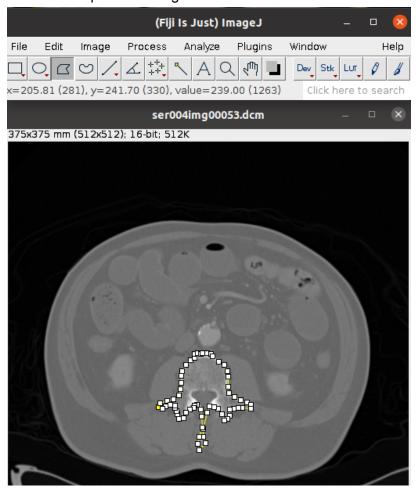
Unidades Hounsfield a -250 y -250. De esta forma no se selecciona nada y volvemos a ver la imagen al desnudo para el siguiente paso.

Image → *Threshold* → *Set* (ventana emergente)

Lower threshold level: -250 Upper threshold level: -250

PASO 2:

A mano y usando la herramienta "Polygon selections", vamos estableciendo este perímetro clicando y haciendo puntos. De esta manera, podemos conseguir una delimitación más fina y que podemos perfilar moviendo dichos puntos. Es muy importante no incluir tendones, ni órganos u otros elementos que darían lugar a un error en la medición.***



PASO 3:

 $Plugins \rightarrow Macro \rightarrow Run$

Automático: Se corre la macro *BC_ImageJ_1.imj* en la cual se toman las medidas de las unidades Hounsfield del músculo, entre las que encontramos la que lo comprende en su totalidad y aquellas que diferencian por densidad muscular del **área de la vértebra**. De esta manera, eliminaremos su error. Estas medidas serán automáticamente recogidas y aparecerán en la ventana emergente de "Results" debajo de las que ya habíamos tomado.

5. Delimitar las pequeñas áreas de error dentro de los órganos con las mismas unidades Hounsfield que la grasa

PASO 1:

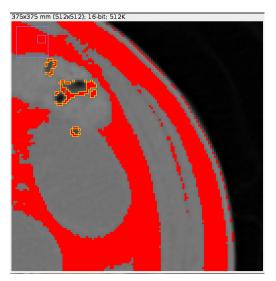
Unidades Hounsfield de la grasa.

Image → *Threshold* → *Set* (ventana emergente)

Lower threshold level: -190 Upper threshold level: -30

PASO 2:

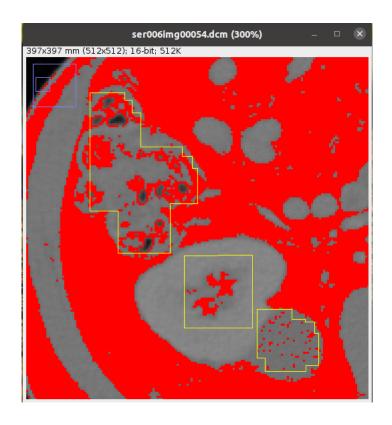
A mano y usando la herramienta "Wand", vamos clicando en estas áreas manteniendo pulsado "Shift" para que se cojan todas enteras. Para coger puntos muy pequeños, será necesario utilizar el zoom (botones + y - del teclado). Habrá algunos que, al estar en contacto con áreas más grandes que nos interesan, no podremos cogerlos de esta manera, por lo que asumimos que habrá pequeños errores.



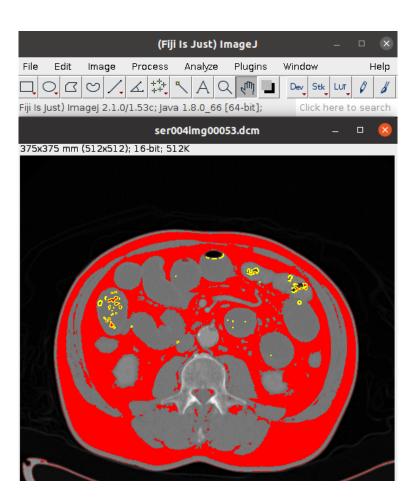


En las imágenes de arriba aparecen ejemplos del procedimiento. Se puede observar estas regiones no marcadas por lo comentado anteriormente.

Además, en las regiones especialmente complejas de seleccionar y que podrían acarrear un error mayor, podemos usar "Polygon selections" como en la imagen de abajo. Antes de hacer estas áreas es necesario pulsar la tecla "Shift" del teclado para que las anteriores no se vayan.



Este es, con diferencia, el paso más laborioso.



PASO 3:

Por último, medir el área que ocupan estas pequeñas zonas.

Analyze → *Measure*

6. Guardar todos los resultados en un archivo de tipo .csv.

Ventana de resultados \rightarrow *Files* \rightarrow *Save as* Es imprescindible que haya el mismo número de resultados (24) y en el mismo orden para que el script de R lo calcule correctamente.

BIBLIOGRAFÍA

https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211629.t001

DOI: 10.1002/jpen.1721