



UNIVERSITÀ DEL SALENTO

FACOLTÀ DI SCIENZE MATEMATICHE, FISICHE E NATURALI
Dipartimento di Fisica

TESI DI LAUREA TRIENNALE

ANALISI STATISTICA DEL RUMORE IN MAPPE DTI DELL'ENCEFALO

RELATORE

Dott. Giorgio De Nunzio

CORRELATRICE

Dott.ssa Marina Donativi

CANDIDATO

Matteo Gabrieli

ANNO ACCADEMICO 2009-2010

Ati miei genitori

INDICE

INTRODUZIONE	1
1.PRINCIPI FISICI DELLA RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE E DELLA DTI (Diffusion Tensor Imaging)	
1.1.....	Introduzione 3
1.2.....	MRI 5
1.2.1.....	Origini e sviluppi 5
1.2.2.....	Principi fisici 6
1.3.....	Sequenza di acquisizione:Sequenza di Stejskal-Tanner 8
1.4	DTI(Diffusion Tensor Imaging) 11
1.4.1	Calcolo del tensore di diffusione 12
1.4.2.....	Diagonalizzazione del tensore di diffusione 14
1.4.3.....	Misure invarianti scalari in DTI 15
1.4.4.....	Mappe del tensore di diffusione: decomposizione p:q 17
1.5.....	Follow up di gliomi cerebrali 19
2. ANALISI STATISTICA DEL RUMORE NELLE IMMAGINI DTI	
2.1	Introduzione 22
2.2	Acquisizione e processing dei dati 23
2.3	Sorgenti di errore in DTI-MRI 24
2.4.....	Presentazione dei pazienti 27
2.5	Apparecchiatura per l'acquisizione delle immagini, e software utilizzati per l'elaborazione 28
2.6 ..	Metodo utilizzato:presentazione e commenti della procedura 31
2.6.1.....	Descrizione dello script 36
3.RISULTATI E COMMENTI	
3.1.....	Risultati della procedura eseguita su un singolo paziente 40
3.2	Risultati della procedura eseguita su tutti i pazienti 48
3.3	Commento dei risultati ottenuti 53
3.4.....	Esempi applicativi 54
CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI 58	
BIBLIOGRAFIA 59	

INTRODUZIONE

L'**imaging di risonanza magnetica** (*Magnetic Resonance Imaging*, MRI) è una tecnica di misura e di generazione d'immagini, usata prevalentemente a scopi medico-diagnostici è basata sul principio della risonanza magnetica nucleare. La MRI fornisce immagini ad elevata risoluzione, utili per **discriminazioni anatomiche e funzionali** e per **l'individuazione di patologie**, in un contesto di sicurezza per il paziente, non sottoposto a radiazioni ionizzanti.

Le **tecniche avanzate di MRI** consentono di eseguire misure su scala microscopica valutando effetti non solo ascrivibili direttamente ai tempi di rilassamento, ma anche legati a meccanismi biochimici e biofisici più complessi delle cellule stesse: ad esempio lo **studio della diffusione per moto browniano delle molecole d'acqua nei tessuti**. La misura della mobilità dell'acqua può essere un valido strumento per descrivere la **struttura dei tessuti** su scala microscopica. L'uso di questa tecnica risale ai primi anni '90, con studi sull'encefalo di soggetti normali che hanno dimostrato la capacità della metodica di rilevare **l'anatomia tridimensionale dei fasci di fibre nervose**. Le immagini di MRI in diffusione (spesso indicata con il termine *Diffusion Weighted Imaging* o DWI) forniscono un'affascinante sintesi di studio tra il movimento microscopico delle molecole di acqua, le proprietà delle fibre mielinizzate, l'anatomia macroscopica del cervello e le variazioni della diffusione d'acqua in condizioni patologiche.

Il più recente sviluppo della **DWI** è rappresentato **dall'imaging in tensore di diffusione** (*Diffusion Tensor Imaging*, o **DTI**), tecnica in grado di rendere evidente non solo l'entità ma anche la direzione della diffusione delle molecole di acqua nei tessuti. Ad esempio, a causa della sua struttura anatomica costituita da un'organizzazione di fasci di fibre nervose paralleli, la **sostanza bianca** del tessuto cerebrale è caratterizzata da una componente di diffusione fortemente anisotropa delle molecole d'acqua al suo interno.

La **DTI** è in grado di **rilevare la presenza di anomalie** che la MRI tradizionale non vede. Come esempio (legato alle finalità di questa Tesi), consideriamo **uno dei tumori cerebrali maligni più diffusi, il glioma**. Esso può portare ad infiltrazione, rottura e dislocazione delle fibre della materia bianca. E' caratterizzato da un comportamento invasivo che contribuisce al fallimento delle terapie attualmente disponibili: queste consistono solitamente in un intervento chirurgico seguito da radioterapia e/o da trattamenti chemioterapici (un insieme di farmaci iniettati allo scopo di danneggiare l'organizzazione del DNA delle cellule tumorali superstiti dopo l'asportazione chirurgica e la radioterapia). Nella **valutazione dell'efficacia della terapia** è fondamentale effettuare *imaging* diagnostico di **follow up**, programmato a scadenze fisse e avente lo scopo di stimare le variazioni, sia nella forma sia nei volumi, delle zone colpite dal

tumore ed interessate al trattamento. Recentemente è stato dimostrato che le **immagini DTI sono un valido ausilio** durante il *follow-up*, perché consentono di stimare l'effetto (successo o fallimento) della chemioterapia non solo in base alle variazioni di volume del tumore, ma anche grazie a considerazioni legate al valore delle mappe calcolate dal Tensore di Diffusione punto per punto nella regione tumorale: l'aumento o la diminuzione delle grandezze scalari osservate sono un indicatore sensibile dell'evoluzione della patologia.

Allo scopo di adoperare vantaggiosamente questa tecnica, occorre **confrontare due immagini, rispettivamente pre- e post-trattamento chemioterapico**, e studiare le variazioni di segnale interpretandole opportunamente. E' però fondamentale **distinguere le fluttuazioni legate all'evoluzione della patologia da quelle legate a movimenti volontari o involontari del paziente, al rumore di acquisizione e a errori di post processing del segnale DTI.**

Per raggiungere tale finalità è opportuno **definire una soglia minima di significatività** delle fluttuazioni, sopra la quale esse saranno prese in considerazione.

Il mio lavoro è stato quello di **stimare questa soglia caratteristica** sia per mappe di isotropia sia per quelle di anisotropia (derivate dal Tensore di Diffusione). Questa soglia, individuata su pazienti controllo (sani), è stata poi applicata a pazienti patologici e le variazioni significative delle grandezze scalari studiate (legata dunque all'evoluzione della patologia) sono state messe in evidenza. Il metodo qui esposto è già adottato nella pratica clinica presso l'Istituto Scientifico e Università Vita-Salute San Raffaele di Milano.

La Tesi si sviluppa in tre parti principali:

Il primo capitolo fornisce una panoramica sui principi fisici alla base della MRI e dell'imaging in tensore di diffusione, DTI, e una breve descrizione del *follow-up* di gliomi cerebrali.

Nel secondo capitolo, dopo un'introduzione sulle principali sorgenti d'errore in immagini DTI-MRI, sono presentati i pazienti, l'apparecchiatura e i software di supporto utilizzati nell'acquisizione e nel processing delle immagini a disposizione. È presentato poi il metodo che ha permesso di eseguire l'analisi statistica del rumore in immagini DTI, e quindi di individuare la soglia di significatività delle variazioni nelle varie mappe di diffusione.

Nel terzo capitolo sono riportati i risultati del metodo, ossia le soglie caratteristiche, e la loro applicazione a due casi di studio di *follow-up* di gliomi cerebrali.

Seguono le Conclusioni e sviluppi futuri, la Bibliografia, e chiudono la tesi i Ringraziamenti.

CAPITOLO 1

Principi fisici della risonanza magnetica e della DTI (*Diffusion Tensor Imaging*)

1.1 Introduzione

Con le moderne apparecchiature di Risonanza Magnetica (RM¹) ad alto campo dotate di elementi hardware opportuni (gradienti a elevata intensità e amplificatori RF a banda larga) sono possibili studi sofisticati e in vivo della struttura anatomo-funzionale del cervello umano. Si possono ottenere informazioni sia “strutturali”, tramite l’uso di sequenze speciali e di tecniche di elaborazione delle immagini in fase di post-processing, sia “ultrastrutturali”, ossia non direttamente dipendenti dalla struttura anatomica dell’encefalo ma generate da peculiari caratteristiche del Sistema Nervoso Centrale (SNC).

Le tecniche avanzate di RM consentono di eseguire misure su scale microscopiche valutando quantitativamente effetti non solo ascrivibili in termini classici alle misure dirette dei tempi di rilassamento, ma anche legate a meccanismi più complessi d’interazione biochimica e biofisica delle cellule stesse. Gli elevati livelli di risoluzione spaziale e temporale ottenibili e l’assenza di radiazioni ionizzanti costituiscono alcuni dei punti di forza delle metodiche funzionali in RM, rispetto ad altri metodi di *imaging* neuro funzionale in uso nella pratica clinica.

La tecnica di RM basata sulla misura del Tensore di Diffusione (*Diffusion Tensor – Magnetic Resonance Imaging*, DT-MRI, o semplicemente *Diffusion Tensor Imaging*, DTI), offre la possibilità di indagare direttamente *in vivo* e a livello microscopico i fenomeni più influenzati dai processi patologici, primo tra tutti la “diffusione”, ossia il moto caotico e disordinato delle molecole di un mezzo biologico dovuto all’agitazione termica.

La DTI consente di individuare il carattere anisotropo dei processi diffusivi dell’acqua nei tessuti biologici con elevato numero di fibre, come i muscoli o la sostanza bianca nel sistema nervoso centrale, tramite il tracciamento di mappe del tensore di diffusione. Poiché la diffusione si manifesta come processo tridimensionale, la mobilità molecolare nei tessuti non è la stessa in ogni direzione: questa proprietà di anisotropia ha la sua origine nella presenza di ostacoli che limitano i moti molecolari in alcune direzioni.

¹ Oltre che con la sigla RM, le tecniche di Risonanza Magnetica sono indicate anche con le diciture inglese MR (*Magnetic Resonance*), oppure MRI (*Magnetic Resonance Imaging*) quando si mette in evidenza che il risultato della misura è un’immagine (come in questa Tesi).

Il tensore di diffusione, dunque, poiché l'acqua tende a diffondere nei tessuti fibrosi (soprattutto nella sostanza bianca) seguendo l'orientazione delle fibre, diventa un indicatore dell'organizzazione funzionale cognitiva, permettendo l'individuazione delle mutue connessioni tra i diversi centri funzionali ed evidenziando, laddove presenti, eventuali alterazioni riconducibili a situazioni patologiche.

L'acqua costituisce il 65-90% in volume dei tessuti biologici e svolge la funzione di mezzo di trasporto dei composti biochimici, divenendo così l'elemento fondamentale di molte reazioni chimiche del corpo umano: da ciò s'intuisce come studi della sua diffusione permettano una valutazione dell'integrità e della funzionalità cellulare, sia in condizioni normali sia patologiche.

Le immagini del tensore di diffusione sono ottenute da acquisizioni DWI (*Diffusion Weighted Imaging*), cioè *dataset* d'immagini di RM "pesate in diffusione" lungo diverse direzioni tramite l'applicazione di una sequenza EPI (*Echo Planar Imaging*), cui viene fatta seguire in successione una serie di gradienti con orientazioni variabili; sulla base di queste immagini, poi, tramite operazioni matematiche, viene effettuata una stima, punto per punto nei tessuti, del tensore di diffusione e di numerosi indici scalari, in grado di fornire informazioni quantitative e clinicamente valide sui meccanismi indagati. È opportuno far notare che il processing e l'analisi dei dati ottenuti da indagini del tensore di diffusione non sono processi immediati: a differenza delle tecniche convenzionali di risonanza magnetica, la DTI richiede una serie più lunga di operazioni in post-processing (stima dei tensori, calcolo di indici scalari) per produrre dei risultati concreti.

Ad esempio, tramite l'utilizzo della DTI in pazienti con gliomi cerebrali, è possibile evidenziare alterazioni della sostanza bianca non visibili nell'imaging morfologico convenzionale. L'analisi statistica delle caratteristiche tissutali dei gliomi cerebrali da immagini DTI può consentire, invece, di differenziare le masse tumorali dalle regioni d'infiltrazione peritumorale, fornendo così utili indicazioni per la pianificazione del trattamento chirurgico e per la valutazione della risposta alla chemioterapia [1].

1.2 MRI

1.2.1 Origini e sviluppi

La RM è una tecnica diagnostica utilizzata principalmente in campo medico per produrre immagini ad alta definizione di sezioni del corpo umano. Essa si basa sui principi di *Risonanza Magnetica Nucleare* (NMR, *Nuclear Magnetic Resonance*), ossia sulla base di segnali provenienti da nuclei caratterizzati da spin non nulli, soggetti a campi magnetici intensi e posti in condizioni di risonanza.

Il fenomeno della risonanza magnetica è stato scoperto nel 1946 separatamente da Felix Bloch ed Edward Purcell, che per questi risultati condivisero nel 1952 il premio Nobel per la Fisica.

Nei primi anni questa scoperta trovò maggiore utilizzo nell'analisi della chimica molecolare e della struttura dei materiali. Solo nel 1971 Raymond Damadian in un articolo apparso su *Science*, dimostrava che la risonanza magnetica nucleare era in grado di distinguere tra cellule normali e cellule cancerose, stimolando così i ricercatori a prendere in considerazione la RM per la rilevazione di patologie umane.

Nel 1973 Paul Lauterbur, quasi per caso, studiando un campo magnetico alterato dall'irregolarità di uno dei magneti e cercando di comprendere lo strano fenomeno generato, intuì l'importanza dei gradienti applicati ai campi magnetici al fine di ottenere delle immagini. A Lauterbur fu attribuita l'idea secondo la quale i gradienti d'ingresso dell'onda magnetica consentono l'individuazione delle onde radio emesse dai nuclei dell'oggetto in esame, e quindi la creazione d'immagini bidimensionali. Peter Mansfield perfezionò ulteriormente la tecnica introducendo variazioni più forti in campi magnetici più elevati e ottenendo, così, immagini molto più dettagliate.

Fu Richard Ernst nel 1975 a proporre l'utilizzo in MRI di un processo di codifica di fase e di codifica in frequenza e l'impiego della trasformata di Fourier, elementi ancora oggi alla base delle moderne tecniche di MRI. Un paio di anni dopo, nel 1977, Raymond Damadian sperimentò tale tecnica sull'intero corpo umano. Nello stesso anno, Peter Mansfield ideò la tecnica di *imaging* eco-planare (EPI) che, negli anni successivi, fu ulteriormente sviluppata per produrre immagini a frequenza video (30 ms/immagine).

Attraverso tecniche di rilevamento ultrarapido dei dati, il 1992 segnò l'inizio dello sviluppo della MRI funzionale (fMRI), una tecnica che permette di costruire una mappa delle funzioni delle varie regioni del cervello umano.

1.2.2 Principi fisici

La Risonanza Magnetica Nucleare è un fenomeno che può avvenire quando nuclei di alcuni atomi, caratterizzati da spin nucleare non nullo, sono immersi in un campo magnetico statico $\vec{B}_0$ e sono esposti a un campo magnetico oscillante; essi sono in grado di emettere energia in forma rilevabile e contenenti informazioni sia sull'abbondanza della specie nucleare in questione che sulla struttura delle molecole in cui i nuclei sono contenuti.

A ogni nucleo è possibile associare una quantità misurabile detta *spin*, che descrive alcune proprietà di movimento del nucleo intorno ad un asse. Il fenomeno della risonanza magnetica si basa sulla proprietà dei nuclei di possedere un momento angolare intrinseco, $\vec{I}$ detto spin nucleare, la cui componente è quantizzata come un multiplo intero o semintero di $\frac{h}{2\pi}$.

Questa caratteristica è presente in numerosi nuclei; tra questi riveste particolare importanza per l'*imaging* diagnostico l'idrogeno ^1H . Questo elemento si trova nella maggiore parte dei composti organici e nelle molecole d'acqua che costituiscono il 70% dei tessuti del nostro organismo.

Il nucleo d'idrogeno avendo spin semintero ($\frac{1}{2} \frac{h}{2\pi}$) e carica elettrica positiva, ha un momento magnetico $\vec{\mu} \neq 0$, secondo l'equazione: $\vec{J}$ momento angolare dovuto alla rotazione

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{J} = \gamma \frac{h}{2\pi} \sqrt{I(I+1)} \quad \text{con} \quad \begin{matrix} \hbar = \text{costante di Planck} & 6.626 \cdot 10^{-34} \text{ J.s} \\ \gamma = \text{fattore giromagnetico} & 42.58 \text{ MHz/T} \end{matrix} \quad (1.1)$$

Quando un nucleo con spin diverso da zero è immerso in un campo magnetico statico $\vec{B}_0$, esso è sottoposto a un momento torcente pari a $\vec{\mu} \times \vec{B}_0$ che tende ad allinearlo lungo la direzione del campo esterno. L'intensità del campo magnetico esterno e l'energia termica determinano se il nucleo si allineerà nel verso parallelo (condizione di minima energia) o antiparallelo (condizione di massima energia) al campo. L'equazione che descrive il moto del nucleo è:

$$\frac{d\vec{L}}{dt} = \vec{\mu} \times \vec{B}_0 \quad (1.2)$$

con $\vec{L}$ momento angolare totale del nucleo.

Moltiplicando ambo i membri della (1.2) per γ si ottiene: $\frac{d\vec{\mu}}{dt} = \gamma \vec{\mu} \times \vec{B}_0$, la cui soluzione fornisce il moto di precessione $\vec{\mu}$ intorno a $\vec{B}_0$. Questo moto che si svolge a una frequenza che è caratteristica del nucleo e del campo applicato, prende il nome di *frequenza di Larmor* (radsec^{-1}):

$$\vec{\omega} = \gamma \vec{B}_0 \quad (1.3)$$

da cui:

$$\frac{d\vec{\mu}}{dt} = \vec{\mu} \times \vec{\omega} \quad (1.4)$$

Per la magnetizzazione risultante $\vec{M}$ data dalla somma vettoriale di tutti i momenti magnetici $\vec{\mu}$, si può scrivere un'equazione simile:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \vec{M} \times \vec{B}_0 \quad (1.5)$$

Essendo i nuclei allineati parallelamente in numero maggiore di quelli allineati in direzione antiparallela, la magnetizzazione netta $\vec{M}$ è orientata nel verso di $\vec{B}_0$.

All'equilibrio $\vec{M}$ ha un valore massimo corrispondente a $\vec{M}_0$. La componente di $\vec{M}$ lungo z,

(parallela al campo magnetico $\vec{B}_0$) è denominata Magnetizzazione Longitudinale (M_z).

Non esiste alcuna componente di $\vec{M}$ sul piano trasversale a causa dello sfasamento del moto di precessione dei nuclei intorno a $\vec{B}_0$.

Applicando un secondo campo magnetico $\vec{B}_1$, ortogonale a $\vec{B}_0$ ed oscillante alla frequenza di Larmor (detto anche *impulso RF*), tutti i momenti magnetici che prima precedevano fuori fase, risulteranno in coerenza di fase.

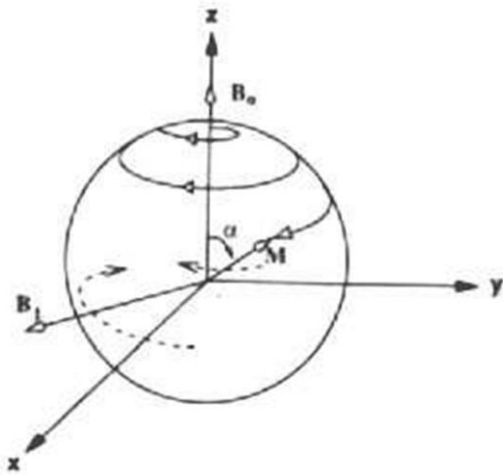


Figura 1.1 :Generazione della magnetizzazione

Questa coerenza di fase fa sì che $\vec{M}$ inizi a precedere attorno all'asse z, sempre con la frequenza di Larmor. Di conseguenza $\vec{M}$ avrà una componente nel piano xy, detta Magnetizzazione Trasversale M_{xy} . (figura 1.1)

Durante l'invio di un impulso di radiofrequenza (RF), il valore della Magnetizzazione Longitudinale diminuisce, mentre quello della Magnetizzazione Trasversale aumenta; l'entità di questo scambio è proporzionale alla durata dell'impulso RF [2].

Una volta cessata l'eccitazione, il vettore di magnetizzazione $\vec{M}$ tende a riportarsi nella posizione di equilibrio inducendo, in una bobina ricevente posta nel piano xy, un segnale alla frequenza di Larmor detto segnale di decadimento libero FID (*free induction decay*) che permette la formazione delle immagini di RMN.

Il decadimento avviene secondo due costanti di tempo caratteristiche: T_1 e T_2 .

T_1 è detto rilassamento spin-reticolo: questo fenomeno è legato al fatto che le interazioni tra spin e mezzo circostante tendono a far ritornare la componente longitudinale M_z allo stato di

equilibrio. Si osserva quando i nuclei, a causa dell'interruzione del segnale RF, ritornano allo stato fondamentale cedendo energia all'ambiente esterno.

T_2 è detto rilassamento spin-spin: le interazioni tra gli spin, agendo sulla velocità dei protoni, tendono a sfasare il moto di precessione con conseguente decrescita della componente trasversale M_{xy} . Le eventuali disomogeneità di campo magnetico comportano un maggiore defasamento con un'ulteriore riduzione del tempo di rilassamento trasversale.

È importante notare che vale sempre la relazione: $T_2 < T_1$ e che i valori del tempo di rilassamento dipendono dallo stato di aggregazione della materia (dipendono dalla mobilità delle molecole, dal peso molecolare e dalle temperature).

La misura di T_1 e T_2 permette di avere informazioni sui tessuti, differenziando tessuti a densità simile; ad esempio i tempi di rilassamento hanno un valore maggiore nell'acqua piuttosto che nel grasso (ciò è molto importante se si pensa al fatto che i tessuti patologici hanno un contenuto in acqua più elevato dei circostanti tessuti sani e quindi sono più facilmente individuabili) [3].

1.3 SEQUENZA DI ACQUISIZIONE: Sequenza di Stejskal-Tanner

Il segnale ottenuto con un singolo *FID* è molto basso e presenta un basso rapporto segnale/rumore.

Per ovviare a questo problema si utilizzano nella pratica clinica più sequenze d'impulsi, ossia più impulsi in successione rapida. Esistono numerosi tipi di sequenze, ognuna in grado di fornire informazioni differenti riguardo al tipo di applicazione richiesta [3].

Il segnale FID è ottenuto più volte ripetendo con un certo intervallo di tempo l'impulso di eccitazione. L'intervallo di ripetizione T_R è una variabile molto importante nel processo di formazione dell'immagine, tempi molto brevi non permettono a tutti i nuclei, eccitati dall'impulso di radiofrequenza, di tornare

all'equilibrio; d'altra parte maggiore è T_R minore risulta essere il contrasto tra i tessuti e maggiore è la durata dell'esame.

La sequenza **Spin Echo** (SE) si ottiene inviando due impulsi di RF: il primo a 90° e il secondo a 180° (figura 1.2). Il primo impulso ruota la magnetizzazione longitudinale M_z sul piano

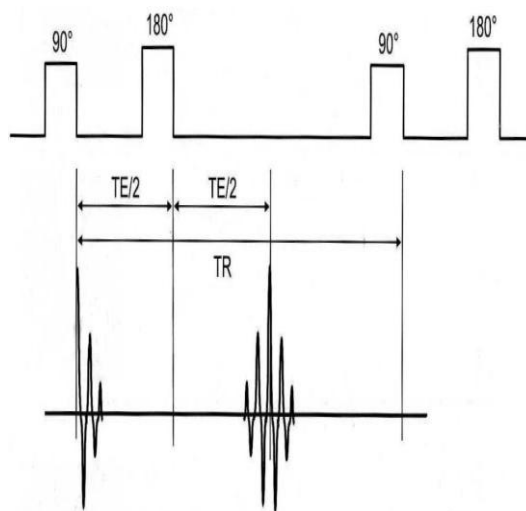


Figura 1.2: Sequenza Spin Echo

trasversale (x,y), generando una magnetizzazione trasversale M_{xy} che, dopo l'interruzione dell'impulso, inizia subito a perdere la coerenza di fase. Dopo un intervallo di tempo t (pari a $TE/2$), è inviato un secondo impulso RF a 180° che ribalta i momenti magnetici sullo stesso piano; in tal modo gli spin tornano in fase generando un segnale echo al tempo TE (tempo di echo). Tale echo non è affetto da fenomeni di disomogeneità di campo magnetico e la distanza temporale fra l'applicazione degli impulsi di eccitazione e la sua formazione permette una più agevole registrazione. La sequenza SE è ripetuta dopo un tempo T_R . La scelta dei parametri TE e T_R determina il contrasto delle immagini finali e le loro caratteristiche; infatti è possibile, variando questi due parametri, ottenere immagini T_1 - pesate, T_2 - pesate o a densità protonica DP [3].

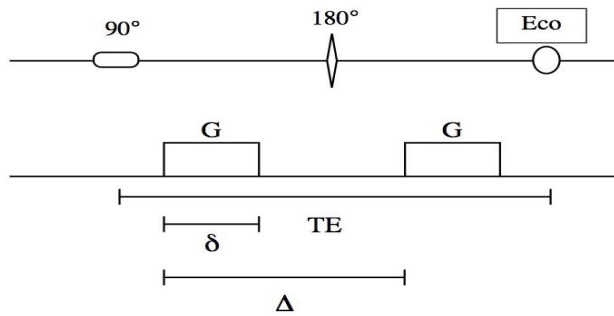


Figura 1.3 Sequenza SE-EPI (*Echo Planar Imaging*) pesata in diffusione con gradiente bipolare di Stejskal-Tanner; G rappresenta l'ampiezza del gradiente; δ la durata temporale di ciascuno dei due impulsi di gradiente; Δ l'intervallo fra i due impulsi del gradiente bipolare.

Il principio su cui si basano le tecniche di imaging mediante RM per studi di diffusione è l'effetto IVIM (*Intra Voxel Incoherent Motion*) connesso al moto incoerente e casuale delle molecole (moto Browniano). Immagini pesate in diffusione DWI possono essere ottenute inserendo in opportune sequenze di acquisizione EPI (*Echo Planar Imaging*) un gradiente bipolare.

L'applicazione di un impulso di gradiente di campo lungo un asse, per esempio z , crea un defasamento del momento magnetico dello spin, che è funzione della posizione lungo l'asse z . Se lo spin è stazionario, l'applicazione di due successivi impulsi di gradiente opposti fa sì che lo sfasamento sia nullo. Se lo spin è soggetto a un processo di diffusione, e pertanto in movimento lungo la direzione del gradiente, esso subisce un defasamento netto, funzione dello spostamento e del gradiente.

La riduzione della magnetizzazione è proporzionale all'intensità del gradiente G e al tempo di applicazione del gradiente δ , che deve essere piccolo perché altrimenti la diffusione, durante l'applicazione del gradiente non sarebbe più trascurabile. Il risultato quindi sarà un'attenuazione del segnale in relazione alla diffusione.

Per rendere le immagini più sensibili a questo fenomeno, sono applicati due elevati gradienti aggiuntivi collocati simmetricamente rispetto all'impulso di 180°; variando l'ampiezza di questi gradienti, si può ottenere una diversa pesatura delle immagini in diffusione.

Lo schema più comunemente usato è quello spin-echo di Stejskal-Tanner [4].

Questo schema (figura 1.3) prevede l'applicazione, tra gli impulsi di radiofrequenza a 90° e 180°, e per ogni direzione dello spazio, di due gradienti di campo magnetico oscillanti, uguali ma di direzione opposta.

Alla creazione del segnale RM, al tempo di eco TE, contribuiscono quei nuclei che risentono dopo l'applicazione dell'impulso a 180° dello stesso campo magnetico locale. Se i nuclei non sono in movimento lungo la direzione di applicazione del gradiente durante il periodo TE, l'effetto di defasamento del secondo impulso di gradiente cancella quello creato dal primo e non c'è attenuazione di segnale, se non quella dovuta ad altri processi di rilassamento.

Se invece i nuclei si muovono con un moto traslazionale casuale, dovuto a processi di diffusione molecolare, ogni spin nucleare è sottoposto a un campo magnetico d'intensità diversa durante il secondo impulso di gradiente rispetto al precedente e quindi subisce un defasamento netto.

Secondo lo schema di Stejskal-Tanner il *b-value*, che rappresenta il grado di pesatura in diffusione, è determinato dalla durata (δ) e dall'intensità (G) degli impulsi di gradiente, e dall'intervallo di tempo tra i due impulsi di gradiente (Δ), secondo l'equazione:

$$b\text{-value} = (\gamma G \delta)^2 \frac{\Delta - \delta}{3} \quad (1.6)$$

Le sequenze EPI consentono, inoltre, di acquisire set completi di più immagini al secondo (in genere almeno 10) e ciò permette di ottenere più immagini diversamente “pesate” in diffusione, fatto essenziale per generare mappe del tensore di diffusione, per le quali sono necessari almeno sei valori per localizzazione.

In ogni pixel dell'immagine, l'intensità dipende dalla diffusione dell'acqua nel tessuto lungo ogni asse: più rapidi sono i processi di diffusione e più scuri (ipointensi) saranno i corrispondenti pixel dell'immagine. L'intensità assoluta dell'immagine DWI dipende da quanto l'immagine è pesata in diffusione (*b-value*), ma è influenzata anche dalle tecniche di acquisizione dei dati e dai corrispondenti parametri tissutali (T_1 , T_2 e DP).

Per eliminare l'influenza di tali parametri e ottenere solo informazioni sulla diffusione (quantificazione della diffusione protonica), si possono calcolare le mappe del coefficiente di diffusione apparente (ADC, usualmente misurato in mm²/sec o cm²/sec), ottenute dalla differenza di contrasto tra le immagini pesate in T_2 e quelle pesate in diffusione, in modo tale da eliminare contaminazioni del tempo di rilassamento T_2 ; è necessario, quindi, avere almeno due

immagini che sono diversamente pesate in diffusione ma identiche per quanto riguarda gli altri parametri, in base alla formula:

$$D = -\frac{\ln \frac{S}{S_0}}{b} \quad (1.7)$$

dove D è il coefficiente di diffusione apparente per ogni pixel dell'immagine, b è una misura della sensibilizzazione dell'immagine alla diffusione e dipende dall'ampiezza e dalla durata del gradiente e dal tempo tra i due gradienti di diffusione, S_0 è il segnale nell'immagine ottenuta con $b = 0$ (T2), mentre S è il segnale nell'immagine ottenuta con $b \neq 0$.

Nella materia bianca la diffusione libera delle molecole di acqua non è uguale in tutte le direzioni dello spazio tridimensionale (diffusione anisotropa) [5] [6]. I protoni dell'acqua presentano, infatti, una mobilità diversa nelle diverse direzioni dello spazio per la presenza di barriere biologiche, e pertanto il coefficiente di diffusione sarà diverso a seconda la direzione in cui viene applicato il gradiente di diffusione.

La diffusione anisotropa è ottenuta principalmente dall'orientamento dei fasci di fibre nella sostanza bianca ed è influenzata da caratteristiche micro e macro strutturali [7].

1.4 DTI (Diffusion Tensor Imaging)

Fisicamente la diffusione è il risultato del movimento di traslazione termica delle molecole: il movimento è casuale, ovvero browniano, e le distanze in questione sono in genere microscopiche (nell'ordine dei μm). Queste distanze sono dello stesso ordine di grandezza delle dimensioni cellulari, per cui la misura della diffusione protonica può consentire di valutare l'integrità e il funzionamento delle cellule sia in condizioni normali sia patologiche. Le interazioni tra l'ambiente intra- ed extra-cellulare influiscono sulla diffusione di molecole di acqua determinando quindi perturbazioni del loro flusso diffusivo.

Il più recente sviluppo dell'imaging RM in diffusione (*Diffusion Weighted Imaging*, DWI) è rappresentato dal tensore di diffusione (*Diffusion Tensor Imaging*, DTI) [8], tecnica in grado di rendere evidente non solo l'entità ma anche la direzione della diffusione delle molecole di acqua nei tessuti.

Applicando gli appropriati gradienti di campo magnetico, l'imaging di RM può essere sensibilizzata al moto random e termico delle molecole d'acqua nella direzione del gradiente di campo.

Studi DTI rappresentano in questo momento l'unico mezzo per lo studio in vivo e in maniera non invasiva, dell'architettura funzionale del Sistema Nervoso Centrale. Tramite DTI, il grado

di anisotropia e la direzione locale delle fibre possono essere mappate voxel per voxel, fornendo una grande opportunità per lo studio dell'architettura della sostanza bianca in vivo.

In generale, un tensore è un'entità matematica astratta e con specifiche proprietà che permette di quantificare complessi fenomeni fisici. Nel contesto della DTI, dal tensore di diffusione, ottenuto da misure di diffusione in differenti direzioni, è possibile stimare il movimento delle molecole di acqua.

Il modello del tensore consiste dunque in una matrice 3x3 derivata dalla misura di diffusività in almeno sei direzioni non collineari. Per calcolare il tensore di diffusione sono necessari almeno sei gradienti di diffusione e quindi sei mappe di ADC lungo sei direzioni ortogonali (3 ortogonali puri: x, y, z, e 3 combinati: xy, xz, yz). Aumentando il numero delle direzioni codificate si perfezionerà l'accuratezza delle misurazioni del tensore per ogni arbitrario orientamento.

La matrice del tensore può essere rappresentata come un ellissoide, con gli assi nelle direzioni degli autovettori della matrice, e di lunghezza proporzionale ai suoi autovalori; la misura degli assi in ogni direzione è una stima della diffusività in quella direzione, e l'asse maggiore è orientato in direzione di massima diffusività.

1.4.1 Calcolo del tensore di diffusione

Nel 1994, Basser [8] [9] propose un formalismo rigoroso per il tensore di diffusione, **D**, dimostrandone la determinazione da un set minimo d'immagini pesate in diffusione. La trattazione parte dall'ipotesi semplificativa che il profilo di diffusione delle molecole di acqua nei tessuti possa essere modellizzato come una Gaussiana; dalla formula (1.7) definiamo:

$$\ln \frac{S}{S_0} = b_{xx}D_{xx} + b_{xy}D_{xy} + b_{xz}D_{xz} + b_{yx}D_{yx} + b_{yy}D_{yy} + b_{yz}D_{yz} + b_{zx}D_{zx} + b_{zy}D_{zy} + b_{zz}D_{zz} = \mathbf{b} : \mathbf{D} \quad (1.8)$$

dove il simbolo **:** rappresenta il prodotto scalare generalizzato tra matrici.²

La matrice **b** è costituita dagli elementi:

$$b = (\gamma G \delta)^2 \frac{\Delta - \delta}{3} G_i G_j \quad (i, j = x, y, z) \quad (1.9)$$

in cui G_i rappresenta la componente i-esima del gradiente di diffusione applicato lungo una direzione generica.

² Per due generiche matrici A e B, di elementi a_{ij} e b_{ij} , dove i e j indicano le righe e le colonne delle matrici, il prodotto generalizzato è definito come: $A : B = \sum_{ij} a_{ij} b_{ij}$

Il tensore **D**, invece, si esprime analiticamente attraverso una matrice simmetrica 3×3 reale definita positiva:

$$(D_{ij} = D_{ji}, \text{ con } i, j = x, y, z)$$

$$D_{ij} = \begin{pmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{pmatrix}$$

Considerato che la matrice del tensore di diffusione è simmetrica, la (1.8) si riduce a:

$$\ln \frac{S}{S_0} = b_{xx}D_{xx} + b_{xy}D_{xy} + b_{xz}D_{xz} + 2b_{yx}D_{yx} + 2b_{yz}D_{yz} + 2b_{zx}D_{zx} \quad (1.10)$$

Dato che il tensore **D** è simmetrico, la sua completa determinazione richiede la stima di sei elementi di matrice indipendenti. Poiché la (1.10) fornisce un'equazione nelle sei incognite rappresentate dagli elementi indipendenti del tensore, la determinazione di **D** richiede la risoluzione di un sistema di almeno sei equazioni. Pertanto, saranno necessarie almeno sette acquisizioni (numero minimo) del segnale NMR, delle quali sei pesate in diffusione e una senza l'applicazione dei gradienti.

Nella pratica, per una stima più accurata degli elementi del tensore, si acquisisce un numero di segnali superiore al numero minimo, in maniera da ridurre l'incertezza legata a ogni singola stima degli elementi del tensore.

Affinché le equazioni che legano gli elementi del tensore siano, in generale, il più possibile indipendenti e caratterizzino il tensore nelle diverse direzioni dello spazio, le direzioni dei gradienti vengono scelte non collinari (ovvero su direzioni di applicazioni differenti) e in maniera tale da distribuirsi uniformemente nelle diverse direzioni dello spazio.³

La conoscenza del tensore di diffusione consente di superare i limiti di direzionalità delle mappe DWI e delle mappe ADC: sebbene le mappe ADC, al contrario delle DWI, non risentano di alcuna pesatura T_2 residua e contengano una precisa informazione quantitativa relativa ai processi diffusivi, anch'esse infatti hanno un pesante limite legato alla dipendenza dalla direzione del gradiente di diffusione applicato (fatto da prendere in considerazione quando sono esaminate strutture caratterizzati da processi di diffusione anisotropa, come i fasci di fibre di sostanza bianca).

³ Le direzioni di applicazione dei gradienti di diffusione sono determinate tramite un criterio di minima energia. Le direzioni, infatti, corrispondono ai raggi-vettore congiungenti il centro degli assi con un insieme di punti disposti su una sfera di raggio unitario, in numero pari alle N direzioni da determinare e per i quali è definita una energia potenziale.

Al contrario, le informazioni contenute in $\mathbf{D}$ possono essere “visualizzate” mediante la realizzazione di mappe di opportuni indici di diffusione invarianti per rotazione, quali Traccia, Anisotropia Frazionaria, Diffusività Media, Coefficiente Lineare ecc .

1.4.2 Diagonalizzazione del tensore di diffusione

Una volta determinati gli elementi del tensore di diffusione $\mathbf{D}$, per ottenere informazioni sui processi di diffusione, a prescindere dalla particolare applicazione dei gradienti, si procede alla sua diagonalizzazione. Il processo di diagonalizzazione del tensore di diffusione è descritto dalla trasformazione:

$$D = \Psi^T \Lambda \Psi \quad (1.11)$$

dove i tre elementi $\varepsilon_1, \varepsilon_2$ e ε_3 del vettore Ψ corrispondono agli autovettori di D , ortonormali (ortogonali e unitari). I tre autovettori individuano altrettante direzioni dello spazio lungo le quali gli spostamenti degli spin, dovuti al fenomeno della diffusione, non sono in fase. Λ risulta una matrice diagonale i cui elementi della diagonale principale λ_1, λ_2 e λ_3 , autovalori di D , corrispondono alla diffusività lungo le direzioni individuate dagli autovettori corrispondenti. Per convenzione, gli autovalori sono numerati in ordine crescente ($\lambda_1 \geq \lambda_2 \geq \lambda_3$), determinando anche la nomenclatura degli autovettori a essi associati.

Per rappresentare l'anisotropia del mezzo in esame è possibile schematizzare la diffusione all'interno di ogni elemento di volume tramite un ellissoide di diffusione le cui dimensioni sono specificate dal processo di diagonalizzazione del tensore stesso [8] [10], figura 1.4. In conclusione, l'ellissoide di diffusione riflette il modello gaussiano tridimensionale adottato dalla tecnica DTI per il processo di diffusione.

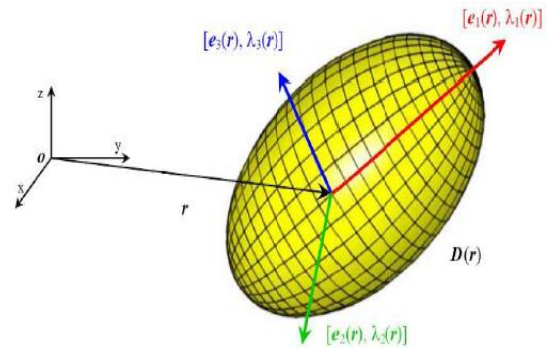


Figura 1.4 Ellissoide di diffusione e direzione di massima diffusione

La tecnica DTI schematizza il processo di diffusione con un modello gaussiano tridimensionale. I risultati dell'analisi tensoriale determinano le caratteristiche di un ellissoide, che rappresenta la diffusione all'interno di un singolo voxel. In particolare, dimensione e direzione degli assi dell'ellissoide sono determinati, rispettivamente, dagli autovalori del tensore di diffusione e degli autovettori a essi associati. L'autovettore, $\varepsilon_1(r)$, associato all'autovalore principale, $\lambda_1(r)$, individua la direzione di massima diffusione in corrispondenza del voxel in posizione r .

1.4.3 Misure scalari invarianti in DTI

Per visualizzare informazioni quantitative riguardo al meccanismo di diffusione, è conveniente utilizzare misure scalari, derivate matematicamente dal tensore di diffusione, definite “invarianti” perché indipendenti dal sistema di coordinate cui fanno riferimento: gli indici definiti come *scalari invarianti*, infatti, risultano indipendenti da rotazione del tessuto esaminato rispetto al campo magnetico applicato, poiché espressi in funzione degli autovalori del tensore, per definizione invarianti per rotazione.

In questa sezione saranno descritte alcune delle quantità scalari invarianti più comunemente utilizzate nella pratica clinica, distinguendole, in base all’informazione quantitativa che permettono di “visualizzare”, in due categorie: misure di **isotropia** (o di ampiezza di diffusione) e misure di **anisotropia**.

Nella trattazione, si farà riferimento agli autovalori del tensore di diffusione **D**, con la convenzione che $\lambda_1 \geq \lambda_2 \geq \lambda_3$; λ_1 rappresenterà, quindi, l’autovalore principale.

Un invariante per trasformazioni (traslazione, rotazione e scaling) che si presta molto bene per caratterizzare i processi di diffusione delle molecole d’acqua è la *Traccia*, definita come:

$$T_R(D) = \sum_{i=1}^3 \lambda_i \quad (1.12)$$

In una mappa Traccia è ben evidenziato il CSF, mentre è minimo il contrasto tra materia bianca e materia grigia.

Le misure di anisotropia, usate per quantificare la forma del profilo di diffusione e utili a descrivere l’organizzazione funzionale dei tessuti e la localizzazione dei voxel contenenti singoli tratti di fibra nervosa, sono definite come rapporti di autovalori: tramite mappe di indici di diffusione anisotropa, invarianti per rotazione, è possibile evidenziare le diramazioni dei singoli fasci e misurare quantitativamente il grado di anisotropia delle fibre.

Dagli autovalori si possono ricavare parametri che sintetizzano l’informazione contenuta in **D**[11], i più comuni sono la diffusività media:

$$\langle D \rangle = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3}{3} = \frac{TR(D)}{3} \quad (1.13)$$

che è la media su tutte le direzioni delle diffusività, e l’anisotropia frazionaria FA:

$$FA = \sqrt{\frac{3}{2}} \sqrt{\frac{(\lambda_1 - \langle D \rangle)^2 + (\lambda_2 - \langle D \rangle)^2 + (\lambda_3 - \langle D \rangle)^2}{\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2}} \quad (1.14)$$

che è un indice di anisotropia, poiché quantifica la deviazione delle diffusività nelle tre direzioni principali dalla diffusività media. In particolare, fornisce informazioni riguardo

alla forma dell'ellissoide di rotazione associato al tensore: partendo dal valore nullo per FA , in cui la forma è sferica (diffusione isotropa), per valori maggiori del parametro la forma risulta sempre più allungata, fino a raggiungere la forma lineare per $FA = 1$ (massima anisotropia).

Gli indici descritti nelle equazioni (1.13) e (1.14) sono di tipo “intravoxel” o puntuali; in ogni singolo voxel i loro valori dipendono soltanto da quelli degli elementi del tensore di diffusione riguardante il voxel in esame. Essi non utilizzano, perciò, tutte le informazioni presenti in $\mathbf{D}$: in particolare è trascurata l'informazione spaziale contenuta nei tre autovettori mutuamente ortogonali associati al tensore. Per spiegare meglio quest'ultimo concetto consideriamo una generica regione in cui la diffusione molecolare sia isotropa: ciò significa che l'ellissoide di rotazione associato al tensore per ogni voxel dovrebbe degenerare in una sfera. In verità, a causa del rumore di fondo, non avremo esattamente una sfera. Se però la diffusione è isotropa, l'orientamento dei singoli ellissoidi sarà scorrelato rispetto a quello degli ellissoidi dei voxel adiacenti. Al contrario, in una regione a diffusione anisotropa ogni ellissoide avrà una direzione privilegiata, correlata con quella degli ellissoidi dei voxel confinanti. Queste informazioni spaziali sono contenute negli autovettori del tensore di diffusione.

Da un punto di vista pratico, solo un numero limitato di queste misure sono effettivamente usate negli studi clinici. In MR DTI, le più comuni di queste misure sono FA e $\langle D \rangle$. Su 30 degli studi recenti sulle applicazioni cliniche del DTI, in disturbi come la schizofrenia, il morbo di Alzheimer, ictus, sclerosi multipla e lesioni alla testa, 26 hanno riportato i loro risultati usando sia FA sia $\langle D \rangle$, mentre solo quattro hanno riportato il solo $\langle D \rangle$ [12]. Il motivo per cui si utilizzano $\langle D \rangle$ e FA sta nel fatto che non si conosce a priori quale misura è più appropriata a descrivere le mutazioni patologiche nel tessuto del cervello. È concepibile, ad esempio, che uno studio possa fallire non mostrando cambiamenti significativi quando il tensore di diffusione è misurato usando FA , ma possa mostrare differenze quando si usa RA o L o qualche altra misura. Per questo motivo spesso diventa opportuno studiare più mappe di anisotropia contemporaneamente.

In questo lavoro si opta per l'applicazione di una tecnica matematica per migliorare la visualizzazione e quantificazione del tessuto del cervello in MR DTI, detta “*decomposizione $p:q$* ”.

1.4.4 Mappe del tensore di diffusione: decomposizione p:q

La decomposizione p:q è una tecnica matematica che migliora la visualizzazione e la quantificazione del tessuto cerebrale in immagini MR-DTI, sia in condizione di normalità che patologiche. Questa tecnica prevede la scomposizione matematica e grafica del tensore nella sua parte isotropa (p) e anisotropa (q). Tale scomposizione permette di ottenere una serie di misure utili per quantificare le numerose informazioni contenute nel segnale DTI.

Si esprime la matrice 3x3 del tensore di diffusione secondo la formula [12]:

$$D_{ij} = \langle D \rangle I_{ij} + [D_{ij} - \langle D \rangle I_{ij}] \quad (1.15)$$

dove I_{ij} indica la matrice identità $I_{ij} = \text{diag}(1,1,1)$; il primo termine a secondo membro della (1.15) è la componente isotropa (p) del tensore, mentre il secondo termine (tra parentesi) rappresenta la componente anisotropa (q). In questo modo si scompone il tensore D in due tensori P e Q cioè:

$$D_{ij} = P_{ij} + Q_{ij} \quad (1.16)$$

L'entità di questi tensori è definita dalle componenti isotrope (p) e anisotrope (q). I valori di tali componenti possono essere ricavati secondo le formule:

$$p = \sqrt{3\langle D \rangle} \quad (1.17)$$

$$q = \sqrt{(\lambda_1 - \langle D \rangle)^2 + (\lambda_2 - \langle D \rangle)^2 + (\lambda_3 - \langle D \rangle)^2} \quad (1.18)$$

in cui p è una misura ridotta della diffusività media, mentre q è una misura della deviazione degli autovalori rispetto alla diffusività media del tensore [12].

Il processo di decomposizione del tensore prosegue scegliendo una coppia di assi cartesiani con p sulle ascisse e q sulle ordinate e rappresentando ogni tensore con un singolo punto in questo piano così come rappresentato in figura 1.5.

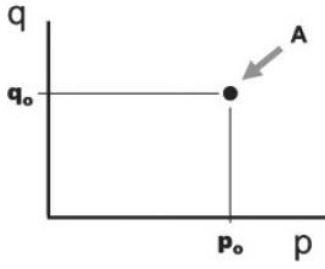


Figura 1.5. Rappresentazione del tensore sul piano cartesiano (piano p:q).

Un punto del piano p:q rappresenta un pixel dell'immagine. L'asse x corrisponde alla componente isotropica di diffusione (p), l'asse y alla componente anisotropa di diffusione (q). Ogni tensore può essere scomposto nelle sue componenti p_0 e q_0 corrispondenti a punti del piano p:q.

Questa rappresentazione (detta del piano p:q) permette di ridurre le dimensioni del tensore da sei a solo due componenti, conservandone sostanzialmente le informazioni. Inoltre, utilizzando il piano p:q è possibile ricavare ulteriori misure scalari di uso pratico, ossia $\langle D \rangle$, RA , FA , L e Φ . Le sette misure derivate in tal modo dal tensore si suddividono in misure anisotropiche (q , RA , FA e Φ), misure della magnitudine di diffusione ($\langle D \rangle$ e p) e una misura della diffusione totale del tensore (L). Seguono le espressioni di diverse quantità scalari, espresse solo in funzione di q e p .

$$L = \sqrt{p^2 + q^2} \quad RA = \frac{q}{p} \quad FA = \sqrt{\frac{3}{2}} \frac{q}{L} \quad \Phi = \tan^{-1}\left(\frac{q}{p}\right) \quad (1.19)$$

Considerato un particolare valore A del tensore di diffusione D (figura 1.6) le formule (1.17) e (1.18) permettono di individuare la posizione del punto poiché ne determinano le sue coordinate nel piano. Nella figura 1.6 s'indica con L_0 la distanza del tensore dall'origine e con ϕ l'angolo compreso tra l'asse p e la retta passante per l'origine, il punto di coordinate (p_0, q_0) individua il tensore. Pertanto RA_0 è dato dal rapporto di q_0 e p_0 , mentre FA_0 è dato dal rapporto di q_0 e L_0 ridotto di un fattore di scala $\sqrt{\frac{3}{2}}$ (FA_0 , dunque, altro non è che il seno dell'angolo Φ , mentre RA_0 è la tangente dello stesso angolo); infine $\langle D_0 \rangle$ è pari a $\frac{1}{\sqrt{3}}$ di p_0 .

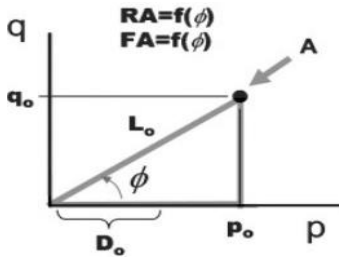


Figura 1.6: Determinazione delle misure effettuate sul piano p:q. Partendo da un punto del piano p:q, possiamo dedurre facilmente le misure standard di anisotropia RA e FA . Entrambe sono legate all'angolo ϕ : RA è proporzionale alla tangente dell'angolo, mentre FA è proporzionale al seno

Spostandosi lungo L (figura 1.6), è possibile notare come FA si mantenga costante anche se i valori di p e di q variano. Tutti i punti disposti lungo la retta L sono caratterizzati da un angolo costante e, quindi, anche il seno dell'angolo non varia. Poiché FA dipende dal seno dell'angolo, allora anch'essa rimane costante.

Quanto detto è rappresentativo del fatto che talvolta in una mappa FA ci sono regioni in cui FA rimane costante, pur variando la componente q (figura 1.7).

Questa situazione potrebbe essere un altro motivo per prediligere le mappe p e q al posto di FA e $\langle D \rangle$ [12]. In definitiva si può dire che mediante la tecnica di “decomposizione p:q”, solo dalla componente isotropica p e anisotropica q del tensore è possibile ricavare tutte le restanti misure scalari del tensore. Ovviamente ciò rappresenta un passo avanti rispetto alle comuni applicazioni della tecnica DTI in cui sono sfruttate solo le misure scalari del tensore FA e $\langle D \rangle$.

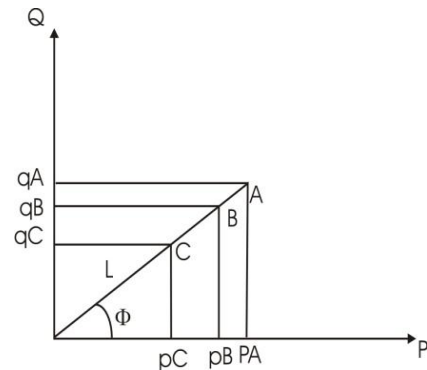


Figura 1.7 Nel piano p:q è possibile osservare la presenza di voxel (A,B,C) in cui il valore FA rimane costante anche se la componente anisotropa (che FA rappresenta) varia.

1.5 Follow up di gliomi cerebrali

I gliomi sono tra i più comuni tumori maligni del Sistema Nervoso Centrale dell'uomo e sono particolarmente difficili da trattare a causa della loro elevata malignità e invasività, inibizione delle risposte immunitarie e mancanza di una terapia efficace. Le notevoli differenze di comportamento e le caratteristiche patologiche e fisiologiche delle cellule tumorali del glioma si traducono nella difficoltà di classificare questo tumore come localizzato o come patologia estesa. Il glioma si può estendere infiltrandosi e invadendo, ma anche spostando, la materia bianca dell'encefalo. L'esperienza medica ha dimostrato che le cellule di un glioma possono diffondersi al di là della zona patologica individuata da tecniche RM convenzionali.

In uno studio clinico il *follow-up* è il periodo di osservazione del paziente a seguito di un intervento terapeutico. Di solito esso ha una durata maggiore della terapia; il paziente che partecipa allo studio clinico segue la terapia per un determinato periodo, dopo il quale è

sottoposto a esami e controlli periodici per valutare l'efficacia della terapia e gli eventuali effetti collaterali a medio e lungo termine.

La tecnica DTI-MRI è diventata uno strumento sempre più importante per la comprensione dell'organizzazione delle strutture del cervello normale e l'evoluzione dei disturbi neurologici e psichiatrici. In particolare, la DTI-MRI rappresenta un buon metodo applicabile allo studio di gliomi cerebrali: essa, infatti si presenta come una tecnica non invasiva in grado di aggiungere informazioni preziose nella valutazione della risposta alla terapia; inoltre, non necessita della somministrazione di mezzi di contrasto paramagnetici.

L'utilizzo di tecniche avanzate di MRI, basate su mappe di diffusione funzionale (fDM) può essere utile per prevedere la sopravvivenza dei pazienti [13].

Basser e Pierpaoli [14] sottolineano come i vari indici di diffusione (cfr paragrafo 1.4.3) siano in grado di individuare differenti caratteristiche, fisiologiche e patologiche, all'interno di uno stesso tessuto. Particolarmente utile allo scopo è stato il metodo matematico [12] (esposto nel paragrafo 1.4.4) che scompone il tensore di diffusione in una componente isotropica e in una anisotropica; attraverso una serie di mappe, è possibile l'analisi simultanea di più quantità scalari. Si ritiene che l'uso di questi parametri sia in grado di fornire un quadro più completo del profilo della diffusione delle molecole d'acqua all'interno di un tumore cerebrale [15].

Dopo un trattamento chemio/radioterapico condotto con successo, ci si aspettano variazioni di diffusione dell'acqua all'interno del tumore. Le regioni con elevato contenuto di acqua extracellulare (ad esempio, edema intratumorale e/o cisti) possono diminuire di volume a causa della riorganizzazione della struttura eterogenea del tumore dopo il trattamento.

La variazione di densità cellulare a causa dell'eliminazione delle cellule tumorali insieme con la riorganizzazione dei tessuti, può determinare un cambiamento della morfologia, ad esempio nel rapporto intra-extra cellulare di liquidi, con conseguente cambiamento dei valori di p e di q .

Si è osservato, ed è intuitivamente comprensibile, che una diminuzione della diffusione isotropica (p) corrisponde a un miglioramento della malattia e una regressione del tumore (in quanto legata a una riorganizzazione dei tessuti) mentre un aumento dei valori di p è indice di peggioramento (il tumore ha interagito con le fibre nervose, infiltrandosi, quindi l'acqua si muove in maniera meno ordinata a causa della presenza delle cellule tumorali che spostano le fibre nervose).

Considerando la variazione della diffusione anisotropa (q) è stato dimostrato come un aumento dei valori di q corrisponda alla regressione del tumore (nel qual caso, le fibre nervose non ancora distrutte, ma solo spostate dal tumore, si riorganizzano, e l'acqua ricomincia a diffondere con una direzione preferenziale), mentre una diminuzione di q è collegata a un peggioramento della malattia.

In base a queste considerazioni, in un protocollo per il follow-up basato sull'analisi delle variazioni della diffusione isotropa e anisotropa all'interno della regione tumorale a seguito di un trattamento terapeutico, diventa quindi fondamentale stabilire un **valore di soglia** che possa permettere una classificazione tra fluttuazioni fisiologiche (legate al cosiddetto rumore bianco) e non fisiologiche, legate essenzialmente ad alterazioni delle cellule cancerose e quindi strettamente connesse alla patologia e al suo trattamento. Il valore di soglia consentirà al medico di monitorare la significatività delle variazioni dei parametri di diffusione, traendo conclusioni sull'andamento della terapia.

A questo scopo, il Capitolo 2 tratta le cause di rumore nelle immagini DTI e descrive il metodo sperimentale, adottato poi nel Capitolo 3, per la sua stima e per la determinazione della soglia di significatività per ciascuna mappa.

CAPITOLO 2

Analisi statistica del rumore nelle immagini DTI

2.1 Introduzione

Come accennato alla fine del Capitolo 1, le immagini DTI consentono di accertare il successo o il fallimento di un trattamento chemioterapico, in quanto i valori misurati con le mappe di isotropia (e.g. la mappa p) e di anisotropia (e.g. la mappa q) danno informazioni sull'evoluzione del tumore (ricompattamento delle fibre nervose, oppure diffusione delle cellule tumorali). Confrontare, per differenza, mappe DTI omologhe acquisite prima e dopo un ciclo di chemioterapia possono quindi guidare il medico nella somministrazione dei farmaci più efficaci.

E' importante **stabilire quando la fluttuazione dei valori misurati sia significativa** e non dovuta al rumore presente nelle immagini pre- e post-trattamento o alla loro elaborazione.

In generale, nello studio d'immagini mediche il rumore di fondo può essere dovuto al sistema di acquisizione (e.g. rumore elettronico), a fluttuazioni casuali intrinseche nella grandezza fisica misurata nei tessuti del paziente, e a errori e limiti nella procedura di ricostruzione e trattamento delle immagini.

In particolare, è stato evidenziato nel capitolo precedente come il segnale FID, ottenuto dal rilassamento della magnetizzazione dopo l'invio di un singolo impulso RF, sia un segnale molto basso con una forte componente di rumore: questo problema viene parzialmente superato per mezzo di sequenze di impulsi. Durante l'acquisizione di un'immagine, quindi, ci si trova davanti al compromesso tra qualità (rappresentata dal rapporto segnale-rumore, e incrementata dal numero d'impulsi inviati) e tempo di acquisizione: il miglioramento della qualità dell'immagine è ottenuto, durante l'acquisizione, mediante una media temporale di acquisizioni successive, facendo aumentare così il tempo impiegato per l'operazione. Com'è facile dedurre, tempi di acquisizione molto lunghi potrebbero creare problemi per operazioni in tempo reale ed essere poco tollerabili per il paziente, oltre ad aumentare i costi. Da ciò si deduce la necessità di un'elaborazione dell'immagine successiva all'acquisizione.

Al fine di individuare un valore di soglia di significatività delle fluttuazioni dei parametri misurata nelle immagini (valori di p , q , FA, etc), da impiegare poi nella procedura di accertamento del successo o fallimento della terapia, in questo capitolo si presentano le

principali fonti di errore nell'acquisizione, ricostruzione ed elaborazione di immagini DTI (paragrafi 2.2 e 2.3). Sono, quindi, presentati i campioni sani (controlli) usati per l'analisi statistica del rumore di un'immagine DTI (paragrafo 2.4), l'apparecchiatura per l'acquisizione delle immagini e i *software* di supporto utilizzati per l'elaborazione (paragrafo 2.5). In seguito (paragrafo 2.6) sono illustrati il metodo e le linee guida che ci hanno consentito di eseguire l'analisi statistica d'immagini DTI di pazienti sani per ottenere una soglia caratteristica, che fornisca un limite superiore alle fluttuazioni dei parametri fisici di isotropia e anisotropia dovute esclusivamente a rumore nella misura (complessiva, dall'acquisizione fisica alla ricostruzione ed elaborazione dell'immagine). La soglia così individuata costituirà un parametro di significatività, nel senso che variazioni superiori alla soglia saranno considerate significative e dovute alla terapia o all'evoluzione del tumore; la soglia sarà poi inseribile in una procedura applicata alle immagini DTI di pazienti affetti da glioma cerebrale per valutare l'efficacia della terapia (come mostrerà il Capitolo 3).

Riassumendo, l'applicazione della soglia caratteristica, ottenuta nell'analisi statistica delle immagini di pazienti sani, ci permetterà di valutare fino a che punto le fluttuazioni riscontrate in immagini di pazienti patologici, siano da considerarsi variazioni casuali non significative (rumore, variazioni fisiologiche...), oppure siano legate a un miglioramento o peggioramento della massa tumorale all'interno dell'encefalo.

2.2 Acquisizione e processing dei dati

Per la determinazione accurata del tensore di diffusione, è necessario utilizzare un insieme di immagini pesate in diffusione, con gradienti lungo diverse direzioni, ottenute con una sequenza MRI sensibile alla diffusione dell'acqua e di rapida acquisizione come una EPI (*Echo-Planar Imaging*)[17].

La sequenza di acquisizione EPI è una sequenza pulsata che acquisisce le immagini in un intervallo di tempo molto breve (solitamente 30-60 ms per sezione bidimensionale, o *slice*), cercando così di eliminare quanto più è possibile qualsiasi artefatto dovuto ai movimenti del paziente durante l'acquisizione (tanto più possibile quante più immagini devono essere acquisite per ottenere il calcolo del Tensore di Diffusione).

La breve durata dell'acquisizione comporta immagini con una minore risoluzione spaziale, e con distorsioni geometriche provocate dalla disomogeneità del campo magnetico rispetto alle usuali immagini MRI. Questo problema può diventare rilevante quando si compiono studi quantitativi sovrapponendo diverse immagini.

Per evitare artefatti visibili dovuti al trasferimento di magnetizzazione causato dal grasso sottocutaneo, sono utilizzate tecniche di soppressione del grasso incluse nella sequenza EPI, attraverso impulsi a radio frequenza selettivi di determinate frequenze; in ogni caso, la qualità della soppressione di questo tipo di artefatto dipende anche dall'uniformità del campo magnetico. L'intero volume cerebrale è quindi acquisito utilizzando questa particolare sequenza EPI pesata in diffusione in un tempo molto breve e il processo è ripetuto per ciascuna direzione del gradiente.

Ai fini dell'accuratezza dell'immagine, i dati acquisiti devono essere messi in correlazione con il battito cardiaco del soggetto, perché il flusso sanguigno e variazioni della pressione nelle arterie del collo e cerebrali possono provocare fluttuazioni dell'intensità del segnale di diffusione. Il processo di *triggering* del battito cardiaco aumenta naturalmente i tempi di acquisizione del segnale.

La sequenza EPI, inoltre, è influenzata da altre distorsioni causate dall'applicazione dei gradienti pulsati utilizzati per la codifica dei dati di diffusione. Queste distorsioni, chiamate *eddy-current*, sono causate dai campi magnetici residui indotti dalle correnti utilizzate per l'accensione e spegnimento dei gradienti dei campi magnetici necessari per la codifica spaziale delle immagini, e queste sono diverse per ogni direzione di applicazione del gradiente di diffusione. Queste interferenze possono essere ridotte utilizzando una modifica della sequenza di Stejskal-Tanner (paragrafo 1.3) o rimosse in gran parte utilizzando delle metodologie post-processing [17].

2.3 Sorgenti di errore in DTI-MRI

E' stato dimostrato che i principali fattori che possono influenzare quantitativamente le misure ottenute nelle immagini di DTI-MRI [18] possono essere:

- Durata e orientazione dei gradienti;
- Utilizzo di diverse sequenze pulsate EPI;
- Metodi utilizzati per la correzione delle distorsioni geometriche;
- Tecniche di *shimming*⁴ per rendere omogeneo il campo magnetico ai bordi;
- Metodologia utilizzata per l'attenuazione del grasso;
- Correzioni delle non linearità nelle immagini DTI;
- Sincronizzazione (più o meno accurata) dell'acquisizione con il battito cardiaco;

⁴ La compensazione delle disomogeneità di campo è detta "shimming" del magnete e consiste, quindi, una serie di operazioni di tipo meccanico(regolazione della posizione reciproca delle bobine) e di tipo elettrico(regolazione della corrente di alimentazione delle bobine).Questo tipo di shimming è detto attivo. Lo shimming passivo realizzato in fase di costruzione del magnete, corregge le disomogeneità di campo che provocano induzioni magnetiche che distorcono le linee di forze del campo magnetico statico principale;

- Attività biologiche in atto;
- Accuratezza nell'immobilizzazione del paziente;

Negli studi clinici di *follow-up* con durata di qualche anno è difficile mantenere costanti questi fattori; gli stessi scanner MRI o le sequenze diventano obsolete con il passare del tempo e devono essere modificati o aggiornati.

L'interpretazione dei dati è ulteriormente complicata proprio dal fatto che il tensore di diffusione e, in particolare, l'informazione di anisotropia in esso contenuta, è altamente sensibile a un largo spettro di altri fattori che includono il rumore dell'immagine (sia termico che fisiologico), artefatti vari (e.g., la cattiva registrazione dell'immagine DWI a causa di *eddy currents* o di movimenti della testa), l'effetto di *partial volume averaging* tra i tessuti in voxel grandi (per esempio il combinarsi dei segnali di materia grigia, bianca, liquido cerebrospinale), e le regioni dove i fasci di fibre di materia bianca s'incrociano (*crossing*) [19].

Fonti d'errore possono essere anche quelle legate a effetti di suscettibilità magnetica (misura di quanto è magnetizzata una sostanza posta all'interno di un campo magnetico) che si rilevano quando tessuti o materiali differenti, tra loro adiacenti, provocano la formazione di gradienti microscopici o una disomogeneità locale del campo magnetico (ad esempio distorsioni o perdite marcate di segnale in prossimità dei lobi frontali inferiori).

L'effetto di *partial volume averaging* descrive un errore che ha luogo quando le dimensioni del voxel dell'immagine è maggiore della dimensione del dettaglio che si vuole visualizzare. Per esempio, se un voxel di piccola dimensione contiene soltanto il segnale di acqua o grasso e un voxel di dimensione maggiore contiene una combinazione dei due, il voxel più grande avrà un'intensità di segnale uguale alla media pesata della quantità di acqua e di grasso presenti nel voxel. Un'altra manifestazione di questo tipo di errore è la perdita di risoluzione dovuta a più dettagli presenti nel voxel dell'immagine.

Questo tipo di errore è molto importante nelle regioni dell'encefalo, come la materia bianca, in cui si vogliono ottenere informazioni quantitative circa l'integrità e l'orientamento delle fibre nervose.

In DTI a 3 Tesla, il movimento del paziente può svolgere il ruolo dominante di sorgente di rumore[20]. Per migliorare l'affidabilità della risonanza DTI a 3T è importante conoscere in che misura il rumore e il movimento contribuiscano sulle incertezze degli indici (paragrafo 1.4.3) deducibili dal tensore di diffusione. È stato dimostrato [20] che, in immagini cliniche DTI a 3T, il rumore e il movimento sono dello stesso ordine di grandezza, e quindi una diminuzione del moto del paziente aiuta a migliorare la precisione e l'accuratezza delle mappe DTI. Inoltre, la propagazione del rumore è influenzata anche dalla scelta del regime di campionamento, e

quindi dell'apparecchiatura per l'acquisizione delle immagini e dei software utilizzati per l'elaborazione[20][21].

Un'altra tipologia d'errore che bisogna considerare, ma molto difficile da stimare, è quella collegata alle fasi di **coregistrazione d'immagini** di diverse sequenze di acquisizione ma appartenenti a uno stesso paziente. La coregistrazione è una procedura la cui finalità è quella di sovrapporre e mettere in corrispondenza (tessuto per tessuto, organo per organo) immagini simili tra loro, e viene utilizzata sia in fase di costruzione dell'immagine DTI (alla quale concorrono svariate immagini prese nelle varie direzioni del gradiente) che in fase di confronto tra immagini pre- e post-trattamento nel *follow-up* chemioterapico. La coregistrazione tra due immagini simili non può mai essere accurata al 100%, nel senso di riuscire a sovrapporre esattamente due parti corrispondenti di tessuto cerebrale. Risulta poi veramente difficile stabilire con quanta accuratezza un particolare voxel di un'immagine venga sovrapposto al corrispondente voxel di un'altra immagine. Infine, anche ammettendo un'accuratezza ottimale dell'operazione di coregistrazione, bisogna comunque considerare che ogni voxel presenta un effetto di *partial volume averaging*, per cui di fatto è impossibile che parti di tessuto (campionate ed interpolate in maniera necessariamente differente) vengano esattamente messe in corrispondenza. Questo tipo di errore fa sentire la propria influenza proprio quando occorre confrontare variazioni tra immagini pre- e post-trattamento chemioterapico, perché per sua causa la differenza di valori scalari che si calcolerà, non sarà rigorosamente descrittiva del voxel scelto per la misura.

2.4 Presentazione dei pazienti

Lo studio è stato condotto su 8 volontari sani, in parte giovani e in parte anziani (controlli rappresentativi per le popolazioni di pazienti oggetto di studio), reclutati presso la Divisione di Neurochirurgia dell'IRCCS H San Raffaele di Milano.

La tabella 2.1 fornisce informazioni riguardo all'età e il sesso dei volontari; in essa per questioni di privacy non sono riportati i nomi dei soggetti, indicati invece tramite una sigla per riferimento.

	SESSO	ETA' (anni)
Paziente_1	Maschile	35
Paziente_2	Femminile	29
Paziente_3	Femminile	30
Paziente_4	Femminile	45
Paziente_5	Femminile	27
Paziente_6	Maschile	64
Paziente_7	Maschile	77
Paziente_8	Femminile	42

Tabella 2.1: Presentazione pazienti volontari sani con indicato il sesso e l'età;

2.5 Apparecchiatura per l'acquisizione delle immagini, e software utilizzati per l'elaborazione

L'acquisizione dell'immagine morfologica e di quelle pesate in diffusione sono effettuate utilizzando un magnete Intera della *Philips Medical System (Best, Olanda)* operante a 3 Tesla, con una bobina a polarizzazione circolare per la ricezione e la trasmissione del segnale dedicata allo studio dell'encefalo, utilizzando gradienti con uno *slew-rate* (velocità di salita e discesa di un gradiente) di 80 (mT/m)/ms. I parametri principali dell'apparecchiatura sono riportati nella tabella 2.2 [22]:

Parametri per l'acquisizione dei dati DT-MRI		
Single-Shot Spin-Echo EPI assiale		
Direzioni non collineari	32	
TR (tempo di ripetizione)	8986	[ms]
TE (tempo di echo)	80	[ms]
Flip Angle	90°	
b-value	1000	[mm ² /s]
Numero di slices	56	
Spessore slices	2.5	[mm]
Gap	0	
Matrice	256×256	
FOV (Field Of View)	240	[mm]
Dimensione voxel di acquisizione	2.5×2.5×2.5	[mm]
Dimensione voxel di ricostruzione	0.94×0.94×2.5	[mm]
Numero di acquisizioni	1	
Numero di echi	1	
Fattore SENSE	2.5	
Tempo di acquisizione	5 m 25 s	

Tabella 2.2 Parametri di acquisizione. Nota: il Flip Angle è l'angolo del quale la magnetizzazione totale è ruotata rispetto alla direzione del campo, il Gap è la distanza tra le slice (quando è nulla il rumore è più basso), il FOV è l'area quadrata dell'immagine che contiene l'oggetto d'interesse (più basso è il suo valore, migliore è la risoluzione) e il fattore SENSE attiene alla riduzione del tempo di scansione;

Si descrivono, di seguito, alcuni software necessari per il trattamento delle immagini DTI, oppure da me impiegati per la particolare procedura (descritta nel paragrafo 2.6) per l'individuazione della soglia di significatività delle variazioni dei parametri dedotti dal tensore di diffusione.

- Le immagini fornite dallo scanner (le migliori, perché spesso immagini non ottimali vengono scartate alla fonte) sono date in input al software *Automatic Image Registration* (<http://bishopw.loni.ucla.edu/air5/>), AIR, che allinea le sezioni bidimensionali (*slice*) tra loro, centrando nell'immagine l'asse della sezione del cervello, e fornisce in output due sequenze di 32 immagini, una per ciascuna direzione del gradiente. Le sequenze sono due perché usualmente adoperate, tramite media, per ridurre il rumore.
- Il calcolo delle immagini pesate in diffusione è effettuato mediante un software dedicato (DtiStudio di *H. Jiang e S. Mori, Johns Hopkins University, Baltimore, MD, USA*). L'uso di DtiStudio ha permesso il calcolo delle mappe del tensore di diffusione e anche la sua visualizzazione, che include tre viste 2D ortogonali (coronale, assiale e sagittale) e una vista 3D tri-planare.
- Ai fini della procedura descritta nel paragrafo 2.6, le mappe ottenute attraverso Dti-studio per entrambe le sequenze di acquisizione di uno stesso paziente, vengono coregistrate⁵ per correggere la differenza di posizione del paziente nelle due acquisizioni, avvenute in tempi diversi. Trattandosi dello stesso soggetto nelle due immagini, la trasformazione adoperata per la coregistrazione è una semplice trasformazione rigida tridimensionale (sei parametri: tre traslazioni e tre rotazioni). In generale, la coregistrazione d'immagini neurologiche è importante poiché permette di visualizzare e analizzare immagini, sia funzionali sia strutturali anche di diversa risoluzione, in uno stesso sistema di riferimento; inoltre è utile per monitorare e quantificare l'evoluzione di malattie. In questo lavoro, la coregistrazione delle immagini è stata eseguita sfruttando strumenti già disponibili in SPM 8 (*Statistical Parametric Mapping*). SPM 8 è un pacchetto software, operante in ambiente Matlab, dotato di un'interfaccia semplice, di buona versatilità e con tempi di calcolo gestibili [23].

⁵ La coregistrazione è un'operazione che tiene conto di fattori come ad esempio la diversa posizione del paziente durante l'acquisizione dell'immagine e ha lo scopo di produrre la sovrapposizione, quanto più accurata possibile, fra le due mappe.

- I tessuti di un cervello possono essere classificati in tre classi principali: materia grigia (GM), materia bianca (WM) e liquido cerebrospinale (CSF), mentre all'interno della teca cranica sono presenti anche tessuti diversi quali il grasso. Un'operazione prevista dalla procedura di ricerca della soglia di significatività è la separazione dei tessuti veri e propri del cervello (WM, GM, CSF) dagli altri e dall'osso, conservando nell'immagine tridimensionale di output solo i primi (WM, GM, CSF). Il processo di *descalp* compie una prima classificazione dei voxel in due grandi classi: cervello/non cervello; dopo di che, stabilita una soglia iniziale basata semplicemente sull'intensità massima (pari a 0.6, in una scala dei livelli di grigio normalizzata da 0 a 1) e minima (0.2), vengono eliminate dall'immagine le zone troppo chiare (es. occhi e parte dello scalpo) o troppo scure (incluso lo scalpo e lo spazio esterno). Ottenuta quindi una maschera binaria, che poi sarà applicata all'immagine, è eseguita una sorta di clusterizzazione in due classi in cui il bordo che delimita i voxel appartenenti a ciascun cluster deve essere continuo e il più grande possibile. Per fare ciò si utilizza un algoritmo che parte dalle regioni più chiare e "erode" i voxel fino ad arrivare alla zona che separa il cervello da ciò che non è cervello [17]. Questo metodo è quasi completamente semi-automatico e all'utente è solamente richiesta la soglia da utilizzare per la segmentazione iniziale. Invece di implementare in Matlab l'algoritmo sopra descritto, per eseguire il *descalp* ho preferito adoperare uno strumento software già disponibile in Rete, ossia BET (*Brain Extraction Tool* <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/bet2>) [24].
- La procedura di ricerca della soglia di significatività, come si vedrà nel paragrafo 2.6, lavora separatamente sulle tre materie. Di conseguenza è necessario anche "segmentare".⁶ le immagini in WM, GM, CSF. Le mappe di probabilità, risultato del processo di segmentazione (in numero di tre, una per ciascuna classe principale di tessuto), contengono voxel i cui valori sono compresi tra zero e uno e rappresentano la probabilità che un voxel appartenga a GM, WM o CSF. Anche la segmentazione è stata eseguita, per il lavoro di questa Tesi, tramite SPM8.

⁶ La segmentazione è il processo di partizionamento di un'immagine in regioni (chiamate anche classi) che risultino omogenee rispetto ad una o più caratteristiche o peculiarità, sulla base di determinati criteri di appartenenza di un pixel ad una regione.

2.6 Metodo utilizzato: presentazione e commenti della procedura

Questo paragrafo descrive la procedura per il calcolo della soglia di significatività delle fluttuazioni dei parametri scalari derivati dal Tensore di Diffusione (p , q , FA, etc). Si rammenta che lo scopo è adoperare tale soglia nel *follow-up* di pazienti affetti da glioma, per accertare se l'evoluzione dei valori, voxel per voxel, delle mappe scalari calcolate prima e dopo un trattamento chemioterapico, sono significative o sono dovute solo al rumore implicito nelle immagini o dovuto all'elaborazione delle stesse.

La procedura è essenzialmente sperimentale, e parte dalle due sequenze di 32 immagini usualmente fornite dal medico radiologo per ciascun paziente (vedere il paragrafo precedente, e la tabella 2.2 in esso contenuta). Ogni immagine è caratterizzata da una particolare direzione del gradiente del campo magnetico durante l'acquisizione, e tra una sequenza e l'altra trascorre un periodo di tempo di alcuni minuti.

Ciascun'immagine è rappresentata in memoria di massa come una matrice tridimensionale di dimensioni 256x256x56 (x , y e z rispettivamente, dove z è la direzione assiale), i cui elementi contengono il valore dei pixel.

L'idea alla base del metodo è semplice:

- Partire dalle due sequenze, che rappresentano il medesimo paziente e quindi dovrebbero mostrare la medesima immagine se non vi fosse rumore strumentale e di ricostruzione;
- Calcolare le mappe scalari (FA, p , q , etc) separatamente per le due sequenze; ciò fornisce le mappe FA_1 , p_1 , q_1 , etc e le mappe FA_2 , p_2 , q_2 , etc per le due sequenze rispettivamente;
- Calcolare le differenze (punto per punto, mappa per mappa, e materia per materia) $\Delta p = p_2 - p_1$, etc. Considerando le distribuzioni di queste differenze, dovute solo a rumore e al processo di ricostruzione/coregistrazione, è possibile calcolarne la larghezza e stabilire una soglia sopra la quale una variazione Δp è ritenuta significativa;
- Naturalmente non si limita il calcolo a un solo soggetto, ma lo si ripete per più pazienti allo scopo di determinare una soglia (per ciascuna mappa, per ciascuna materia) statisticamente significativa.

Segue in dettaglio la procedura, che riguarda la prima delle due sequenze di 32 immagini (tridimensionali) che competono a un paziente, ed è poi reiterata per la seconda passata e per tutti i pazienti.

1. Dalla prima sequenza di 32 immagini di un paziente, allineate da AIR, con DtiStudio si ricavano:
 - 1.1 Le mappe scalari che caratterizzano il tensore di diffusione, in particolare quelle riguardanti i tre autovalori (L1, L2, L3), la mappa di anisotropia FA e la mappa di isotropia TR; le indicheremo esplicitando come pedice la sequenza numero 1, e.g. FA_1 .
 - 1.2 Un'immagine morfologica B_{01} calcolata dalla media delle 32 immagini nelle varie direzioni del gradiente e una morfologica di gradiente nullo.
2. Attraverso l'utilizzo di uno script in Matlab dal nome *mappe_pq.m*, già utilizzato e illustrato in lavori precedenti [15] [16], si determinano le mappe di isotropia (p_1) e anisotropia (q_1).
3. Considerando la morfologica B_{01} , ottenuta nel punto 1.2, per eliminare la parte di tessuto non cerebrale (l'osso, il grasso) si utilizza BET, descritto in precedenza, con un parametro di sogliatura (che determina il grado di *desalp*, e deve essere "aggiustato" in base alle immagini) pari a 0.2. BET fornisce in output, oltre alla B_0 descalpata B_{01_des} , anche una sua maschera binaria, che indicheremo con $B_{01_des_maschera}$ e servirà nelle prossime fasi della procedura. La maschera binaria ha solo due valori: uno se il corrispondente pixel in B_{01_des} è non nullo, e zero altrimenti.
4. Utilizzando SPM (paragrafo 2.5), si segmenta la morfologica descalpata ottenuta nel punto 3, B_{01_des} , per ottenere le maschere delle tre materie: WM_1 , GM_1 , CSF_1 . Queste maschere binarie hanno valore "1" laddove la B_{01_des} contiene un pixel della corrispondente materia, "0" altrimenti. La sovrapposizione delle tre maschere è uguale alla maschera $B_{01_des_maschera}$:

$$WM_1 \text{ OR } GM_1 \text{ OR } CSF_1 = B_{01_des_maschera}$$

5. Le mappe di isotropia p_1 e di anisotropia q_1 ottenute al punto 2, e le mappe come la FA_1 ottenute direttamente al punto 1.1, vengono anch'esse descalpate.

Per far questo si utilizza uno script in Matlab dal nome *desalp.m* che, attraverso una moltiplicazione puntuale pixel-pixel (elemento per elemento delle matrici), applica la maschera della morfologica $B_{01_des_maschera}$ ottenuta nel punto 3, alle varie mappe, e.g.:

$$p1_des = B_{01_des_maschera} \cdot p1$$

La procedura testé dettagliata è eseguita anche per la seconda passata di ogni singolo paziente, ad eccezione della segmentazione della morfologica (nel punto 4) che dev'essere eseguita una volta sola. Il risultato della procedura è un insieme d'immagini (per ciascun paziente sano) contenente:

B_{01_des} , $B_{01_des_maschera}$,

WM_1 , GM_1 , CSF_1 ,

p_{1_des} , q_{1_des} , $FA_{1_des}, \dots$

p_{2_des} , q_{2_des} , $FA_{2_des}, \dots$

Mentre le mappe della prima sequenza sono coregistrate tra loro in automatico, grazie al programma AIR, e ugualmente lo sono tra loro quelle della seconda sequenza, non è affatto garantito che la prima e la seconda sequenza di acquisizione siano coregistrate l'una con l'altra (le due sequenze, nella nostra trattazione non vengono mai trattate contemporaneamente). Viene allora eseguita una coregistrazione, perché in seguito vorremo sottrarre voxel a voxel le maschere omologhe (tra le due sequenze) per determinare la variazione dei rispettivi valori dovuta esclusivamente al rumore.

Riprendendo e approfondendo quanto accennato nel Capitolo 2, ricordiamo che con il termine “coregistrazione di immagini” s'intende un insieme di metodi automatici o semiautomatici che correlano spazialmente la posizione reciproca di due *data set* acquisiti o in tempi differenti o con tecniche di *imaging* diagnostico diverse (appartenenti o no a uno stesso paziente), in uno stesso sistema di coordinate. Pertanto avremo un'immagine di riferimento (o fissa, o *target*) e altre immagini di origine (o *mobili*, o *moving*); la procedura di coregistrazione permette di individuare la trasformazione spaziale che, applicata pixel per pixel all'immagine di origine, porta quest'ultima ad assomigliare all'immagine di riferimento.

Nel nostro caso per ogni paziente, i *target* sono rappresentati dalle mappe descalpate della prima sequenza di acquisizione (p_{1_des} , q_{1_des} , FA_{1_des} , ...), mentre quelle mobili saranno le omologhe della seconda sequenza di acquisizione (p_{2_des} , q_{2_des} , FA_{2_des} , ...). Nelle figure 2.1 e 2.2, mostriamo come avvenga la coregistrazione, che in modo del tutto analogo è applicata anche alla FA e ad altre mappe d'interesse. Siccome nella parte sperimentale mi sono occupato solo di p e q , d'ora in poi ometterò di citare le altre possibili mappe, fermo restando che l'intera trattazione può essere ripetuta su qualsivoglia mappa scalare ricavata dal tensore di diffusione.

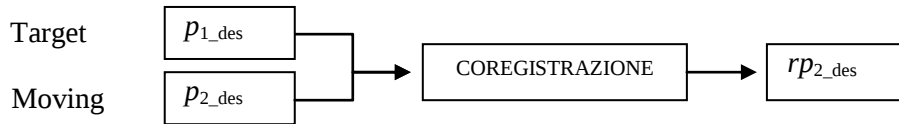


Figura 2.1: Coregistrazione delle mappe p descalsate relative alle due sequenze di acquisizione di ogni paziente. La mappa rp_{2_des} è la p_{2_des} dopo essere stata coregistrata con il target.

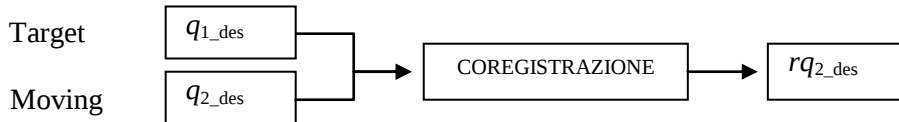


Figura 2.2: Coregistrazione delle mappe q descalsate relative alle due sequenze di acquisizione di ogni paziente. La mappa rq_{2_des} è la q_{2_des} dopo essere stata coregistrata con il target.

Dopo aver eseguito il processo di coregistrazione (Figura 2.1e 2.2) si può affermare che le mappe di isotropia (p) e anisotropia(q) estratte dalla prima e dalla seconda sequenza di acquisizione di uno stesso paziente sono tutte coregistrate (e quindi sovrapponibili) tra loro, a meno dell'errore che si può commettere nella fasi di coregistrazione con SPM, minimizzabile ma comunque inevitabile. Ciascun paziente ha dunque associato il seguente insieme di immagini tridimensionali (conserviamo solo p e q , ed esclusivamente le mappe utili per il resto della trattazione):

WM₁, GM₁, CSF₁;

p_{1_des} , q_{1_des} ;

rp_{2_des} , rq_{2_des} ;

Essendo tutte le immagini ora coregistrate tra loro, è possibile:

- a) Sottrarre voxel a voxel mappe omologhe delle due passate, ad esempio:

$$\Delta p = rp_{2_des} - p_{1_des} \qquad \Delta q = rq_{2_des} - q_{1_des}$$

Operazione che permette di calcolare la mappa di variazioni di isotropia, indicata con Δp , e quella di variazioni di anisotropia, Δq .

- b) Applicare poi le maschere WM₁, GM₁, CSF₁ a Δp e Δq , estraendone i soli voxel riguardanti le rispettive materie, con operazioni quali: $\Delta p_{WM} = \Delta p \cdot WM_1$, e analogamente per le altre materie e per la mappa di anisotropia (per un totale di sei

mappe: Δp_{WM} , Δp_{GM} , Δp_{CSF} , Δq_{WM} , Δq_{GM} , Δq_{CSF}). Dalle mappe così calcolate, è possibile inferire le corrispondenti distribuzioni (che indicheremo con lo stesso nome, per non appesantire la notazione) tramite il calcolo degli istogrammi.

Si comprende perché fosse inutile segmentare anche la B_{02} , cosa necessaria se le immagini non fossero state tutte coregistrate (ricordiamo che si tratta d'immagini del medesimo paziente, quindi la coregistrazione è rigida).

Dalle distribuzioni Δp_{WM} , Δp_{GM} , etc (che, vedremo nel Capitolo 3, saranno con buona approssimazione gaussiane) sarà possibile calcolare la media (presumibilmente nulla, come verificheremo) e la deviazione standard. Quest'ultima grandezza, quantificata su tutti i pazienti del dataset descritto nel paragrafo 2.4, sarà usata per individuare la soglia di significatività delle fluttuazioni dei valori scalari corrispondenti.

Lo script Matlab che realizza i punti (a) e (b) dell'elenco precedente è chiamato *threshold*, ed è commentato nel paragrafo 2.6.1. Esso (Figura 2.3) accetta in input le tre maschere (WM_1 , GM_1 , CSF_1) risultato della segmentazione, la mappa p_{1_des} descalpata della prima sequenza di acquisizione (rispettivamente la mappa q_{1_des}) e la mappa rp_{2_des} ottenuta dal procedimento di coregistrazione (Fig 2.1) (rispettivamente rq_{2_des} , Fig. 2.2).

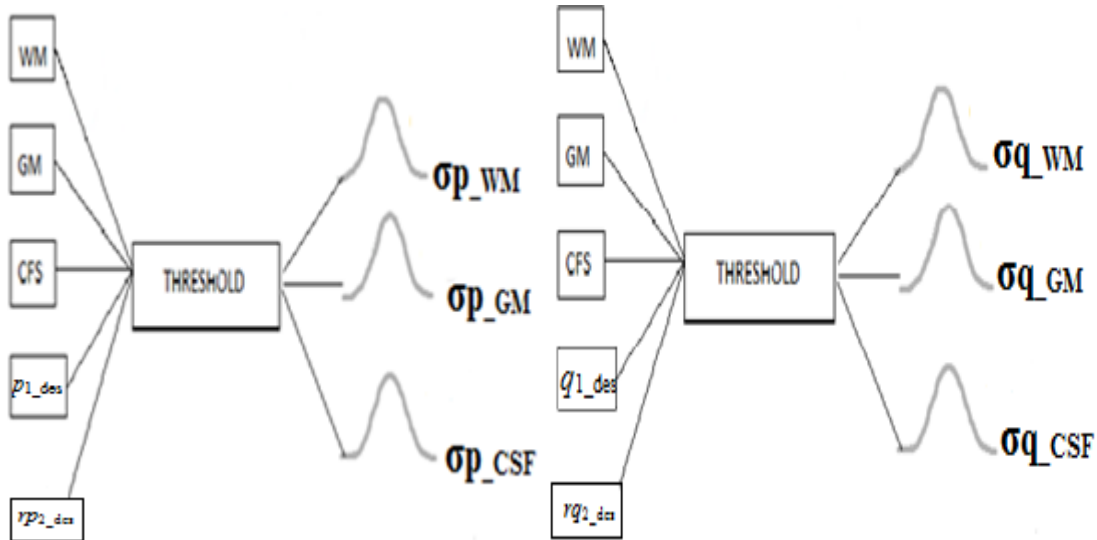


Figura 2.3: Rappresentazione grafica dell'applicazione dello script matlab *threshold*, che permette di ricavare degli istogrammi che si riferiscono alle mappe Δp e Δq dopo l'applicazione delle mappe di probabilità WM, GM, CSF.

Threshold, dopo aver eseguito la differenza fetta-fetta e pixel-pixel tra le mappe che gli vengono fornite in input (punto *a* dello schema precedente), applica le tre mappe di probabilità (WM_1 , GM_1 , CSF_1) al risultato (punto *b*), ottenendo in questo modo tre segmentazioni per ciascun tipo di mappa, che rappresentano i tre compartimenti dell'encefalo.

Per ognuna di queste segmentazioni si calcola un istogramma delle intensità che approssima la distribuzione dei livelli di grigio. Una volta costruito l'istogramma, lo stesso *threshold* è in grado di fittare i dati ottenuti con una distribuzione normale (o curva di Gauss) che meglio li rappresenta, e fornisce i parametri del fit.

Il risultato dell'analisi sarà, per ogni paziente, una n-pla di gaussiane di mappe Δp e Δq , con applicate le tre maschere di probabilità (GM, WM, CSF), con la loro media μ (normalmente prossima allo zero) e una deviazione standard σ ; queste ultime:

$$\sigma p_{WM}, \sigma p_{GM}, \sigma p_{CSF}, \sigma q_{WM}, \sigma q_{GM}, \sigma q_{CSF}$$

Costituiscono i parametri che ci consentiranno di definire, per ciascuna materia e per isotropia e anisotropia, una soglia caratteristica di significatività.

2.6.1 Descrizione dello script

Lo script di Matlab utilizzato in questa tesi, implementato con l'aiuto dei miei relatori, è lo script *threshold*, che fornisce un istogramma di un'immagine a toni di grigio, usato comunemente per la caratterizzazione dell'immagine stessa, e definito come un vettore che misura il numero di pixel per ogni livello di grigio (o per ogni range predefinito di livelli di grigio) e quindi (normalizzando) la frequenza con la quale un determinato livello o range si presenta.

Questo script richiede come dati in input (Figura 2.3) le tre maschere estratte dal processo di segmentazione della morfologica, e le mappe *p* o *q* relative a entrambe le sequenze di acquisizione, più un parametro di *bin* che rappresenta il numero di intervalli in cui si vuole dividere l'intervallo di variabilità dei dati a disposizione. L'intestazione del programma è dunque:

```
function threshold(maskGM, maskWM, maskCSF, map1, map2, bin)
```

Il programma richiede due tool di matlab che consentono rispettivamente l'apertura e il trattamento di file di immagini di risonanza (*NIFTI*), e di eseguire un fit con una distribuzione normale o curva di Gauss (*Ezyfit*).

Il frammento di codice che segue (Figura 2.4), si occupa di caricare in memoria le mappe di probabilità in formato *.nii*, e di trasformarle in maschere vere e proprie. Esso carica poi le due mappe di isotropia (o anisotropia) corrispondenti alle due sequenze.

```
maskuno = load_nii(maskGM);
img1 = maskuno.img;
img1=img1>0.5;

maskdue = load_nii(maskWM);
img2 = maskdue.img;
img2=img2>0.5;

masktre = load_nii(maskCSF);
img3= masktre.img;
img3=img3>0.5;

mappa1=load_nii(map1);
mapp1 = mappa1.img;

mappa2=load_nii(map2);
mapp2 = mappa2.img;
```

Figura 2.4: Caricamento dati di input per threshold.

Il comando `img=img>0.5`, utilizzato per ogni maschera, è un filtro dovuto al fatto che il processo di segmentazione in SPM fornisce delle mappe di probabilità e non delle vere e proprie maschere (sequenze binarie di 0 e 1). La trasformazione in maschera avviene in queste righe.

Si esegue poi (codice seguente) la differenza tra le due mappe caricate in input, dopo di che si applicano le maschere al risultato della differenza delle mappe attraverso i seguenti comandi:

```
diff=mapp1 - mapp2;
DiffGM = diff .* single(img1);
DiffWM = diff .* single(img2);
DiffCSF = diff .* single(img3);
```

In seguito, è costruito l'istogramma (con un numero "bin" di intervalli) mediante il seguente comando (per la materia grigia):

```
[N1, X1] = hist(DiffGM(:), bin);
```

Si normalizza, cioè si calcola l'area e si divide il contenuto di ciascun bin per l'area (l'istogramma normalizzato approssima la distribuzione, e consente di confrontare più facilmente istogrammi differenti). Si richiama poi il pacchetto di Matlab, *Ezyfit*, che permette di fittare i dati a disposizione con una distribuzione gaussiana, tenendo in considerazione la seguente formula:

$$f(x) = \frac{A}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-x_0}{\sigma}\right)^2} \quad (2.1)$$

A è un coefficiente di normalizzazione, σ lo scarto quadratico medio, con x un generico livello di grigio della mappa considerata, e x_0 il valore medio dei dati.

Il programma mostra a video i risultati e restituisce tutti i parametri che caratterizzano la (2.1). I comandi implementati per fare tutto ciò sono:

```
f = ezfit('gauss')
showfit(f);
editcoeff(f);
```

Il procedimento appena illustrato è eseguito, per ogni paziente, sulle mappe (Δp e Δq) applicando le tre maschere di probabilità (WM,GM,CSF).

Listato completo dello script *threshold*

```
function threshold(maskGM, maskWM, maskCSF, map1, map2, bin)

%%%      ESEMPIO
%%%  threshold('c1paz.nii','c2paz.nii','c3paz.nii','paz_mappap','rpaz_2_mappap', 1000)

addpath ... \NIFTI_20100819
addpath ... \ezyfit
close all

maskuno = load_nii(maskGM);
img1 = maskuno.img;
img1=img1>0.5;

maskdue = load_nii(maskWM);
img2 = maskdue.img;
img2=img2>0.5;

masktre = load_nii(maskCSF);
img3= masktre.img;
img3=img3>0.5;

mappal=load_nii(map1);
mapp1 = mappal.img;

mappa2=load_nii(map2);
mapp2 = mappa2.img;
```

```

diff=mapp1-mapp2;

DiffGM = diff .* single(img1);
DiffWM = diff .* single(img2);
DiffCSF = diff .* single(img3);

[N1, X1] = hist(DiffGM(:), bin);          %%% DISEGNA L'ISTOGRAMMA;

%%% MATERIA GRIGIA

maxN1=max(N1);
j1=find(N1==maxN1);
med1=(N1(j1-1)+N1(j1+1))/2;
N1(j1)=med1;
diffpunti1=(256*256*56)-maxN1+med1;
areal=diffpunti1*(X1(2)-X1(1)); % PER CONTROLLARE CHE L'AREA DELL' ISTOGRAMMA SIA 1;
NORM1=N1/areal;
bar (X1,NORM1)
title('grey matter')
f = ezfit('gauss'); % FITTA I DATI CON UNA DSITRIBUZIONE GAUSSIANA;
f % MOSTRA A VIDEO LA STRUTTURA DEI FIT;
showfit(f); % MOSTRA A VIDEO IL FIT;
editcoeff(f); % CALCOLA I COEFFICIENTE CARATTERISTICI DELLA GAUSSIANA;

%%% MATERIA BIANCA

figure
[N2, X2] = hist(DiffWM(:), bin);
maxN2=max(N2);
j2=find(N2==maxN2);
med2=(N2(j2-1)+N2(j2+1))/2;
N2(j2)=med2;
diffpunti2=(256*256*56)-maxN2+med2;
area2=diffpunti2*(X2(2)-X2(1));
NORM2=N2/area2;
bar (X2,NORM2)
title('white matter')
f = ezfit('gauss');
f
showfit(f);
editcoeff(f);

%%% MATERIA LIQUIDO CEREBROSPINALE

figure
[N3, X3] = hist(DiffCSF(:), bin);
maxN3=max(N3);
j3=find(N3==maxN3);
med3=(N3(j3-1)+N3(j3+1))/2;
N3(j3)=med3;
diffpunti3=(256*256*56)-maxN3+med3;
area3=diffpunti3*(X3(2)-X3(1));
NORM3=N3/area3;
bar (X3,NORM3)
title('cerebrospinal fluid')
f = ezfit('gauss');
f
showfit(f);
editcoeff(f);

end

```

CAPITOLO 3

Risultati e Commenti

In questo capitolo, prima della presentazione dei risultati finali del lavoro, sono fornite (paragrafo 3.1) una serie d'immagini DTI dell'encefalo, messe in relazione con le differenti fasi della procedura esposta in 2.6; queste immagini, riferite a un unico paziente sano, sono un supporto alla comprensione del metodo attuato e permettono di verificare come, partendo da due sequenze d'immagini morfologiche, si giunga, attraverso la ricostruzione di mappe di isotropia e di anisotropia, all'analisi statistica delle fluttuazioni dei valori di p e di q legati a fenomeni casuali; in questa parte del capitolo si ripeteranno talune informazioni date nel Capitolo 2 allo scopo di rendere più agevole la lettura dei risultati via via presentati.

Nel paragrafo 3.2 saranno invece riportati i risultati dell'analisi statistica su tutti i pazienti, e si osserverà come da quest'analisi si possa giungere alla definizione di una soglia caratteristica per ciascuna mappa da utilizzare per lo studio di pazienti affetti da glioma cerebrale, sottoposti a trattamento e *follow-up* del quale si voglia conoscere l'esito.

Dopo un commento sui risultati (3.3) si mostreranno dei casi clinici applicativi in soggetti affetti da glioma(3.4).

3.1 Risultati della procedura eseguita su un singolo paziente

Come descritto nel capitolo precedente (paragrafo 2.6) per individuare l'entità della fluttuazione casuale (fisiologica, dovuta al rumore e alla procedura di ricostruzione e coregistrazione delle immagini) dei parametri scalari calcolati dal Tensore di diffusione, si elaborano due sequenze di immagini, e poi la procedura descritta è ripetuta analogamente per tutti i pazienti.

Attraverso Dti-Studio che genera alcune mappe del tensore di diffusione (punto 1.1 del paragrafo 2.6) si calcolano le mappe di isotropia (p) e anisotropia (q) utilizzando uno script in Matlab realizzato dal Gruppo e chiamato *mappepq* (cfr punto 2 del paragrafo 2.6). In figura 3.1 sono riportate rispettivamente una *slice* della mappa p e una della mappa q non descalpate; si può notare come nelle mappe q la diffusione delle molecole d'acqua segua la direzione delle fibre nervose presenti nell'encefalo e ne suggerisca forma e andamento.

L'immagine morfologica B_0 ottenuta attraverso Dti-Studio (punto 1.2) viene descalpata attraverso l'utilizzo del software BET (punto 3). Nella figura 3.2 si riporta l'immagine morfologica prima e dopo il descalp, per mettere in risalto l'assenza di osso.

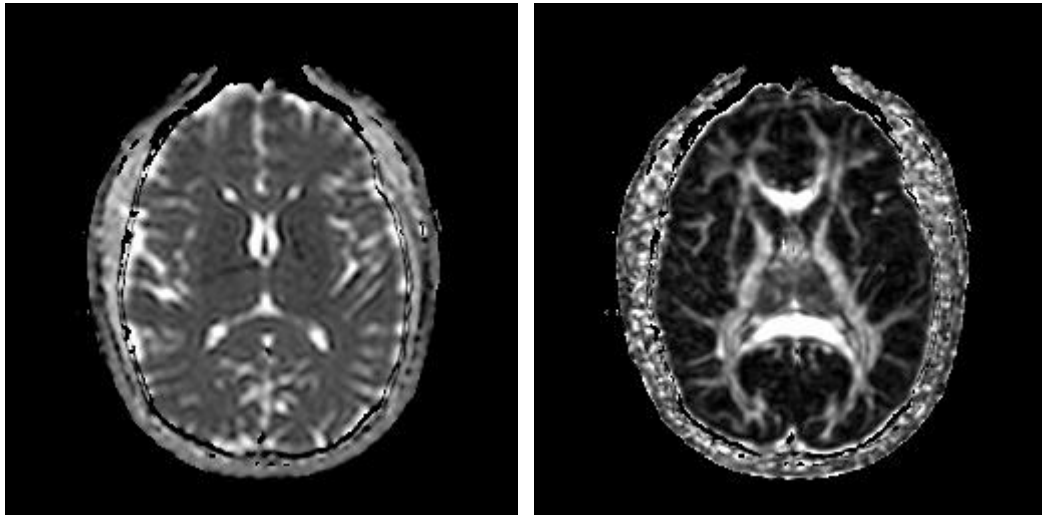


Figura 3.1: Mappa di isotropia (p) a sinistra, e mappa di anisotropia (q) a destra;

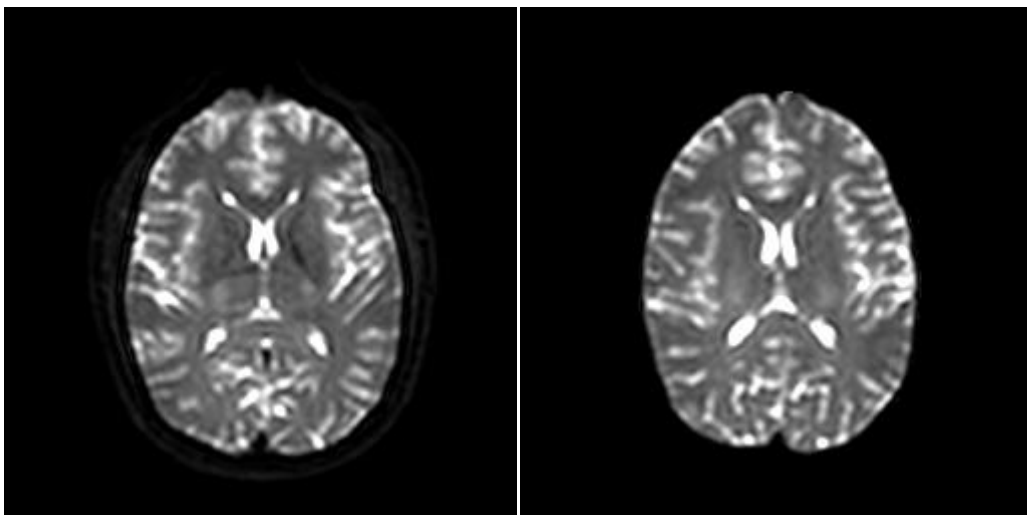


Figura 3.2: Immagine morfologica B_0 prima e dopo il descalp;

A questo punto affinché anche le mappe p e q ottenute in precedenza risultino anch'esse descalpate, si utilizza uno script in Matlab chiamato *descalp* (punto 5) che applica la maschera della morfologica ottenuta attraverso BET, alle mappe di isotropia e anisotropia.

Nella Figura 3.3 sono riportate le mappe p e q descalpate. Si può notare, rispetto alla fig 3.1, come sia stato eliminato tutto il segnale sul contorno dell'encefalo, non dovuto al tessuto cerebrale. Eliminare lo scalp è importante in quanto aiuta la procedura nella fase di segmentazione delle tre materie.

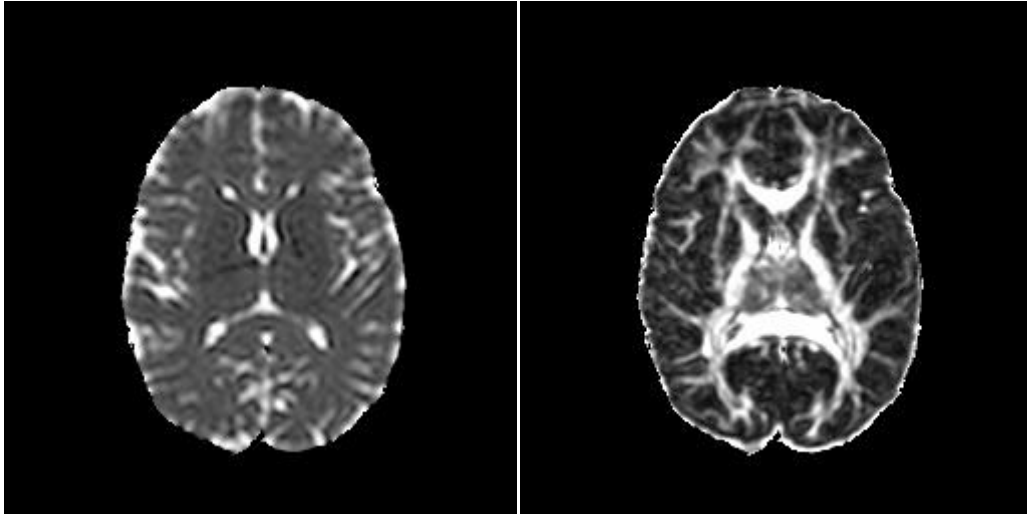


Figura3.3: Mappa di isotropia p (a sinistra) e mappa di anisotropia q (a destra) descalpate;

La segmentazione, effettuata attraverso SPM 8 (punto 4), lavora sulla morfologica B_0 descalpata e per confronto con tre *template* suddivide il cervello nelle sue principali componenti: materia grigia GM, materia bianca WM, liquido cerebrospinale CSF, in modo che la misura della fluttuazione casuale dei valori delle mappe possa essere fatta singolarmente a seconda delle necessità (ad esempio, per il glioma saremo maggiormente interessati alla materia bianca perché lì risiede il tumore, mentre per altre patologie potrebbe essere utile conoscere la fluttuazione casuale in altri tessuti). (figura 3.4) [23]. Dalle mappe di probabilità, applicando una soglia, si arriva alle maschere di segmentazione WM_1 , GM_1 , CSF_1 .



Figura 3.4 Mappe di probabilità rispettivamente per GM, WM, CSF;

Analoga procedura è applicata alle immagini appartenenti alla seconda sequenza di acquisizione dello stesso paziente, con l'unica differenza riguardante la determinazione delle mappe di probabilità che non è eseguita, perché le mappe della seconda sequenza di ogni paziente vengono coregistrate alla mappe della prima sequenza.

Dopo aver eseguito queste operazioni, si fa in modo che le mappe di entrambe le sequenze di acquisizione appartenenti ad uno stesso paziente siano tutte coregistrate tra loro, allo scopo di ridurre l'influenza di artefatti (esposti nel paragrafo 2.3) dovuti ad una coregistrazione insufficiente, e poi effettuare la differenza pixel-pixel. Nel processo di coregistrazione le immagini di riferimento che rimangono stazionarie sono le mappe p e q descalpate della prima sequenza, mentre le immagini mobili che subiscono una trasformazione spaziale finché non si sovrappongono a quelle di riferimento sono le mappe p e q descalpate della seconda sequenza. Per ottenere la trasformazione è necessario mappare le posizioni di ogni voxel dell'immagine di riferimento nelle corrispondenti posizioni dell'immagine mobile, in questo modo l'immagine mobile è rimodellata nelle nuove posizioni.

Utilizzando lo script *threshold* (descritto nel paragrafo 2.6.1), che richiede in input le tre mappe di probabilità e le relative mappe p e q , vengono creati e visualizzati i corrispondenti istogrammi e viene eseguito un fit con una distribuzione gaussiana. In uscita lo script restituisce sei istogrammi relativi ai due tipi di mappe e alle tre segmentazioni (WM, GM, CSF), e i parametri dei fit.

In figura 3.5 sono presentati tre istogrammi che si riferiscono all'applicazione delle tre maschere (GM,WM,CSF) alla mappa isotropica (Δp) risultante della differenza tra la mappa p della prima sequenza di acquisizione e la mappa p della seconda sequenza di acquisizione(coregistrata).

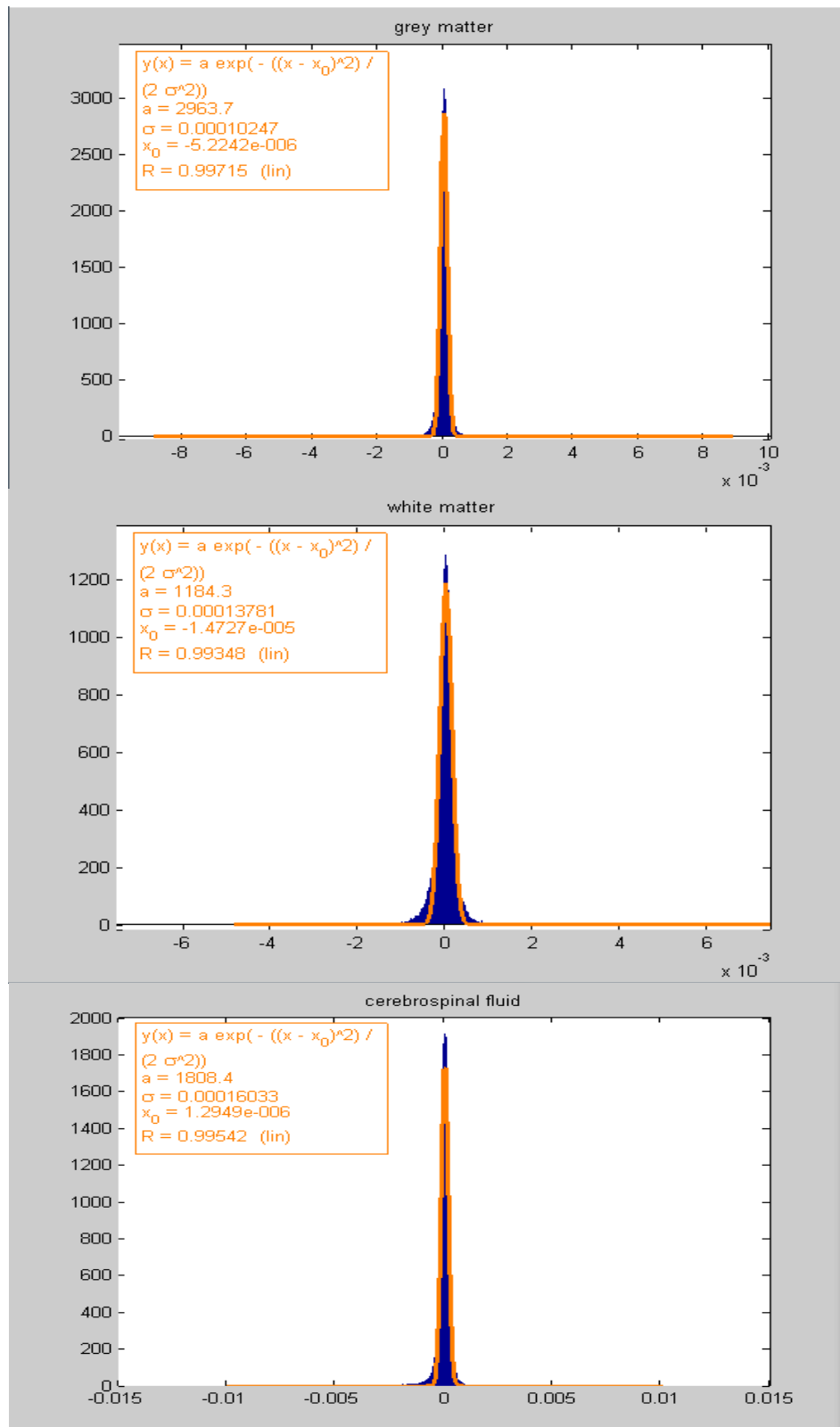


Figura 3.5: Istogrammi di fluttuazioni di p rispettivamente nella materia grigia (GM), nella materia bianca (WM) e nel liquido cerebro spinale (CSF), forniti dallo script threshold.

Nella tabella 3.1 sono riportati i parametri del fit degli istogrammi di figura 3.5 con la curva gaussiana, dove è indicato con A il coefficiente di normalizzazione, con σ lo scarto quadratico medio, x_0 il valore medio dei livelli di grigio, secondo la formula (2.1). Con R, infine, viene indicato il coefficiente di correlazione che offre una stima della bontà del fit.

	Mappa_p_CSF	Mappa_p_GM	Mappa_p_WM
A	3249,6	4246,9	3902,8
$\sigma[\text{mm}^2/\text{s}]$	1,07E-04	9,02E-05	9,69E-05
$x_0[\text{mm}^2/\text{s}]$	1,22E-05	3,41E-06	-7,20E-06
R	0,9935	0,99891	0,99826

Tabella 3.1: Parametri di fit delle distribuzioni di valori della mappa di isotropia con l'applicazione delle tre maschere di segmentazione;

In figura 3.6 sono presentati tre istogrammi della fluttuazione casuale di anisotropia (Δq) relativi alle segmentazioni (GM,WM,CSF); tale fluttuazione è stata calcolata dalla differenza tra la mappa q della prima sequenza e la mappa q della seconda sequenza di acquisizione (coregistrata)

Nella tabella 3.2 sono riportati i valori degli istogrammi fittati con la curva gaussiana di figura 3.6, dove anche in questo caso indichiamo con A il coefficiente di normalizzazione, con σ lo scarto quadratico medio, con x_0 il valor medio dei livelli di grigi e con R il coefficiente di correlazione.

	Mappa_q_CSF	Mappa_q_GM	Mappa_q_WM
A	6417,5	6969	5481,3
$\sigma[\text{mm}^2/\text{s}]$	5,46E-04	5,46E-05	6,79E-05
$x_0[\text{mm}^2/\text{s}]$	1,73E-02	8,69E-06	5,01E-06
R	0.9956	0,99864	0,99687

Tabella 3.2 :Valori Parametri di fit delle distribuzioni di valori della mappa di anisotropia con l'applicazione delle tre maschere di segmentazione;

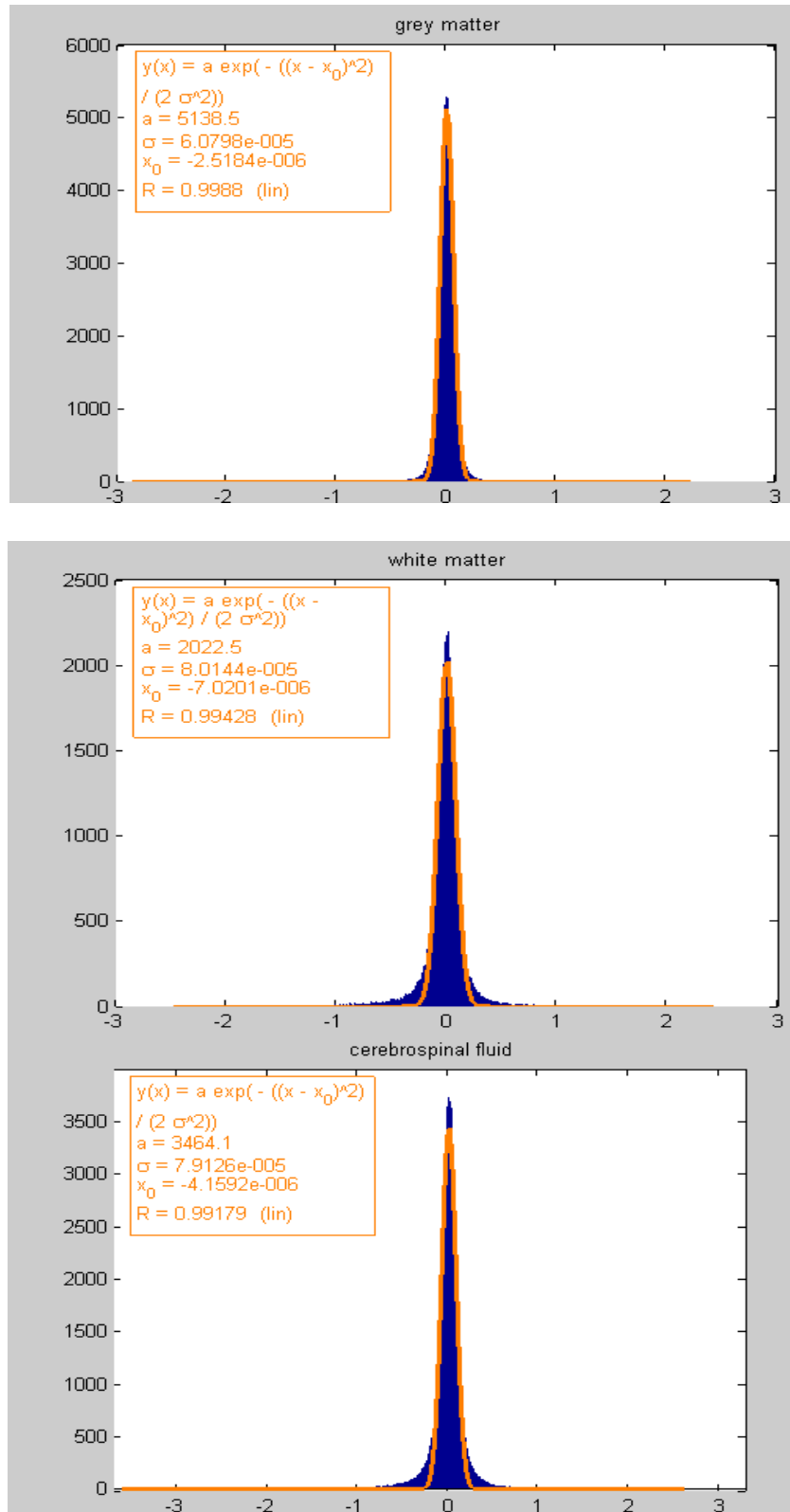


Figura 3.6: Istogrammi di Δq per GM, WM e CSF, forniti dallo script *threshold*;

Com'è possibile notare dagli istogrammi presentati nelle figure 3.5 e 3.6, e dalla forma delle gaussiane che meglio li approssimano, le distribuzioni non sono realmente gaussiane, e si differenziano dalla curva normale soprattutto in corrispondenza delle code. Il fatto che gli istogrammi siano più larghi di una gaussiana mi ha anche portato a supporre che un fit con distribuzioni diverse potesse essere auspicabile, e in particolare ho provato un fit con una lorentziana:

$$g_L(\Delta\omega) = \frac{2}{\pi\Delta\omega_0} \left(\frac{1}{1 + \left(2 \frac{\Delta\omega}{\Delta\omega_0}\right)^2} \right)$$

che tende ad avere le code più “importanti” rispetto ad una curva normale. Il risultato però è stato peggiore, perché la lorentziana ha, effettivamente, le code più intense, ma è anche più bassa della gaussiana, a parità di larghezza a mezza altezza (Figura 3.7).

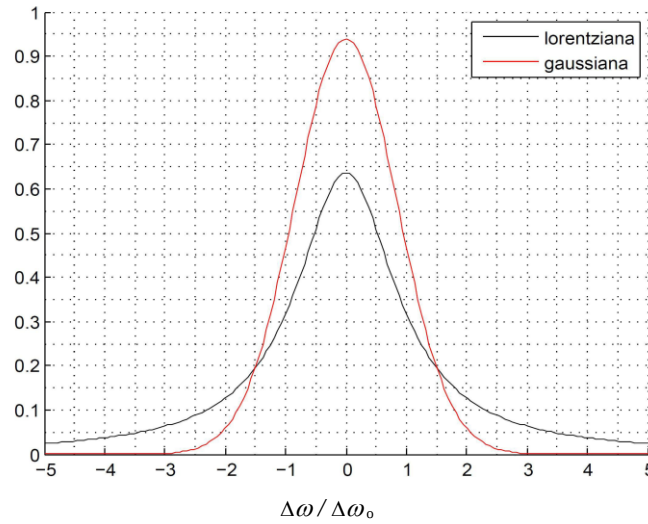


Figura 3.7: Confronto tra distribuzioni lorentziana $g_L(\Delta\omega)$ e gaussiana $g_G(\Delta\omega)$ aventi la medesima larghezza a mezza altezza (FWHM) pari a $\Delta\omega_0$. Il legame tra la σ della gaussiana e la sua FWHM è: $\Delta\omega_0 = 2\sigma\sqrt{2\ln 2}$;

Trascurando dunque al momento le code, sulle quali s'indagherà in futuro, e considerando che il valore di soglia di significatività per le variazioni delle grandezze misurate dalle mappe scalari del Tensore di Diffusione saranno comunque approssimative e di massima, si è deciso di considerare buono l'accordo con il fit gaussiano, il che porti a considerare la distribuzione dei valori dei pixel delle mappe (Δp e Δq) approssimativamente normali, e caratterizzate da media e deviazione standard, valori sui quali faremo le nostre considerazioni.

3.2 Risultati della procedura eseguita su tutti i pazienti

Il calcolo presentato è stato svolto anche per i restanti pazienti (tabelle 3.3, 3.4 e 3.5).

	Mappa_p_WM	Mappa_q_WM
Paziente_1	A 3202,8 σ 9,69E-05 x_0 -7,20E-06 R 0,9983	A 5481,7 σ 6,79E-05 x_0 -5,01E-06 R 0,9969
Paziente_2	A 5329,7 σ 7,14E-05 x_0 -8,15E-06 R 0,99871	A 7665,5 σ 4,92E-05 x_0 -1,15E-06 R 0,99816
Paziente_3	A 3982,8 σ 9,25E-05 x_0 -9,54E-07 R 0,99731	A 6078,4 σ 6,10E-05 x_0 6,59E-07 R 0,99738
Paziente_4	A 3562,7 σ 9,89E-05 x_0 2,52E-06 R 0,99625	A 4667,8 σ 7,86E-05 x_0 2,12E-06 R 0,99723
Paziente_5	A 3149,4 σ 1,10E-04 x_0 4,08E-06 R 0,99581	A 3852,8 σ 9,26E-05 x_0 4,66E-06 R 0,99573
Paziente_6	A 1184,3 σ 1,38E-04 x_0 -1,47E-05 R 0,99348	A 2022,5 σ 8,01E-05 x_0 -7,02E-06 R 0,99428
Paziente_7	A 661,59 σ 1,24E-04 x_0 5,24E-06 R 0,9904	A 762,35 σ 7,30E-05 x_0 3,69E-06 R 0,99044
Paziente_8	A 4048,9 σ 9,16E-05 x_0 2,44E-06 R 0,99764	A 6901,9 σ 5,49E-05 x_0 -8,32E-07 R 0,99812

Tabella 3.3: Valori di A, σ [mm²/s], x_0 [mm²/s] e R del fit gaussiano degli istogrammi di Δp e di Δq per la materia bianca WM.

	Mappa_p_GM	Mappa_q_GM
Paziente_1	A 4246.9 σ 9,02E-05 x_0 3,41E-06 R 0,9989	A 6969 σ 5,46E-05 x_0 8,69E-06 R 0,9986
Paziente_2	A 4878 σ 7,53E-05 x_0 -1,19E-05 R 0,99742	A 7849,6 σ 4,61E-05 x_0 -3.97E-06 R 0,99647
Paziente_3	A 3580,4 σ 1,00E-04 x_0 -1,41E-07 R 0,99634	A 7046,2 σ 5,06E-05 x_0 1,59E-07 R 0,99698
Paziente_4	A 2807,3 σ 1,24E-04 x_0 6,17E-06 R 0,99284	A 5111,6 σ 7,31E-05 x_0 7,70E-07 R 0,99714
Paziente_5	A 3268,9 σ 1,12E-04 x_0 8,66E-06 R 0,9971	A 5063,3 σ 7,31E-05 x_0 2,32E-06 R 0,9967
Paziente_6	A 2963,7 σ 1,02E-04 x_0 -5,22E-05 R 0,99715	A 5138,5 σ 6,08E-05 x_0 -2,52E-06 R 0,9988
Paziente_7	A 1939,7 σ 1,14E-04 x_0 9.46E-06 R 0,9936	A 2973,8 σ 7,14E-05 x_0 5.17E-07 R 0,9977
Paziente_8	A 3928,2 σ 1,09E-04 x_0 9.58E-06 R 0,99569	A 7304,8 σ 5,00E-05 x_0 -4.28E-07 R 0,99704

Tabella 3.4: Valori di A , σ [mm²/s], x_0 [mm²/s] e R del fit gaussiano degli istogrammi di Δp e di Δq per la materia grigia GM.

	Mappa_p_CSF	Mappa_q_CSF
Paziente_1	A 3249,6 σ 1,07E-04 x_0 -1,22E-05 R 0,9935	A 6417,5 σ 5,46E-04 x_0 1,73E-02 R 0,9956
Paziente_2	A 3382,5 σ 1,03E-04 x_0 -1,71E-05 R 0,99281	A 5759,8 σ 5,63E-05 x_0 -5,40E-06 R 0,98864
Paziente_3	A 2602 σ 1,27E-04 x_0 -2,32E-05 R 0,99082	A 5423,1 σ 5,72E-05 x_0 3,35E-07 R 0,99745
Paziente_4	A 1547 σ 2,17E-04 x_0 1,59E-05 R 0,99485	A 4775 σ 7,12E-05 x_0 -1,86E-06 R 0,99723
Paziente_5	A 1905,9 σ 1,69E-04 x_0 8,90E-06 R 0,98667	A 4564,8 σ 7,33E-05 x_0 -2,42E-06 R 0,9931
Paziente_6	A 1108,4 σ 1,60E-04 x_0 1,29E-06 R 0,99542	A 3464,1 σ 7,91E-05 x_0 -4,16E-06 R 0,99179
Paziente_7	A 1313,1 σ 1,46E-04 x_0 6,29E-06 R 0,99513	A 2438,5 σ 8,99E-05 x_0 4,17E-06 R 0,99405
Paziente_8	A 1991,7 σ 1,77E-04 x_0 2,49E-05 R 0,99569	A 540,4 σ 6,14E-05 x_0 -5,15E-06 R 0,99055

Tabella 3.5: Valori di A, σ [mm²/s], x_0 [mm²/s] e R del fit gaussiano degli istogrammi di Δp e di Δq per il liquido cerebrospinale CSF.

Da una prima analisi dei dati ottenuti è stato possibile osservare come x_0 , il valore medio della differenza dei livelli di grigi ottenuto per ogni istogramma, sia effettivamente prossimo allo zero, come ci si aspetta se si considerano le variazioni Δp e Δq casuali (distribuzione casuale dell'errore, a media nulla). Il coefficiente di correlazione R, inoltre, è prossimo a 1 e dimostra che i dati seguono un andamento di tipo gaussiano con buona accuratezza (almeno, non troppo vicino alle code e allo 0).

Un altro parametro che è stato accuratamente analizzato, anzi il più importante in quanto poi sarà usato per l'individuazione di una soglia di significatività di Δp e Δq , è il valore dello scarto quadratico medio σ di ogni paziente per le distribuzioni Δp e Δq per le tre segmentazioni, com'è riportato nelle tabelle 3.6 e 3.7.

WM _{mappa_p}	$\sigma_{isto}[\text{mm}^2/\text{s}]$	GM _{mappa_p}	$\sigma_{isto}[\text{mm}^2/\text{s}]$	CSF _{mappa_p}	$\sigma_{isto}[\text{mm}^2/\text{s}]$
Paz_1	9,69E-05	Paz_1	9,02E-05	Paz_1	1,07E-04
Paz_2	7,14E-05	Paz_2	7,53E-05	Paz_2	1,03E-04
Paz_3	9,25E-05	Paz_3	1,00E-04	Paz_3	1,27E-04
Paz_4	9,89E-05	Paz_4	1,24E-04	Paz_4	2,17E-04
Paz_5	1,10E-04	Paz_5	1,12E-04	Paz_5	1,69E-04
Paz_6	1,38E-04	Paz_6	1,02E-04	Paz_6	1,60E-04
Paz_7	1,24E-04	Paz_7	1,14E-04	Paz_7	1,46E-04
Paz_8	9,16E-05	Paz_8	1,09E-04	Paz_8	1,77E-04

Tabella 3.6: Distribuzione delle σ di tutti i pazienti, relativa a Δp per le tre segmentazioni.

WM _{mappa_q}	$\sigma_{isto}[\text{mm}^2/\text{s}]$	GM _{mappa_q}	$\sigma_{isto}[\text{mm}^2/\text{s}]$	CSF _{mappa_q}	$\sigma_{isto}[\text{mm}^2/\text{s}]$
Paz_1	6,79E-05	Paz_1	5,46E-05	Paz_1	5,46E-04
Paz_2	4,92E-05	Paz_2	4,61E-05	Paz_2	5,63E-05
Paz_3	6,10E-05	Paz_3	5,06E-05	Paz_3	5,72E-05
Paz_4	7,86E-05	Paz_4	7,31E-05	Paz_4	7,12E-05
Paz_5	9,26E-05	Paz_5	7,31E-05	Paz_5	7,33E-05
Paz_6	8,01E-05	Paz_6	6,08E-05	Paz_6	7,91E-05
Paz_7	7,30E-05	Paz_7	7,14E-05	Paz_7	8,99E-05
Paz_8	5,49E-05	Paz_8	5,00E-05	Paz_8	6,14E-05

Tabella 3.7: Distribuzione delle σ di tutti i pazienti, relativa a Δq per le tre segmentazioni.

Fissata la distribuzione (Δp o Δq) e la segmentazione (WM, GM, CSF), si è eseguita un'analisi statistica sulla popolazione delle σ di tutti i pazienti (tabelle 3.8 e 3.9), calcolandone il valor medio, indicato con Θ , la deviazione standard Σ che fornisce un'idea di quante siano vicine tra loro le σ dei vari pazienti, e il massimo valore di σ presente Θ_{MAX} :

$$\Theta = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \sigma_i \quad \Sigma = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (\sigma_i - \Theta)^2} \quad \Theta_{MAX} = \max_{i=1..n} (\sigma_i)$$

dove n è il numero di pazienti, pari a 8.

I risultati dell'analisi statistica effettuata sulle distribuzioni di Δp e Δq applicate alle tre maschere di probabilità, sono riportati nelle tabelle 3.8 e 3.9.

WM _{mappa_p}	[mm ² /s]	GM _{mappa_p}	[mm ² /s]	CSF _{mappa_p}	[mm ² /s]
MEDIA Θ	1,03E-04	MEDIA Θ	1,03E-04	MEDIA Θ	1,51E-04
DEV STANDARD	4,28E-10	DEV STANDARD	2,31E-10	DEV STANDARD	1,46E-09
$\Theta_{max_P_WM}$	1,38E-04	$\Theta_{max_P_GM}$	1,24E-04	$\Theta_{max_P_CSF}$	2,17E-04
$3\Theta_{max_P_WM}$	0,0004	$3\Theta_{max_P_GM}$	0,0004	$3\Theta_{max_P_CSF}$	0,0007

Tabella 3.8: Analisi statistica dei dati presenti in tabella 3.6. Indichiamo con Θ la media della popolazione delle σ di ogni paziente che si riferisce alle mappe Δp , con DEV STANDARD la deviazione standard Σ , con Θ_{max} il valore massimo e con $3\Theta_{max}$ la soglia caratteristica considerata.

WM _{mappa_q}	[mm ² /s]	GM _{mappa_q}	[mm ² /s]	CSF _{mappa_q}	[mm ² /s]
MEDIA Θ	6,97E-05	MEDIA Θ	6,00E-05	MEDIA Θ	1,29E-04
DEV STANDARD	2,06E-10	DEV STANDARD	1,26E-10	DEV STANDARD	2,84E-08
$\Theta_{max_Q_WM}$	9,26E-05	$\Theta_{max_Q_GM}$	7,31E-05	$\Theta_{max_Q_CSF}$	5,46E-04
$3\Theta_{max_Q_WM}$	0,0003	$3\Theta_{max_Q_GM}$	0,0002	$3\Theta_{max_Q_CSF}$	0,0016

Tabella 3.9: Analisi statistica dei dati presenti in tabella 3.7. Indichiamo con Θ la media della popolazione delle σ di ogni paziente che si riferisce alle mappe Δq , con DEV STANDARD la deviazione standard Σ , con Θ_{max} il valore massimo e con $3\Theta_{max}$ la soglia caratteristica considerata.

3.3 Commento dei risultati ottenuti

Una prima considerazione sui risultati, presenti in tabelle 3.8 e 3.9, riguarda il fatto che (fissata la materia e la mappa) la deviazione standard della popolazione delle σ è molto bassa (dell'ordine di 10^{-10}); questo è un indice dell'omogeneità delle distribuzioni studiate e del fatto che, nonostante il campione possa sembrare esiguo, esso è probabilmente abbastanza caratteristico. Inoltre, si può osservare dalle tabelle 3.6 e 3.7 che i valori delle σ di ogni paziente sono simili tra loro (dell'ordine di $10^{-4} \div 10^{-5}$); questo ci permette di considerare tra tutti questi valori una soglia caratteristica, pari a 3Θ , che sia coerente con i dati a disposizione. Nell'approssimazione della distribuzione gaussiana, l'intervallo di confidenza pari a $[\Theta \pm 3\sigma]$ permette di affermare che circa solo l'1% dei valori di Δp o Δq all'esterno di questo intervallo è generato da variazioni casuali esterne non attribuibili a cause fisiologiche.

In questo caso particolare, essendo le code delle distribuzioni più intense che nelle gaussiane, la stima sarà probabilmente ottimistica, ma presumibilmente non troppo lontana dalla realtà.

Si è preferito scegliere, anziché 3Θ , una soglia caratteristica pari a $3\Theta_{\max}$, per poter considerare un range maggiore d'intervallo di confidenza ed essere certi di poter eliminare maggiormente quei contributi legati a variazioni fisiologiche di tipo casuale.

Con questa scelta più cautelativa, probabilmente l'eventuale presenza di variazioni nel *follow-up* di pazienti patologici possono essere attribuibili a effetti legati alla chemioterapia o variazioni della massa tumorale.

Poiché il glioma è una patologia che interessa principalmente la materia bianca WM dell'encefalo, è opportuno scegliere come soglia caratteristica nel trattamento del glioma quella dedotta dall'analisi degli istogrammi di Δp e di Δq per la sola segmentazione della WM, fermo restando che i risultati relativi alle altre materie possono essere utili per altre patologie.

Con queste considerazioni, i valori caratteristici individuati sono dunque di 0.0004 mm²/s per la mappa p e di 0.0003 mm²/s per la mappa q .

3.4 Esempi applicativi

Per verificare le soglie individuate attraverso il metodo descritto, è stato considerato il caso di due pazienti (#1c e #2c) cui è stato diagnosticato un glioma cerebrale. Si è applicato a entrambi lo stesso protocollo medico, comprendente, tra l'altro, un esame di risonanza magnetica (con ricostruzione di mappe DTI) prima e dopo cinque cicli di chemioterapia.

Secondo considerazioni di tipo medico (ad esempio esame istologico prima e dopo il trattamento chemioterapico e stimolazioni elettriche intraoperatorie) è stato possibile osservare come nel primo caso (#1c) si è avuta una scarsa risposta del paziente alla terapia con conseguente avanzamento della patologia, mentre nel secondo caso si può affermare che la terapia abbia dato esito positivo.

È stato, dunque, applicato il metodo descritto nel paragrafo 2.6 a questi due casi per vedere il comportamento dell'istogramma soprattutto riguardo alla scelta della soglia.

Gli istogrammi presentati (figura 3.9 e 3.12) riguardano la differenza tra le due mappe (p e q) prima e dopo la terapia per i due pazienti (ossia Δp o Δq). La regione indagata riguarda la zona patologica (*ROI – region of interest*) tracciata dal medico sulle mappe p prima del primo ciclo di chemioterapia; questa, infatti, è la regione presumibilmente con dimensioni maggiori, com'è possibile osservare dalla figura 3.8.

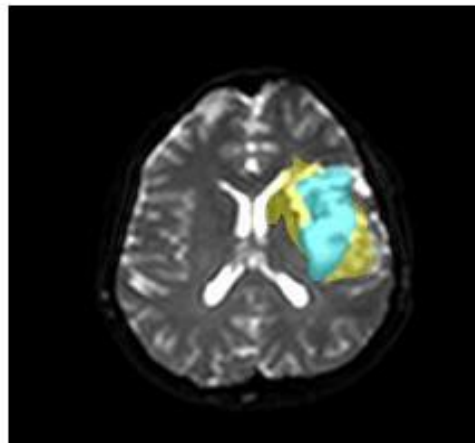


Figura 3.8. Immagine T_2 -pesata su cui sono state rese evidenti le regioni tumorali individuate nella mappa p (zona gialla) e q (zona celeste).

Questa mostra, infatti, un'immagine T_2 -pesata con la sovrapposizione delle ROI disegnate dal medico: ROI- q (celeste) e ROI- p (gialla). Si nota che la ROI- p include la ROI- q .

La ragione di questo comportamento risiede nel fatto che immediatamente attorno alla parte centrale del tumore (in necrosi) c'è un'area a ridotta anisotropia che costituisce il cuore del tumore. Attorno a quest'area, c'è una regione a elevata diffusione isotropa e normale diffusione anisotropa, legata alla probabile presenza di edema e/o cisti [25].

In tabella 3.10, invece, sono riportati i valori di media e σ degli istogrammi dopo un'operazione di fit con una funzione gaussiana (secondo lo schema utilizzato per i controlli).

PAZIENTE	Δp		Δq	
	Media	Sigma σ	Media	Sigma σ
#1c	$-3.31 \cdot 10^{-4}$	$3.57 \cdot 10^{-4}$	$2.61 \cdot 10^{-6}$	$7.27 \cdot 10^{-5}$
#2c	$9.65 \cdot 10^{-5}$	$1.82 \cdot 10^{-4}$	$-8.58 \cdot 10^{-6}$	$8.16 \cdot 10^{-5}$

Tabella 3.10: Valori di media (mm^2/s) e σ (mm^2/s) degli istogrammi di Δp e Δq in seguito al fit con una funzione gaussiana.

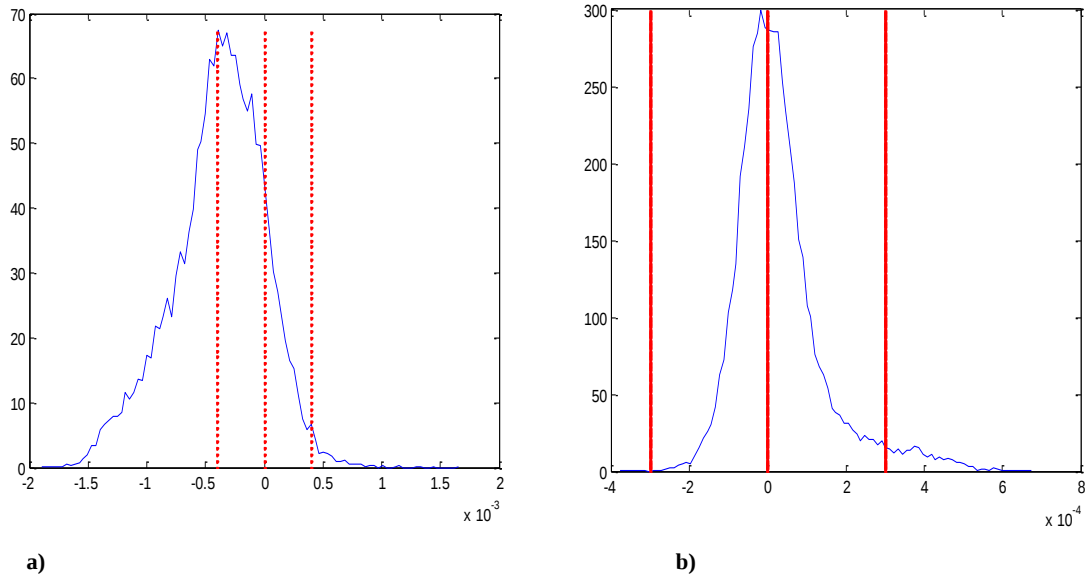


Figura 3.9: Paziente #1c: istogramma di Δp (a) e di Δq (b) (gli istogrammi sono riferiti solamente alla ROI patologica tracciata sulla mappa p prima dell'inizio della terapia). Il valore di soglia applicato per la mappa p è di $0.0004 \text{ mm}^2/\text{s}$ mentre per la mappa q è di $0.0003 \text{ mm}^2/\text{s}$.

E' interessante notare sia dalla tabella 3.10 sia dalla figura 3.9 (a) come nel primo caso la media dell'istogramma per la mappa p sia spostato verso i valori negativi: ciò sta a indicare il fatto che $\Delta p = p_1 - p_2 < 0$ dove p_1 e p_2 sono i valori di isotropia rispettivamente prima e dopo la terapia. In figura 3.9(b), invece, si osserva uno spostamento dei valori di Δq verso i valori positivi dell'asse ($\Delta q = q_1 - q_2 > 0$). Concettualmente ciò è indicativo di un aumento di isotropia e di

una diminuzione di anisotropia, legati ad un probabile ulteriore deterioramento dei tessuti (in termini di fibre nervose che “guidano” la diffusione dell’acqua all’interno della materia bianca) e quindi ad un avanzamento della patologia. La scelta fatta per la soglia permette di mettere in evidenza questa variazione isolandola da variazioni casuali puramente fisiologiche o dipendenti da rumore.

E’ ancora più interessante notare come l’istogramma in figura 3.10, relativo a valori di Δq nella ROI tracciata sulla mappa q , si sviluppi nel range dettato dalla soglia: ciò è giustificabile con il fatto che la ROI tracciata sulla mappa di anisotropia q è generalmente più piccola di quella tracciata sulla mappa p e racchiude essenzialmente tessuto in stato di necrosi (il cuore del tumore) che difficilmente subirà variazione in seguito a terapia. Questa è un ulteriore conferma della scelta della soglia per Δq .

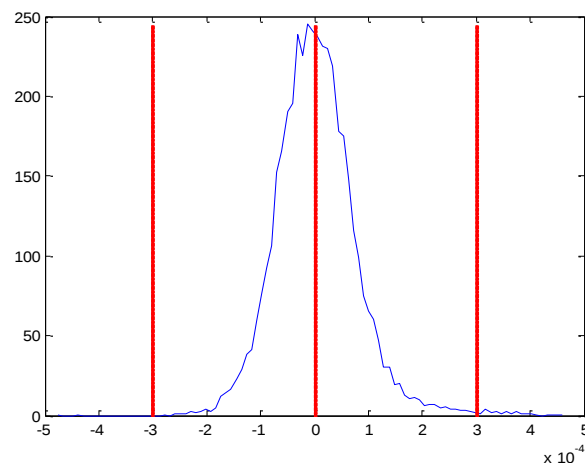


Figura 3.10: Paziente #1c: istogramma di Δq calcolato nella ROI tracciata sulla mappa q prima della terapia (media= $-2.09 \cdot 10^{-6} \text{ mm}^2 / \text{s}$ e $\sigma=6.39 \cdot 10^{-5} \text{ mm}^2 / \text{s}$.)

Infine, è stata indagata la regione attorno al cuore del tumore, figura 3.8 contenuta nella ROI-p (gialla) ma non nella ROI-q (celeste), selezionando come regione d’interesse quella data dalla differenza tra le due ROI appena elencate. L’istogramma riguardante i valori di Δq in questa regione è presentato in figura 3.11. L’istogramma mostra in maniera ancora più evidente la rottura della simmetria della distribuzione e lo spostamento dei valori di Δq verso valori positivi confermando un avanzamento della patologia proprio nella regione attorno al centro del tumore.

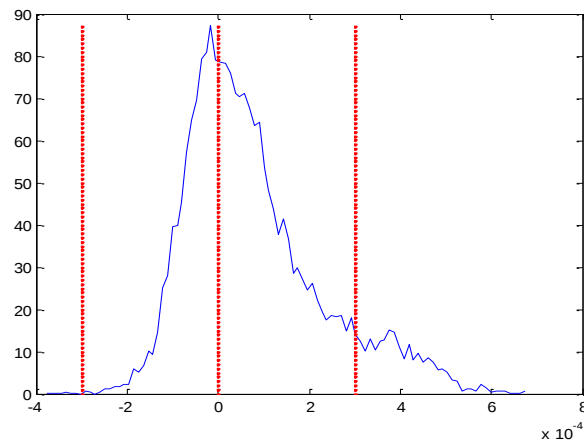
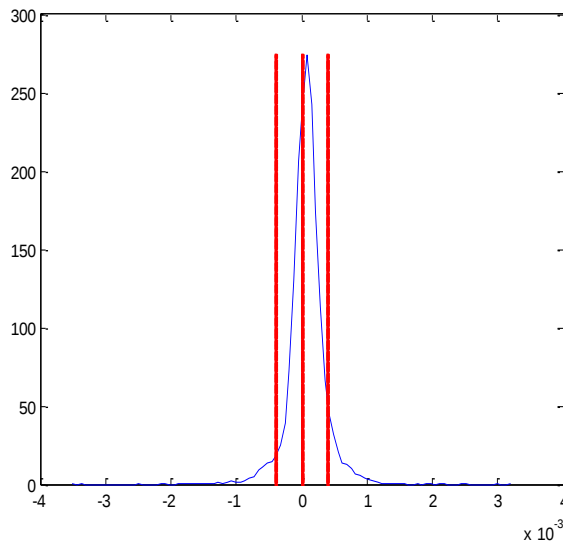
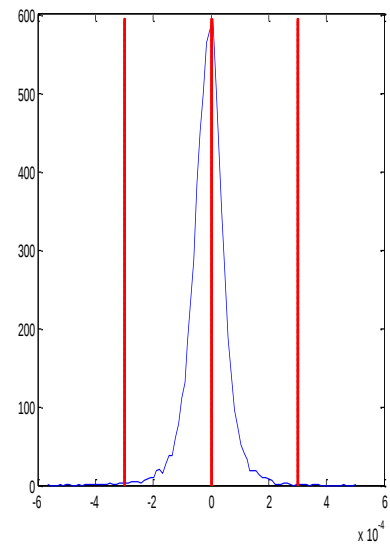


Figura 3.11: Paziente #1c: Istogramma dei valori di Δq nella regione ottenuta dalla sottrazione di ROI_p-ROI_q.

Il caso del paziente #2c, invece, è presentato in figura 3.12: in questo caso è possibile osservare uno spostamento di Δp verso valori positivi. Lo spostamento è meno evidente rispetto al caso precedente ma è confermato dal valore positivo della media per Δp . Contestualmente, è possibile notare un aumento dei valori di anisotropia (valore della media negativo), indicativo di una riorganizzazione dei fasci di materia bianca legata ad una probabile riduzione della massa tumorale.



a)



b)

Figura 3.12: Paziente #2c: istogramma della differenza delle mappe p (a) e delle mappe q (b) prima e dopo la terapia (gli istogrammi sono riferiti solamente alla ROI patologica). Il valore di soglia applicato è identico al caso precedente.

Conclusioni e sviluppi futuri

In questo lavoro di Tesi, dopo una parte introduttiva sulle finalità del lavoro e sulle cause di rumore nelle immagini di Risonanza Magnetica in Tensore di Diffusione, sono state quantificate sperimentalmente le fluttuazioni di segnale presenti in mappe DTI dell'encefalo di pazienti sani; i valori individuati sono stati adoperati per determinare un limite superiore, con un buon livello di confidenza, da adoperare come soglia caratteristica discriminante tra rumore e variazione significativa della misura (una soglia di significatività); questa può essere utilizzata nel follow-up di pazienti affetti da glioma cerebrale e sottoposti a terapia, per verificare se le variazioni osservate in tempi successivi sono da considerarsi fisiologiche e situate entro l'errore di misura, oppure legate a un miglioramento o peggioramento del tumore.

In particolare, per tutti i pazienti di controllo osservati, sono state calcolate mappe di variazione d'isotropia (Δp) e di anisotropia (Δq) che forniscono informazioni su come le molecole dell'acqua si diffondono all'interno delle tre materie principali (bianca WM, grigia GM e liquido cerebrospinale CSF) che costituiscono l'encefalo. Analizzando gli istogrammi delle mappe di variazione, è stato verificato (entro una buona approssimazione, non del tutto verificata nelle code degli istogrammi) che questi seguono una distribuzione casuale di tipo gaussiano, con media pressoché nulla e deviazione standard σ . Siamo stati quindi portati ad affermare che nell'intervallo di confidenza pari a 3σ risiede il 99% delle osservazioni e, quindi, che circa solo l'1% dei dati sopra questo valore è generato da variazioni casuali. Siccome i valori di isotropia e anisotropia sono legati al diffondersi (o al regredire) del tumore nei tessuti, la presenza di variazioni superiori a questa soglia può essere messa in relazione con cause non casuali ma dovute all'evoluzione del tumore.

Nella parte finale, applicativa, della Tesi, poiché il glioma è una patologia che interessa principalmente la materia bianca dell'encefalo, sono state utilizzate come soglie quelle estrapolate dall'analisi degli istogrammi di Δp e di Δq per la sola segmentazione della WM e queste sono state applicate a due casi reali. Siamo giunti alla conclusione che l'individuazione di una soglia abbia effettivamente un'utilità pratica nell'individuazione di variazioni significative della massa tumorale dopo un ciclo chemioterapico.

Prospettive future del lavoro sono: un miglioramento della statistica, aumentando il numero di controlli analizzati in modo da confermare i valori di soglia individuati, e il confronto diretto con i medici che restano, in base alle loro conoscenze professionali, giudici principali dell'applicabilità del metodo.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Bello L., Cornalba G.P., Castellano A., De Nunzio G., Donativi M., Falini A., Soffietti R, Scotti G. : *DTI-MR 3D TEXTURE ANALYSIS per la valutazione delle caratteristiche strutturali e dell'estensione dei gliomi cerebrali*. Rivista medica, periodico scientifico indipendente volume 15 supplemento 2 settembre 2009.
- [2] Mancober R.S.: *A Complete introduction to modern NMR spettroscopy*, University of Cincinnati and Pepperdine University, Wiley Interscienze Publication & Sons, Inc. 1998, 6-19.
- [3] Castellano A., De Nunzio G., Donativi M.: *Fisica e tecnica delle apparecchiature biomediche: Tomografia computerizzata, risonanza magnetica, ecografia*. 2009,96 p, ill. DeltaEdit (Arnesano – Lecce).
- [4] Stejskal E. O., Tanner J. E.: *Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependent field gradi, ent. J Chem Phys* 1965; 42:288-292.
- [5] Brunberg J. A., Chenevert T. L., Pipe J. G.: *Anisotropic diffusion in human with matter: demonstration with MR techniques in vivo*. Radiology 1990, 177: 401-405.
- [6] Cohen Y., Kucharczyk J., Moseley M.E.: *Diffusion weighted MR imaging of anisotropic water diffusion in central nervous system*. Radiology 1990; 176: 439-445.
- [7] Basser P.J., Jezzard P., Pierpaoli P. :*Diffusion tensor MR imaging of the human brain*. Radiology 1996; 201: 637-648.
- [8] Basser P.J., Lebihan D., Mattiello J., : *Mr Diffusion Tensor Spectroscopy and Imaging.Biophys* 1994; J 66:259-267.
- [9] Basser P.J., Le Bihan D., Mattiello J.: *Estimation of the effective self diffusion tensor from the nmr spin eco*. Journal of Magnetic Resonance in Biomedicine 1994, 103:247_254.
- [10] Pierpaoli P.: *Diffusion tensor mr imaging of the human brain*.Radiology 1996, 201:637_648.
- [11] Basser P.J.: *Diffusion-tensor MRI: Theory, experimental design, and data analysis*. Second Joint Embs-Bmes Conference 2002, Vols 1-3, Conference Proceedings 2002 :1165-1166.

- [12] Carpenter T., J. Gillard, Green H., Pena A., Pickard J, Price S.: *Enhanced visualization and quantification of magnetic resonance diffusion tensor imaging using P:Q tensor decomposition*. Departments of Neurosurgery, Radiology and the Wolfson Brain Imaging Centre, Addenbrooke's Hospital and the University of Cambridge, Cambridge CB2 2QQ, UK; The British Journal of Radiology, 79 (2006), 101–109.
- [13] Hamstra D. A., Galbàn C.J., Meys C.R., Johnson T.D., Sundgren P. C., Tsien C., Lawrence T.S., Junck L., Ross D.J., Rehemtulla A., Ross B.D and Chenevert T.L.: *Functional diffusion map as an early imaging biomarker for high grade glioma: correlation with conventional radiologic response and overall survival*. Journal of clinical oncology volume 26 number 20 July 10 2008.
- [14] Basser P. J. and Pierpaoli C.: *Microstructural and physiological features of tissue elucidated by quantitative diffusion tensor MRI*. Journal of Magnetic Resonance 1996, series B 111:209-21.
- [15] Cantoro E.: *Caratterizzazione di lesioni in immagini DTI tramite texture feature*.
Tesi di Laurea, Facoltà di Scienze MM. FF. NN, Università Del Salento, A. A.2007-2008.
- [16] Ciraci C.: *Analisi del tensore di diffusione in MRI per lo studio di lesioni tumorali cerebrali*. Tesi di Laurea, Facoltà di Scienze MM. FF. NN, Università Del Salento, A.A.2006-2007.
- [17] Mandruzzato G.: *Segmentazione di immagini di risonanza magnetica ed integrazione con mappe di anisotropia tessutale per lo studio della sclerosi multipla*. Tesi di Laurea in Neuroingegneria, FACOLTA' DI INGEGNERIA, Università Degli Studi di Padova, A.A. 2009-2010.
- [18] Bammer R., Horsfield M.A, Pagani E. Review: *Diffusion MR Imaging in Multiple Sclerosis: Technical Aspects and Challenges*, Neuroradiology, 28:411-420, Marzo 2007.
- [19] J. P. Hornak, "Basic of MRI", <http://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/inside-i.htm>.
- [20] Backes W.H., Jansen J.F.A., Tijssen R.H.N.: *Assessing and Minimizing the Effects of Noise and Motion in Clinical DTI at 3 T*. Human Brain Mapping 30:2641–2655 (2009) r.

- [21] Hedehus M., Li T.Q., Mosely M.E., Skare S.: *Condition Number as a Measure of Noise Performance of Diffusion Tensor Data Acquisition Schemes with MRI*. Journal of Magnetic Resonance 147, 340–352 (2000).
- [22] Manco L.: *Analisi DTI della diffusione isotropica dell'acqua nel follow-up di gliomi cerebrali*. Tesi di Laurea, Facoltà di Scienze MM. FF. NN, Università Del Salento, A. A. 2009-2010.
- [23] Favetta M.: *Analisi immagini MR per la diagnosi precoce della demenza Alzheimer: individuazione di una base di template per l'area dell'ippocampo*. Tesi di Dottorato-Ciclo XXII. Facoltà di Scienze MM. FF. NN, Università Del Salento, A. A. 2008-2009.
- [24] Smith S. M.: *BET: Brain Extraction Tool, FMRIB Techincal*. Report TR00SMS2b, Oxford, UK. Human Brain Mapping, 2000.
- [25] Burnet N.G., Carpenter T.A., Gillard J.H., Jena R, Pickard J.D., Price S.J.: *Predicting patterns of glioma recurrence using diffusion tensor imaging*. Eur Radiol 2007; 17(7):1675-84.

RINGRAZIAMENTI

Se state leggendo questa pagina vuol dire che la prima parte del mio lungo e faticoso percorso accademico è terminato con la voglia e la speranza di continuare a realizzare i miei obiettivi.

Le prime persone che devo ringraziare sono coloro che mi hanno guidato e supportato nel lavoro finale, con la possibilità di affrontare un argomento importante per il mio futuro accademico. La Dott.ssa Donativi che con la sua dolcezza, pazienza e disponibilità mi ha aiutato nei momenti di sconforto trasmettendomi l'energia giusta per continuare il lavoro. Il Dott. De Nunzio che con grande professionalità mi ha guidato, consigliato e con la sua simpatia, il suo carisma, mi ha incoraggiato a non demordere nei momenti di difficoltà. Continuerò a fare un lungo respiro, così come mi ha sempre suggerito e di sicuro ne avrò tanti da fare. I vostri consigli li porterò con me saranno indispensabili per il mio percorso e spero che un domani le nostre strade si possano incrociare in nome della conoscenza scientifica.

Il mio lavoro lo dedico a Vito e Maria, i miei genitori, che hanno reso possibile tutto ciò rispettando e condividendo le mie scelte e le mie ansie. Mi hanno supportato e hanno accettato le mie decisioni con umiltà e sacrificio e sono contento di poter dare loro questa gioia, con l'augurio di continuare sempre a dare soddisfazioni.

Ringrazio infinitamente Emanuela e Anastasia le mie sorelle “strafighissime”, che hanno rappresentato dei punti di riferimento forti su cui contare sempre e hanno spartito con me gioie e dolori. Sono state il ponte sociale, mi hanno smosso e risollevato mentre volevo sprofondare con la faccia sui libri e hanno reso le giornate allegre anche con le loro stupide canzoncine.

I miei compagni d'università che con generosità si sono sempre resi disponibili nei miei confronti.

Le persone che mi hanno fatto lavorare, che hanno creduto in me, grazie anche a loro sono riuscito a pagare le famose “tasse universitarie”.

Ringrazio i miei amici “Quelli dell'Arco” Mary, Andrevo, Ale, Tonzula e Dany...ca me sopportane!!!!

Ringrazio i miei nipotini, Nicholas, Karen, Lele e Giorgia che nel loro piccolo mi hanno sostenuto, distratto e osservato come un “marziano”....ma alla fine sono ancora vivo!!!!

Infine ringrazio chi ha inventato la Camomilla....la mia “droga” preferita!!!