

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA



FACOLTA' DI INGEGNERIA
Corso di Laurea in Bioingegneria

Segmentazione di immagini di risonanza magnetica ed integrazione con mappe di anisotropia tessutale per lo studio della sclerosi multipla

Tesi di Laurea in Neuroingegneria

Relatore:
Ch.ma Prof.ssa
Alessandra Bertoldo

Correlatori:
Dott.
Massimiliano Calabrese
Dott.ssa
Letizia Squarcina

Laureando:
Giacomo Mandruzzato

Anno Accademico 2009 - 2010

Introduzione

La segmentazione di immagini di Risonanza Magnetica in materia grigia, materia bianca e fluido cerebrospinale risulta molto utile in clinica soprattutto nello studio delle conseguenze patologiche di malattie neuro-degenerative o che danneggiano la struttura del sistema nervoso centrale, quale la sclerosi multipla. Da anni risulta un argomento di studio molto complesso tanto che ancora oggi non è stato trovato un modello risolutivo veramente convincente, sebbene i risultati che si ottengono con i moderni software sono più che accettabili.

Questa tesi vuole offrire un confronto qualitativo tra i due algoritmi più utilizzati in medico-scientifico che effettuano segmentazione, SPM e FSL, e applicare il più affidabile tra questi ad immagini MR utilizzate nello studio delle lesioni prodotte dalla sclerosi multipla, le DIR. Infine si è voluto approfondire in parte le caratteristiche del tessuto danneggiato dalla patologia andando a studiare le mappe di anisotropia tissutale all'interno delle lesioni. Nel Capitolo 1 vengono introdotti gli effetti patologici della sclerosi multipla nella materia grigia e le principali cause dell'evolversi della malattia.

Nel Capitolo 2 vengono descritte le caratteristiche principali della sequenza MR DIR e la sua importanza nello studio della sclerosi multipla per la ricerca delle lesioni nella materia grigia.

Nel Capitolo 3 viene spiegato il principio e funzionamento della DTI, andando a descrivere i parametri estraibili da questa e la sua particolare applicazione nello studio delle caratteristiche del tessuto nervoso all'interno delle lesioni.

Nel Capitolo 4 viene descritto esaurientemente l'algoritmo di segmentazione incluso nel software FSL, distinguendo la parte che esegue l'estrazione del

cervello da tutta la testa (BET, e la versione successiva BET2) e la segmentazione vera e propria (FAST).

Nel Capitolo 5 viene descritto il secondo algoritmo di segmentazione oggetto d'analisi in questa tesi, incluso nel software SPM.

Nel Capitolo 6 viene descritta la metodologia utilizzata per il confronto dei due precedenti algoritmi sulla segmentazione della materia grigia utilizzando i dati di due data-set online e successivamente vengono commentati i risultati ottenuti.

Nel Capitolo 7 viene applicato l'algoritmo di segmentazione SPM nelle immagini MR DIR e confrontata poi la segmentazione della materia grigia con quella ottenuta a partire da immagini T1.

Nel Capitolo 8 infine si è andati a studiare il valore medio della FA nei voxel classificati come materia grigia interni alle lesioni, confrontando i risultati con la FA media della materia grigia in tutto il cervello.

Abbreviazioni utilizzate

Abbreviazione	Descrizione
ADC	Apparent Diffusion Contrast
BET	Brain Extraction Tool
CIS	Clinically Isolated Syndrome
CSF	Cerebro Spinal Fluid
DIR	Double Inversion Recovery
EDSS	Expanded Disability Status Scale
FAST	FMRIB's Automated Segmentation Tool
FLAIR	Fluid Attenuated Inversion Recovery
FSL	FMRIB Software Library
GM	Grey Matter
IR	Inversion Recovery
MR	Magnetic Resonance
MRS	(Proton) Magnetic Resonance Spetroscopy
MS	Multiple Sclerosis
MSFC	Multiple Sclerosis Functional Composite
NAGM	Normal Appearing Grey Matter
NAWM	Normal Appearing White Matter
PPMS	Primary Progressive Multiple Sclerosis
RRMS	Relapsing Remitting Multiple Sclerosis
SE	Spin Echo
SNC	Sistema Nervoso Centrale
SPM	Statistical Parametrical Mapping
SPMS	Secondary Progressive Multiple Sclerosis
SM	Multiple Sclerosis
STIR	Short TI Inversion Recovery
WM	White Matter

Tabella 1: Tabella delle abbreviazioni utilizzate.

Indice

Introduzione	i
1 Sclerosi Multipla e materia grigia	1
1.1 Lesioni e patologia nella GM	2
1.2 Immagini MR utilizzate per lo studio delle lesioni	3
1.3 Atrofia della GM	4
1.4 Atrofia della GM e disabilità	5
1.5 Cause del danno alla GM	5
1.6 Conclusioni	7
2 DIR: double inversion recovery	11
2.1 Caratteristiche della sequenza DIR	13
2.2 Confronto tra DIR e FLAIR	16
2.3 Importanza della sequenza DIR nella determinazione delle le- sioni corticali	18
3 DTI: Diffusion Tensor Imaging	23
3.1 Introduzione	23
3.2 Principi fondamentali	25
3.3 Acquisizione e processing dei dati	27

3.4	Parametri estraibili dai dati di DTI	33
3.4.1	Diffusività media	34
3.4.2	Indici di Anisotropia	34
3.4.3	Mappatura delle fibre	35
3.5	Applicazioni	36
3.6	DTI e MS	38
3.6.1	Affidabilità dei dati DTI	38
3.6.2	Importanza della FA nella MS	39
4	Segmentazione FSL	43
4.1	Introduzione	43
4.2	BET	44
4.2.1	Dettagli del metodo	46
4.2.2	Stima dei parametri di partenza	46
4.2.3	Modellizzazione della superficie	47
4.3	BET2	52
4.3.1	Sogliatura	53
4.3.2	Rilevazione dei punti nella superficie	53
4.3.3	Superficie esterna - scalpo	54
4.3.4	Superficie cranica interna	54
4.3.5	Superficie cranica esterna	54
4.3.6	Analisi del profilo Antero-Posteriore	55
4.3.7	Fitting delle mesh	56
4.4	FAST	60
4.4.1	Introduzione	60
4.4.2	Stato dell'arte della segmentazione	60

4.4.3	Fitting del modello attraverso l'algoritmo EM	62
4.4.4	Correzione del bias del campo magnetico - MEM	65
4.4.5	HMRf-EM con correzione del bias field	66
5	Segmentazione SPM	69
5.1	Introduzione	69
5.2	Segmentazione in SPM	69
5.3	Mix di Gaussiane	71
5.4	Correzione del bias	72
5.5	Mappe probabilistiche a priori	73
5.6	Regolarizzazione	75
5.7	Ottimizzazione	76
5.7.1	Stima dei parametri μ, σ^2 e γ	77
5.7.2	Stima dei parametri β	78
5.7.3	Stima dei parametri α	78
6	Segmentazioni con SPM e FSL	81
6.1	Data-set 1	81
6.2	Normalizzazione	84
6.3	Segmentazione SPM	86
6.4	Segmentazione FSL	88
6.5	Normalizzazione inversa	89
6.6	Analisi dei risultati	91
6.7	Data-set 2	102
6.8	Analisi dei risultati	105
6.9	Conclusione	113

7	Segmentazione di immagini DIR	115
7.1	Analisi dei dati	116
7.2	Segmentazione	117
7.3	Coregistrazione	117
7.4	Analisi dei risultati	119
7.5	Classificazione dei voxel appartenenti alle lesioni	138
8	Studio della FA all'interno delle lesioni	151
9	Conclusioni	155
A	Modello Hidden Markov Random Field	159
A.1	Modello Hidden Markov Random Field	159
A.2	Stima MRF-MAP	161

Capitolo 1

Sclerosi Multipla e materia grigia

Fin dalle prime ricerche riguardanti la Sclerosi Multipla (*Multiple Sclerosis*, MS), ottenute attraverso analisi al microscopio dei tessuti cerebrali e, più recentemente, attraverso immagini di risonanza magnetica, i ricercatori si sono concentrati sulle lesioni visibili della materia bianca (*White Matter*, WM) provocate da questa malattia. Con l'avvento delle più moderne tecniche di risonanza magnetica e di elaborazione digitale delle immagini, è stato possibile collegare l'entità delle lesioni (in dimensione, volume e collocazione spaziale) con la disabilità del paziente ed è apparso subito all'occhio che solamente una piccola frazione delle lesioni corrispondevano a danni cognitivi e motori a lungo termine. Con le più moderne tecniche di istopatologia (per esempio l'immuno-isto-chimica della mielina), inoltre, è stato possibile misurare più quantitativamente, piuttosto che qualitativamente, com'era avvenuto sino a d'ora, le caratteristiche dei tessuti del cervello. Questo ha concentrato lo studio sia sulla WM già studiata, ma anche e soprattutto sulla materia grigia (*Gray Matter*, GM), fino ad ora ignorata perchè appariva all'occhio umano normale e non danneggiata (*Normal Appearing GM*, NAGM) [1]. Clinicamente, lo studio delle lesioni in GM è di notevole importanza perchè la demielinizzazione della WM fin d'ora studiata non riesce a spiegare in modo esaustivo i deficit clinici, inclusi quelli cognitivi del paziente. Le lesioni

a carico della WM e l'atrofia del tessuto cerebrale sono state utilizzate per spiegare parte della disabilità clinica, epilessia, depressione e deficit cognitivo osservati nei pazienti affetti da MS. Tuttavia, specificatamente per quanto riguarda i deficit cognitivi, come la perdita di memoria, deficit nell'attenzione e una riduzione dei processi mentali, riscontrati nel 45-65% dei pazienti, potrebbero essere causati da processi patologici della GM [2]. Recentemente per spiegare la causa del danneggiamento delle proprietà della GM sono state prese in considerazione diverse ipotesi, che studiano i processi patologici a carico di questa; questi processi possono essere divisi in *primari* (che coinvolgono regioni strettamente della GM) e *secondari* (cambiamenti patologici in certe regioni della GM provocate dal danno che persiste nel tessuto della WM) e potrebbero essere intrinsecamente correlati tra di loro.

1.1 Lesioni e patologia nella GM

Studi istopatologici suggeriscono che il rapporto tra l'area della GM corticale patologia e la WM è di 4:1 (in media 26.5% contro 6.5%). La sequenza di risonanza magnetica DIR permette un migliore contrasto tra GM e WM, nelle cui immagini sono evidenzia la presenza delle lesioni in GM: in pazienti con RRMS il volume delle lesioni nella corticale evidenziate con immagini DIR è di 0.2 ml, circa 1:25 rispetto al volume delle lesioni nella WM ottenute con immagini T2 pesate [3].

In letteratura è stato proposto un sistema di classificazione per le lesioni corticali, che distingue lesioni di tipo I nella WM-GM da lesioni di tipo II, III, IV che coinvolgono solamente la regione intracorticale. La patologia delle lesioni della GM differisce dalle lesioni della WM per il fatto che le lesioni della WM appaiono tipicamente lesioni infiammatorie, in cui sono stati trovati in maniera significativa linfociti, finora ancora non riscontrati nelle lesioni della GM. Invece, rottura di assoni, in aggiunta a perdite di cellule neuronali, della glia e congiunzioni sinaptiche, sono state trovate in maniera estesa nelle lesioni corticali della GM, e sembrano essere fondamentali nell'interpretare

correttamente l'atrofia e l'assottigliamento della corticale nella MS.

1.2 Immagini MR utilizzate per lo studio delle lesioni

Le immagini MR permettono di osservare facilmente, velocemente e con assoluta ripetibilità nel tempo l'effetto di patologie e ottenere misurazioni *in vivo* collegate a quest'ultime, ma non permettono di ottenere la stessa specificità della microscopia. Infatti, le misurazioni utilizzate con la MR rappresentano una media pesata di una grande varietà di fattori biologici e patologici. In particolare, differenti misure di MR sono influenzate da fattori macro-strutturali (es. tessuti di grosso taglio e forma), micro-strutturali (es. costituenti cellulari e dei tessuti), fattori e funzioni metaboliche (inclusi quelli mitocondriali).

L'avvento delle più moderne tecnologie di MR, quali la multi-slab 3D-DIR, ha permesso un migliore studio e visualizzazione delle lesioni nella GM, in particolare nella corticale, se comparata con le usuali tecniche standard MRI. Purtroppo solo un piccolo numero di lesioni corticali può essere osservato con immagini MR DIR, in particolare quelle in stato infiammatorio, mentre le lesioni croniche rimangono ancora invisibili [2].

A causa della difficoltà riscontrata nel studiare immagini MR di lesioni corticali *in vivo*, sono state effettuate diverse ricerche con lo scopo di determinare le alterazioni della cosiddetta NAGM, ovvero quella GM che appare normale con le convenzionali tecnologie di MRI, ma non così dal punto di vista istopatologico. Le tecnologie utilizzate sono varie, tra cui le immagini che includono MTR (*Magnetisation transfer ratio*, rapporto di trasferimento di magnetizzazione), le DTI e 1H-MRS (*Proton Magnetic Resonance Spectroscopy*).

La tecnica della Diffusion Tensor Imaging (DTI), che analizza il movimento dell'acqua all'interno dei tessuti, è meglio adatta per lo studio della WM piuttosto che della GM, poiché esistono strutture in cui sono presenti dire-

zioni predominanti per il movimento dell'acqua. Nei pazienti affetti da MS è stata osservata una correlazione tra la misura della diffusività e il contenuto mielinico e il numero di assoni, entrambi stimati in maniera istologica.

Alcuni studi indicano che i danni nella GM e WM sembrano evolvere per gran parte in maniera indipendente o al limite evolvono in maniera dipendente con un diverso arco temporale, ovvero la correlazione viene trovata tra le lesioni della WM al tempo t_0 e le lesioni della GM al tempo t_1 successivo [4].

1.3 Atrofia della GM

Più dell' 8% delle persone che hanno sviluppato la MS, precedentemente hanno avuto degli attacchi isolati (*clinically isolated syndrome*, CIS) che porta alla diagnosi in *relapse onset MS*: la GM risulta già intaccata con lesioni, soprattutto in quelle persone che mostrano ulteriori attacchi neurologici, che vengono definiti affetti da MS in modo definitivo.

Non ci sono chiare evidenze scientifiche che portano ad una perdita di volume della GM dal primo evento di MS nel caso di *relapse onset MS*. E' stata osservata una progressiva perdita di volume della GM ma non della WM in persone che svilupparono MS nel giro dei 3 anni successivi; inoltre nessuna relazione è stata trovata tra spessore della corticale e lesioni nella WM [1].

Pazienti affetti da CIS hanno riscontrato irregolarità in strutture quali il talamo e altre strutture della profonda GM (confermato da più studi) e, preferenzialmente, nella zona temporale sinistra e nella corteccia prefrontale destra. In tali regioni della GM, probabilmente sono più evidenti gli effetti della patologia, in combinazione, in maniera secondaria, a danni delle fibre della WM.

1.4 Atrofia della GM e disabilità

Nel mondo scientifico, la correlazione tra atrofia della GM e grado di disabilità non è ben definita: in alcuni studi è stata trovata, mentre in altri no. E' fondamentale specificare alcuni concetti sui gradi di disabilità. Innanzitutto, nella prima fase della MS, il livello di disabilità è basso; il punteggio delle scale quali EDSS e MSFC può essere alterato da altre patologie che interessano il sistema nervoso centrale e non; la soglia dopo la quale la patologia diventa evidente in modo clinico non è la stessa per tutte le funzioni; gli effetti della MS non coinvolge tutte le regioni simultaneamente; la plasticità neuronale (capacità di riorganizzare i circuiti cerebrali) può in parte compensare il danno alle reti neuronali e quindi gli effetti evidenti della malattia. L'associazione tra specifiche funzioni del sistema nervoso centrale e atrofie di determinate regioni nella prima fase della MS sono in parte correlate, come nel caso di perdita del volume della GM nei lobi frontali e perdite di punteggio in test uditivi. Resta da capire come esattamente evolvono le disfunzioni cognitive con la presenza della malattia e come sono correlate con le patologie della WM e GM a livello locale e globale [1].

1.5 Cause del danno alla GM

Come già menzionato, nelle lesioni della GM corticale sono presenti poche infiammazioni o comunque poco significative rispetto alle lesioni della WM, dove vi è un'infiammazione in atto, con grande presenza di T-cell, macrofagi, rottura della BBB e gliosi (proliferazione di astrociti in aree danneggiate del tessuto cerebrale). Diversi meccanismi sono stati proposti per spiegare la comparsa delle lesioni nella GM, e possono essere coinvolti sia processi di tipo primario che di tipo secondario.

Se la patologia della GM viene vista come un processo secondario, quindi causato dalle precedenti lesioni della WM, allora possono essere fatte alcune ipotesi riguardo a ciò. Successivamente alla demielinizzazione delle cellule

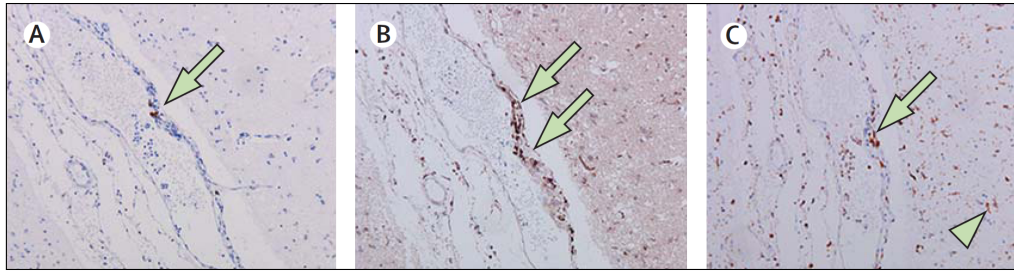


Figura 1.1: Esempio di infiammazione alle meningi (membrane che rivestono il SNC). Nella figura A la freccia indica le cellule di tipo B immunopositive, nella figura B le cellule di tipo T e nella figura C dei macrofagi (freccia) e la microglia attiva nella GM corticale adiacente (triangolo). Immagini ottenute con marcatori immunochimici [5].

nervose della WM, nelle lesioni sono stati osservati cambiamenti nei canali del sodio (Na^+) degli assoni demielinizzati, cambiamenti necessari per preservare le proprietà di conduzione del segnale nervoso, in parte già intaccate dal danno; in conseguenza a questo fatto è presente una proteina marker per il danno subito dagli assoni. Nella necessità di mantenere la trasmissione nervosa, è necessaria una grande produzione di energia cellulare, sotto forma di ATP che però la cellula nervosa danneggiata non riesce a produrre, a causa un anomalie nel funzionamento dei mitocondri (centrali energetiche della cellula dove risiedono le attività di produzione dell'ATP), e, a causa di un alta esposizione all'ossido nitrico, prodotto dalla cascata infiammatoria, la cellula demielinizzata entra nella cosiddetta fase di *ipossia virtuale* (carenza di ossigeno), provocando la degenerazione della cellula. Alterazioni del glutammato, molecola fondamentale per la trasmissione nervosa, potrebbe rappresentare un ulteriore meccanismo secondario di degenerazione, andando a modificare il normale equilibrio chimico di questa molecola e alterando i recettori suoi chimici, trasformandola quindi in una molecola tossica per alcune cellule nervose.

Secondo Stys et al. [6], autore delle precedenti ipotesi, i processi secondari appena descritti potrebbero essere veramente importanti e fondamentali all'origine dei danni alle cellule della GM ed essere in realtà processi primari nell'evoluzione della MS. Si ricorda che i processi patologici primari e

secondari non sono mutualmente esclusivi, ma anzi possono avvenire simultaneamente, con un effetto cumulativo di demielinizzazione e degenerazione degli assoni nel cervello. Un'altra causa dei danni alla GM potrebbe essere la selettiva vulnerabilità di specifiche cellule neuronali, come già avviene in altre malattie neuro-degenerative già note [2].

1.6 Conclusioni

L'atrofia della GM è evidente e progressiva, particolarmente nelle strutture profonde della GM (talamo, ipotalamo, cervelletto). Follow-up di un anno hanno dimostrato un progressivo cambiamento del valore MTR della GM e cambiamenti della GM corticale e profonda.

E' ormai chiaro che le lesioni della WM, più facilmente identificabili attraverso le convenzionali tecniche di MRI, rappresentano solo una parte della patologia MS, mentre una parte molto estesa della patologia coinvolge le zone della NAGM. I danni della GM sono evidenti ed evolvono nel tempo, sin dai primi casi clinici di RRMS e PPMS, e sono clinicamente rilevanti, perché portano alla conversione clinica da CIS a MS e la disabilità clinica da breve a lungo termine. Solamente una piccola parte correla con le lesioni nelle immagini T2 pesate.

La patologia MS appare coinvolgere alcune strutture della GM più di altre (quali il talamo), ma non è ancora risaputo se dovuto alla loro maggior suscettibilità rispetto al resto della GM nella malattia, o ad un effetto locale della GM, o a una conseguenza di qualche danno a qualche fibra di WM che influisce nel funzionamento di queste strutture, o a una combinazione di queste cause. Sono state osservate alterazioni alle macro-strutture, micro-strutture e ai metaboliti della GM. Queste scoperte suggeriscono che la disabilità a lungo termine può essere preannunciata molto presto nel corso clinico della MS e può essere in qualche modo ridotta attraverso un anticipato piano terapeutico [1].

Maggiori ricerche devono chiarire le relazioni tra danni alla GM e WM e studi

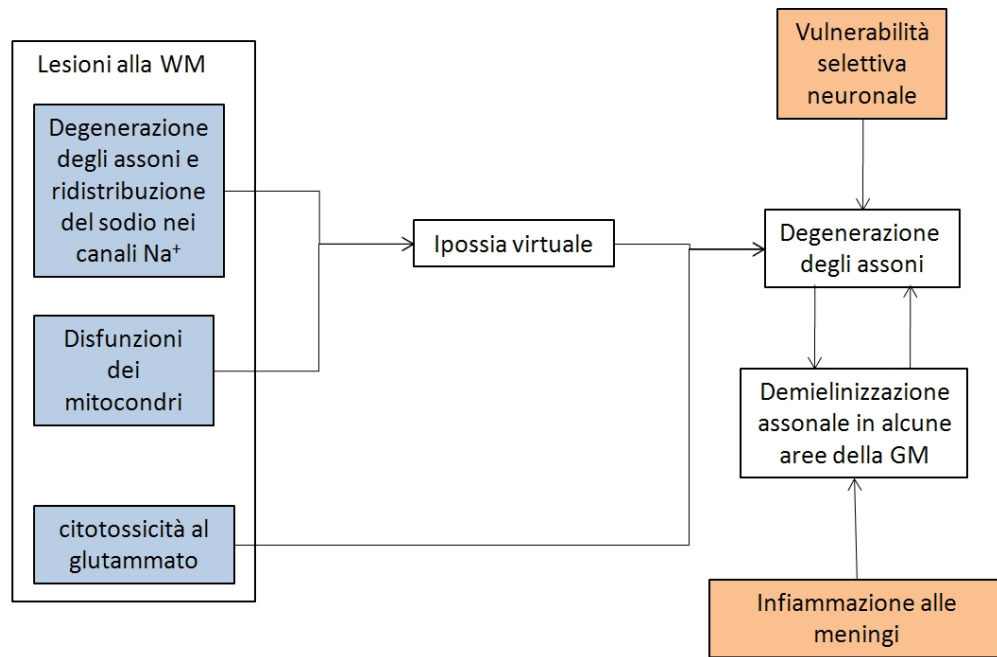


Figura 1.2: Schema riassuntivo dei processi coinvolti nella MS. Alcune teorie pongono in primo piano i meccanismi secondari (in blu) e descrivono che le degenerazioni assionali della GM riflettono un'attività infiammatoria della WM, combinata con una conseguente demielinizzazione assonale e riorganizzazione dei canali sodio, determinando una *ipossia virtuale*, e inadeguata fornitura di energia, aggravata da una citotossicità al glutammato. Questa degenerazione di assoni e neuroni nella GM potrebbe tradursi in una demielinizzazione e provocare delle lesioni visibili nella GM. Altre teorie, invece, pongono come punto di partenza i meccanismi primari che danneggiano la GM (in arancio), che non provocano nessun effetto alla WM, provocati da un'infiammazione alle meningi con rilascio di sostanze tossiche alla mielina. Questo porterebbe alla demielinizzazione degli assoni della GM e la conseguente degenerazione neuro-assonale.

sulle connettività funzionali del cervello dovrebbero chiarire le relazioni tra gli effetti delle lesioni della WM e l'integrità corticale su vaste regioni della GM. Le cause della degenerazione neuro-assonale in alcune aree della GM sono ancora poco chiare e i meccanismi che creano danni alla GM potrebbero essere diversi da quelli che creano danni alla WM.

Capitolo 2

DIR: double inversion recovery

La sequenza chiamata *Inversion Recovery* (IR) può essere utilizzata per annullare in segnale acquisito di un determinato tessuto, scegliendo il giusto intervallo di tempo TI tra un impulso ed un altro. Nel caso di studio esso è equivalente a:

$$TI = \ln 2 \cdot T_1 \quad (2.1)$$

dove T_1 è il tempo di rilassamento longitudinale proprio del tessuto. La sequenza più comune che utilizza questo tipo di principio è la STIR (*short TI inversion recovery*), dove il TI viene scelto per la soppressione del grasso. L'utilizzo di un ulteriore impulso di inversione permette di annullare contemporaneamente il segnale di due tessuti diversi (per esempio il grasso e i fluidi): questo tipo di sequenze viene chiamata *Double Inversion Recovery* (DIR). Si consideri un'immagine MR costituita semplicemente dai segnali provenienti da solamente tre tipologie di tessuto diverso: WM, GM, e CSF. Se per esempio si fosse interessati solo alla GM e si volesse eliminare il contributo del CSF e WM, verrà applicato un impulso iniziale di 180° al tempo 0. Durante l'intervallo di tempo TI_1 , la magnetizzazione della WM e GM recuperano completamente, mentre quella del CSF, avendo un tempo di rilassamento T_1 maggiore, recupera solo per una parte. Successivamente viene applicato un secondo impulso di 180° e il secondo intervallo di inversione T_2 viene scelto

appositamente affinché si annulli completamente il contributo della WM e del CSF, mentre il contributo della GM rimane negativo, perchè possiede un tempo di rilassamento T_1 più grande (vedi fig. 2) ; questo genera il segnale nelle immagini [7].

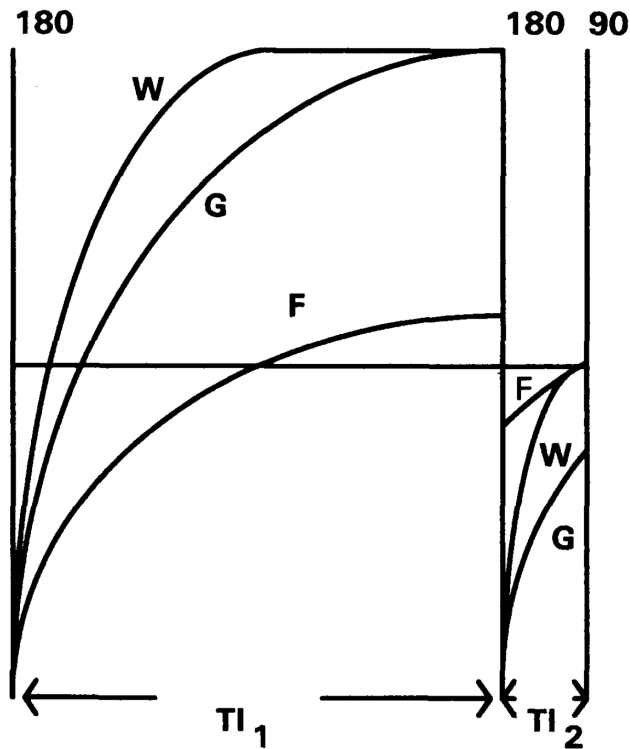


Figura 2.1: Andamento della magnetizzazione negli intervalli TI_1 e TI_2 per il CSF (F), GM (G) e WM (W). Con il secondo impulso di 180° le magnetizzazioni vengono invertite di segno e ricompaiono con lo stesso modulo sotto l'asse orizzontale. Con l'impulso di 90° e l'inizio della sequenza FSE (non disegnata) è presente solo la magnetizzazione della GM (G), mentre il segnale per CSF e WM vengono annullati [7].

Purtroppo, nella realtà non è così semplice perchè la morfologia del tessuto cerebrale è molto complessa. Per esempio, nella zona detta sulci, la complessità del tessuto è tale che nello stesso voxel si possono trovare tutti i tipi di tessuto insieme (GM, WM e CSF). La sequenza DIR, in ogni caso,

offre un metodo di segmentazione diretta dei tessuti cerebrali, utilizzando l'hardware e le sequenze a disposizione, diversamente dalle usuali sequenze T1 e T2 pesate, dove la segmentazione viene effettuata con algoritmi in post-processing all'acquisizione.

2.1 Caratteristiche della sequenza DIR

La sequenza consiste principalmente in due impulsi di inversione e una successiva sequenza convenzionale spin-echo. Gli intervalli TI_1 e TI_2 sono definiti come in figura 2 e l'intervallo tra l'inversione di 90° della SE e il primo impulso di 180° è detto τ , ed equivale a $\tau = TE/2$, dove TE è il tempo di echo della SE utilizzata.

I tempi di intervallo tra i due impulsi, TI_1 e TI_2 , vengono scelti in modo tale da annullare la magnetizzazione per la WM e la CSF simultaneamente. Il valore della magnetizzazione M_A presente immediatamente prima dell'impulso di 90° può essere calcolata dall'equazione di Bloch, e con alcune semplificazioni [8], diventa:

$$M_A = M_0(1 - 2E_2 + 2E_1E_2 - E_c(2E_\tau^{-1} - 1)) \quad (2.2)$$

dove:

$$\begin{aligned} E_1 &= \exp(-TI_1/T_1) \\ E_2 &= \exp(-TI_2/T_1) \\ E_c &= \exp(-TR/T_1) \\ E_\tau &= \exp(-\tau/T_1) \end{aligned} \quad (2.3)$$

Per annullare i segnali appartenenti ai due tessuti è necessario selezionare TI_1 e TI_2 in modo tale che valga, per entrambi i tempi di rilassamento T_1 :

$$1 - 2E_2 + 2E_1E_2 - E_c(2E_\tau^{-1} - 1) = 0 \quad (2.4)$$

Questo può essere eseguito per via grafica. Infatti, riscrivendo la (2.4) in funzione di E_2 , TI_2 può essere plottato come funzione di TI_1 per un particolare valore di T_1 , utilizzando l'equazione:

$$TI_2 = -T_1 \ln E_2 \quad (2.5)$$

Viene plottata una seconda curva per il secondo tessuto da sopprimere e il punto di intersezione delle due curve restituisce i valori di TI_1 e TI_2 richiesti per annullare il segnale di entrambi i tessuti.

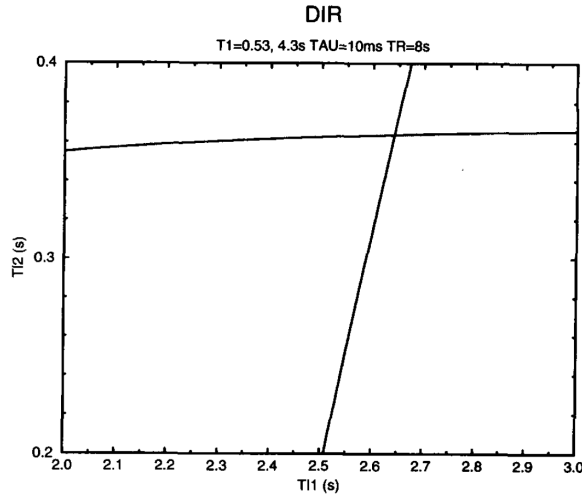


Figura 2.2: Valori di TI_2 necessari per annullare la WM (curva orizzontale) e il CSF (curva verticale) in funzione di TI_1 in una sequenza DIR con $TR=8$ s e $\tau=10$ ms. L'intersezione delle due curve dà necessariamente i valori di TI_1 e TI_2 per annullare i segnali di entrambi i tessuti [7].

Per ottenere questo risultato è necessario conoscere a priori il tempo di rilassamento T_1 dei tessuti che devono essere annullati. Fisher [9] ha descritto precisamente i tempi di rilassamento per la WM di 920 ms e per la GM di 530 ms con variazioni del 20% e 10% rispettivamente. A questo punto è necessario selezionare il valore ottimo di TI_2 , in funzione di TI_1 , affinché entrambi i contributi della WM e CSF si annullino. Le curve si intersecano nei valori $TI_1 = 2850$ ms e $TI_2 = 360$ ms, valori che verranno utilizzati nella

sequenza DIR. In realtà, evidenze sperimentali mostrano che per ottenere una soppressione dei tessuti WM e CSF gli intervalli di tempo ottimi risultano $TI_1 = 2300$ ms e $TI_2 = 300$ ms con $TR=8000$ ms e $TE=20$ ms; la durata totale della scansione per un intero volume è attorno ai 5 minuti [7].

Gli impulsi di inversione che vengono aggiunti alla sequenza IR sono uguali e hanno una durata di 5.12 ms, sono di tipo *sinc* costituito da lobi *single-side*. Per aumentare la velocità di acquisizione e acquisire quante più slice possibile in modalità multislice, l'impulso a RF viene applicato prima su ciascuna slice durante la prima metà dell'intervallo TR, mentre il secondo impulso di inversione e gli impulsi della sequenza SE vengono eseguiti nella seconda metà del TR. In definitiva, un set di N impulsi di inversione viene seguito da N set di: $(180^\circ TI_2 90^\circ \tau 180^\circ \tau \text{echo})$ per ciascun intervallo TR. Analizzando le immagini ottenute con la sequenza DIR, è importante valutare alcuni parametri utili a capire i principali vantaggi dell'utilizzo di questa particolare sequenza rispetto alle usuali sequenze MR. Il rapporto tra la differenza e la somma dell'intensità dei pixel appartenenti a due classi di tessuti diversi viene calcolato attraverso il parametro CR (*contrast ratio*):

$$CR = \frac{(S_1 - S_2)}{(S_1 + S_2)} \quad (2.6)$$

dove S_1 e S_2 sono la media dei segnali dei voxel appartenenti a due ROI diverse. Idealmente CR vale 0 quando tra due tessuti non vi è nessuna differenza nella media del segnale, mentre vale ± 1 quando la differenza è massima e vi è una completa soppressione in uno dei due tessuti. A causa del rumore, anche seppur piccolo, presente nelle immagini, ci si aspetta un valore inferiore a 1 per grandi contrasti, come per esempio aria/tessuto.

Ipotizzando di voler annullare la WM, il coefficiente CR per la coppia di tessuti GM/WM è in media 0.80 ± 0.08 , rispetto ad un valore 0.24 ± 0.04 per una tipica immagine MR SE T_2 pesata; per la coppia GM/CSF, il coefficiente CR vale 0.78 ± 0.08 rispetto a -0.38 ± 0.01 per una T_2 pesata (il segno meno indica che l'intensità tra i due tessuti è invertita nell'immagine DIR rispetto ad un'immagine T_2 pesata); infine per la coppia GM/aria il coefficiente CR vale 0.88 ± 0.02 , contro 0.92 ± 0.01 di un'immagine T_2 [7]. Tranne per la

coppia GM/aria, il coefficiente CR per la sequenza DIR assume valori elevati sia rispetto alla sequenza T_2 sia in senso assoluto, che implicano valori di contrasto della GM rispetto agli altri tessuti abbastanza elevati.

Nelle immagini MR con sequenze DIR vengono ottenute buone soppressioni dei segnali della WM, la GM appare molto chiara ma la soppressione del CSF non risulta ancora ottimale perchè sono presenti alcuni artefatti. La sequenza DIR, comunque, risulta un ottimo metodo di ulteriore segmentazione della WM e GM o, eventualmente, di altri tessuti, andando a modificare il parametro T_1 proprio del tessuto non interessato.

2.2 Confronto tra DIR e FLAIR

La sequenza *Fluid-Attenuated Inversion Recovery* (FLAIR) veniva utilizzata solitamente nella ricerca di lesioni del CNS, perchè queste possiedono un'alta intensità di segnale nelle immagini T_2 pesate (e quindi anche nella FLAIR) dovuto al fatto che il segnale del CSF interferisce con la soppressione del segnale delle lesioni, riducendo il suo T_1 . I tempi di acquisizione sono di circa 5 minuti per la DIR e 4 minuti per la FLAIR, ma con la tecnologia FSE, questi tempi possono venire ridotti, portando ad un utilizzo di routine di queste sequenze nelle immagini MR di laboratorio. Uno dei principali problemi nell'utilizzo di immagini MR con queste sequenze consiste nel fatto che lunghi tempi di acquisizione portano a spostamenti involontari del soggetto, spesso con disabilità motorie, provocando artefatti che influenzano enormemente le immagini.

Nella studio delle lesioni, queste hanno evidenziato un tempo di inversione TI piuttosto corto (dette STIR, *short TI inversion recovery*), a causa degli effetti combinati dei lunghi tempi di rilassamento T_1 e T_2 . Con la tecnica STIR, però, le lesioni adiacenti al CSF erano difficili da distinguere dallo stesso a causa dell'effetto di *partial volume*, particolarmente presente per la complessità delle strutture interne al cervello. Più tardi, con l'avvento della DIR, questo problema è stato quasi completamente risolto, provvedendo alla

completa soppressione del segnale CSF.

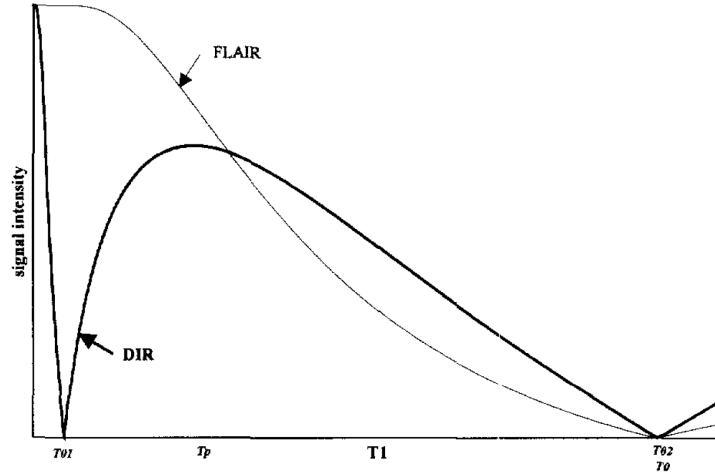


Figura 2.3: Andamento del segnale per la sequenza DIR e FLAIR all'aumentare del tempo di rilassamento T_1 . Il segnale FLAIR si annulla al tempo T_0 , mentre il segnale DIR al tempo T_{01} e T_{02} ed ha il suo massimo in T_p [10].

Nelle immagini FLAIR, le lesioni con un contrasto T_2 debole, possono venire mascherate dall'influenza di un prolungato tempo di rilassamento T_1 . Aggiungendo un secondo impulso di inversione nella sequenza FLAIR, e ottenendo quindi la DIR, viene soppresso un secondo tipo di tessuto, con tempo di rilassamento diverso dal primo T_1 , e più corto. Per beneficiare dei vantaggi potenziali della DIR, è importante considerare parametri che facilitino la soppressione del CSF, di poca utilità dal punto di vista clinico, e in aggiunta, quella del grasso e della WM o GM.

Dal confronto delle lesioni su immagini FLAIR e DIR [10], è possibile dire che quasi tutte le lesioni vengano identificate in modo simile con le due sequenze e non ci sono differenze statistiche tra queste.

Sono state riscontrate però alcune differenze tra le due sequenze, soprattutto per quanto riguarda i contrasti tra i diversi tessuti. Le lesioni nella zona infratentoriali sono meglio identificate con la DIR, mentre nella superficie cerebrale sono meglio identificate con la FLAIR. Inoltre, la sequenza DIR,

rispetto alla sequenza FLAIR, mostra un differenziamento tra WM e GM molto più alto. Il coefficiente CR risulta più alto per quanto riguarda la coppia GM/WM e GM/CSF: nelle immagini DIR la GM appare di intensità più elevata rispetto a quella degli altri tessuti. In entrambe le sequenze viene ottenuto una soppressione sufficiente del segnale del CSF, ma in alcuni casi, probabilmente a causa della disomogeneità del campo magnetico o a spin non correttamente invertiti durante l'intervallo TI_1 più lungo o ad artefatti di pulsazione del CSF correlata al battito cardiaco, la soppressione di questo tessuto con la DIR non è ottimale. In entrambe le sequenze, gli artefatti dovuti al flusso sanguigno sono di bassa intensità e, in ogni caso, questi artefatti possono essere identificati facilmente e generalmente non causano problemi allo studio diagnostico delle immagini. Il tessuto grasso viene soppresso in maniera marcata più nella DIR rispetto alla FLAIR, ma nella prima il rumore nelle immagini appare leggermente più elevato [10].

In conclusione, dall'analisi delle analogie e differenze tra immagini FLAIR e DIR, non ci sono differenze significative nella determinazione del numero di lesioni, mentre vi è una differenza sostanziale nei contrasti tra tessuti diversi, elemento che contraddistingue la DIR nel mostrare in modo più marcato la GM rispetto a WM e CSF.

2.3 Importanza della sequenza DIR nella determinazione delle lesioni corticali

Come già spiegato esaurientemente nel capitolo precedente, il ruolo della GM nella fisiopatologia della MS ha ottenuto sempre più attenzioni negli ultimi anni. Le lesioni cerebrali provocate dalla MS sono per la gran parte localizzate nell'interno della corteccia cerebrale o nel limite tra la corteccia e la WM subcorticale. E' stato dimostrato, inoltre, la presenza di un'estensiva demielinizzazione della subpia con lesioni che si estendono dalla pia madre fino alla zona corticale della GM. Poiché le lesioni e l'alterazione dello stato normale di tessuto della GM corticale potrebbero ben correlate con la disabilità psichica e neuropsichica presente nei pazienti affetti da MS, è essenziale

trovare una procedura veloce e accurata per la stima e localizzazione delle lesioni della GM e per la stima della variazione del numero o volume in studi di follow-up.

Le usuali sequenze di acquisizione di immagini di risonanza magnetica non sono adatte per la ricerca delle lesioni corticali, sebbene sequenze come 3D-FLAIR riescono a determinare un aumento del numero delle lesioni in studi di follow-up. Nonostante ciò, il problema è dovuto alle aree in cui sono presenti le lesioni: la corteccia. Il bordo anatomico che delimita la corteccia e la WM subcorticale è difficile da determinare utilizzando sequenze come la FLAIR, e in tal caso, assegnare una lesione alla zona corticale, o un misto tra GM e WM, o intracorticale, diventa un problema. Con la sequenza DIR [11], può essere scelto un tempo di inversione degli spin tale che sia il segnale della WM che del CSF vengono soppressi, lasciando nell'immagine MR la GM ben visibile. La differenza della DIR rispetto alle immagini T1 pesate tradizionali consiste, appunto, nel fatto che il tempo di rilassamento della GM è nettamente diverso sia dalla WM, che dal CSF.

E' stata proposta una tecnica 2D-DIR ma a causa dell'esigua struttura della corteccia, oggetto di studio, è stato necessario utilizzare una tecnica 3D ad alta risoluzione spaziale [12].

Sono state successivamente sviluppate sequenze chiamate *multislab 3D* che combinano un contrasto selettivo per la GM e un'alta risoluzione spaziale lungo la slice di acquisizione e tra slice diverse rispetto alle usuali immagini 2D. Durante l'acquisizione, vengono sovrapposte slice dello spessore di 3 mm, in modo da portare la risoluzione finale di ciascuna slice a 1.5-1.0 mm e poter compensare l'imperfezione dei loro profili e prevenire artefatti nell'intorno dell'immagine. Nonostante ciò, a causa della disomogeneità del campo magnetico tra le slice parzialmente sovrapposte, disomogeneità del rumore e a causa della perdita di segnale dovuto al flusso sanguigno, si genera un artefatto chiamato *venetian blind*: esso consiste in bande chiare e scure parallele all'asse orizzontale di scansione. L'artefatto, in ogni caso, può essere minimizzato variando i parametri in modo ottimo, ma non è possibile eliminare completamente gli artefatti dovuti al flusso sanguigno e del CSF. Considerando che la risoluzione spaziale di ogni immagine, solitamente di

256x256 pixel, è di 1.0 x 1.0 mm, è facile poter cambiare orientazione delle immagini lungo i 3 assi principali senza perdere qualità delle immagini, perchè la risoluzione lungo le 3 direzioni è pressochè la stessa (risoluzione spaziale isotropica). Questo vantaggio è di grande rilevanza, poichè spesso nella ricerca delle lesioni è necessario utilizzare più prospettive della stessa regione di interesse per poterle rilevare in maniera più precisa, e ciò può essere fatto senza perdita di qualità o aggiunta di approssimazioni dovute ad interpolazioni [11].

Secondo uno studio effettuato, le immagini 3D-DIR mostrano un aumento medio del 152% di lesioni intracorticali rispetto alle immagini 3D-FLAIR e un aumento del 500% rispetto a immagini T2-SE, sequenze molto comune e usata molto spesso in ambito clinico e di ricerca [11]. Sono stati visualizzate, però, alcune lesioni intracorticali in soggetti normali; questi risultati appaiono in disaccordo e fanno pensare che in realtà le lesioni siano degli artefatti della sequenza.

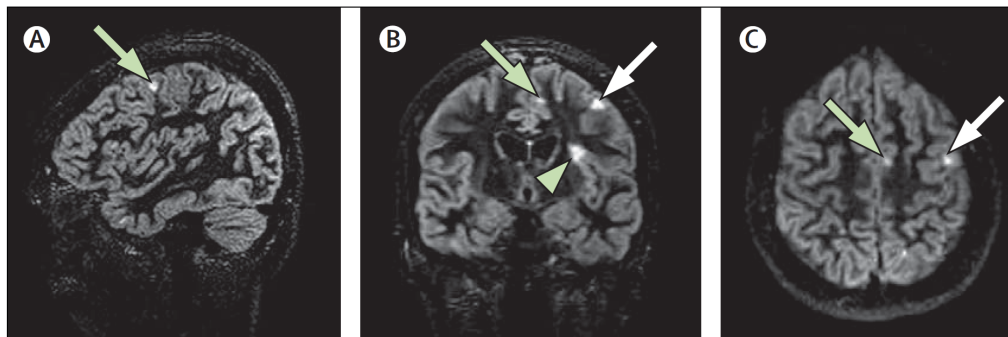


Figura 2.4: Immagini di una single-slab 3D-DIR nel piano sagittale (A), coronale (B) e assiale (C) in un paziente affetto da MS. Sono ben evidenti le lesioni della GM corticale (in A, C e B indicate con freccia bianca e verde); in B con il triangolo verde è indicata invece una lesione in GM-WM [2].

Il rapporto segnale-rumore (SNR) tra lesioni e GM è simile per tutte e tre le sequenze, ma il contrasto tra le lesioni e la GM per la DIR è molto più alto che rispetto alle altre due sequenze, il che facilita il riconoscimento delle stesse nella regione corticale. Oltre all'aumento di sensibilità nelle lesioni in-

tracorticali, il secondo vantaggio più grande delle immagini 3D-DIR consiste in una distinzione più netta e marcata tra lesioni nella GM-WM, juxtacorticali e intracorticali, mentre l'usuale sequenza T2-SE classificava quasi tutte le lesioni nella zona juxtacorticale. Invece, differenze molto piccole sono state riscontrare nel numero di lesioni nella WM utilizzando le tre differenti tecniche in esame, perchè queste sono di più facile rilevazione.

In un altro studio che applica la sequenza DIR con una macchina a 3 T [13], si ha un'ulteriore attenuazione del CSF e della WM, aumentando il rapporto segnale rumore e il contrasto rispetto alle sequenze FLAIR e T2-SE, sia alla stessa DIR a 1.5 T. In generale, l'utilizzo di alti campi magnetici porta ad un aumento quasi lineare del SNR e una riduzione dei tempi di acquisizione, un aumento della sensibilità nella ricerca di lesioni del cervello come quelle rilevate nella MS.

Nelle immagini DIR a 3 T si ha un leggera perdita di sensibilità nella ricerca delle lesioni nella zona juxtacorticale della WM, controbilanciata però da un aumento significativo delle lesioni nella zona GM-WM, come già osservato nella sequenza da 1.5 T, ma l'aumento non è molto diversa da quest'ultimo caso, come invece ci si poteva aspettare quando viene aumentato il campo magnetico di utilizzo.

Uno dei difetti della sequenza DIR consiste nella necessità di operare con pazienti in grado di collaborare, perchè l'acquisizione del volume del cervello utilizzando la sequenza DIR impiega un tempo più grande delle usuali sequenze T1 e T2 pesate. La causa dei lunghi tempi di acquisizione è da ricercarsi nella tecnica 3D multislabs della DIR, in cui circa il 60% del tempo di acquisizione viene impiegato per sovrapporre le slice adiacenti [11]. Se il paziente non rimane fermo durante la registrazione, si verificano inevitabilmente artefatti da movimento che alterano l'immagine e rendono poco precisa l'analisi. Negli ultimi anni sono state sviluppate nuove tecniche in grado di velocizzare la sequenza mantenendo la stessa risoluzione dell'immagine, anche utilizzando un campo magnetico più grande, come il 3 T, ma sono presenti notevoli problemi (tra cui la disomogeneità del campo magnetico) che devono essere risolti.

Capitolo 3

DTI: Diffusion Tensor Imaging

3.1 Introduzione

La trattografia è una tecnica utilizzata nelle immagini di MR in grado di generare una rappresentazione virtuale tridimensionale delle fibre di WM. Per ottenere questa informazione si utilizzano sequenze MR sensibili alle proprietà diffusive delle molecole d'acqua.

La principale assunzione alla base della trattografia è che la direzione principale dello spostamento delle molecole d'acqua, chiamata *asse principale* del tensore di diffusione, corrisponda all'orientazione predominante delle fibre nervose nel voxel di interesse [14].

Il tensore di diffusione è una descrizione matematica dell'intensità e direzionalità del movimento delle molecole d'acqua nello spazio tridimensionale. In particolare, nelle fibre di WM all'interno del cervello, la diffusione dell'acqua è anisotropa, ovvero avviene lungo la direzione delle fibre, perchè le molecole si muovono molto più facilmente lungo la direzione parallela alle fibre, piuttosto che lungo la direzione perpendicolare. Pertanto, per ciascun voxel, il tensore di diffusione restituisce due importanti informazioni: l'intensità della diffusione e la direzione nelle 3 dimensioni dello spazio della diffusione massima. Gli algoritmi di trattografia utilizzano queste informazioni di tutti i voxel per determinare il percorso delle fibre di tutta la WM, inferendo sulla continuità

della direzione delle fibre voxel per voxel. In particolare, la direzione della diffusione massima in un voxel deve essere quasi la stessa nei voxel adiacenti a questo; se l'angolo tra le due direzioni è minore di un determinato angolo, scelto come soglia, allora i due voxel sono collegati tra di loro e il processo viene ripetuto lungo il percorso della WM considerato. Se invece l'angolo tra le due direzioni di diffusione massima è maggiore di una determinata soglia, la fibra viene interrotta in quel punto. La scelta dell'angolo di soglia è importo importante perchè fondamentalemente seleziona quale percorso delle fibre tenere dal calcolo e quale no. Non tutti gli algoritmi utilizzano questa soglia, altri utilizzano una soglia di anisotropia, ovvero la direzione delle fibre è continua se le direzioni della massima diffusione sono ben definite. Poichè l'aumento della certezza nel definire la massima diffusione lungo una direzione prevalente porta ad un aumento dell'anisotropia in quel voxel, il processo di calcolo del tratto della fibra continua se l'anisotropia in ciascun voxel è maggiore di una specifica soglia [15].

Si rende chiaro, quindi, che il calcolo della trattografia è funzione di diversi fattori, come la soglia dell'angolo o dell'anisotropia e la regione *seme* da cui parte il calcolo, che vengono aggiustati con rigore dai ricercatori.

Rispetto alle precedenti tecniche invasive di determinazioni delle direzioni delle fibre che utilizzavano traccianti, ma che riuscivano a determinare il percorso di un singolo neurone, la trattografia mostra le direzioni principali del tensore di diffusione di ciascun voxel, media dei segnali MR delle fibre all'interno dello stesso, solitamente di una risoluzione di 2-5 mm^3 . A causa della discrepanza tra la piccola dimensione del neurone e la grande dimensione di ciascun voxel, causata da una scarsa risoluzione spaziale delle immagini DTI, le immagini contengono del rumore diffuso ed eventuali artefatti possono provocare errori nel calcolo della direzione delle fibre. A questi importanti limitazioni dell'utilizzo della trattografia, segue il fatto che, a causa del calcolo di un'unica direzione prevalente per ciascun voxel, con questa tecnica si riscontrano problemi in quelle regioni in cui più sono presenti più di un gruppo di fibre o quando le stesso si incrociano, si uniscono o si dividono. Queste limitazioni possono provocare il calcolo di percorsi che non esistono (falsi positivi) o percorsi che non vengono visti dall'algoritmo (falsi negativi),

errori che possono essere corretti da conoscenze a priori. Altre limitazioni sono l'incapacità di determinare il verso delle fibre, o determinare la presenza di sinapsi o chiarire se il percorso è funzionale o meno [14].

Sono disponibili molti algoritmi usati in trattografia, ma non c'è ancora una chiara validazione della loro affidabilità, accentuata dal fatto che non ci sono tuttora delle modalità per valutare la differenza di performance tra un algoritmo ed un altro, perchè i tratti anatomici delle fibre di riferimento in un cervello umano *in vivo* non possono essere determinate con precisione.

3.2 Principi fondamentali

Per diffusione molecolare ci si riferisce al moto di molecole, chiamato *moto Browniano*, determinato dall'energia termica liberata da queste molecole. Il successo della diffusione nelle immagini MR consiste che la diffusione random delle molecole viene guidata dalle strutture tessutali: durante un intervallo di 50 ms, le molecole d'acqua attraversano una distanza di circa 10 μm , incrociandosi e interagendo con alcuni componenti tessutali, quali membrane cellulari, fibre e macromolecole. Gli effetti osservati in un voxel di alcuni mm_3 di immagine MR-DTI riflette, su base statistica, la distribuzione dello spostamento delle molecole d'acqua presenti all'interno del voxel, che offrono un grande aiuto nella determinazione della struttura e organizzazione geometrica dei tessuti [16]. Inoltre, la DTI utilizza anche i vantaggi dell'imaging MR, ovvero l'accesso agli organi periferici ed interni in alta risoluzione e senza interferire con il processo di diffusione, poichè quest'ultimo è completamente indipendente dai campi magnetici applicati nella MR, tranne per il caso dei parametri T1 e T2.

Il processo di diffusione è completamente descritto utilizzando un singolo parametro scalare, il *coefficiente di diffusione* D. L'effetto della diffusione nel segnale MR è un'attenuazione, A, in funzione del coefficiente D e del *b factor*, che caratterizza il gradiente di impulsi (tempo, ampiezza, forma) usato nella sequenza:

$$A = \exp(-bD) \quad (3.1)$$

con $b = (\gamma\delta G)^2\Delta t$, dove γ è il rapporto giromagnetico, δ è la durata dell'impulso, G l'intensità del campo magnetico costante e Δt la durata dell'impulso. In generale, a causa dell'anisotropia dei tessuti, la diffusione non può essere caratterizzata da un singolo coefficiente scalare, ma, in modo più specifico, da un *tenore* $\mathbf{D}$, una matrice 3×3 , che descrive la mobilità molecolare lungo ciascuna direzione e la correlazione tra di loro.

$$\mathbf{D} = \begin{bmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{bmatrix} \quad (3.2)$$

Il tensore di diffusione è simmetrico ($D_{ij} = D_{ji}$, con $i, j = x, y, z$). Se consideriamo solamente la diffusione lungo i tre assi principali, il tensore $\mathbf{D}$ diventa diagonale, ponendo a zero i termini misti, e il *b factor* una matrice anch'essa diagonale. Il calcolo dell'attenuazione del segnale MR diventa:

$$A = \exp(-b_{xx}D_{xx} - b_{yy}D_{yy} - b_{zz}D_{zz}) \quad (3.3)$$

Sfortunatamente, le misure di diffusione lungo le tre direzioni principali non coincidono quasi mai esattamente con le direzioni di diffusione del tessuto. Pertanto è necessario considerare anche le coppie di parametri non diagonali della matrice b (b_{ij} , con $i \neq j$) e del tensore di diffusione (D_{ij} , con $i \neq j$), che include ora la correlazione tra gli spostamenti di diffusione nelle direzioni principali:

$$\begin{aligned} A &= \exp\left(-\sum_{i=x,y,z} \sum_{j=x,y,z} b_{ij}D_{ij}\right) \\ &= \exp(-b_{xx}D_{xx} - b_{yy}D_{yy} - b_{zz}D_{zz} - 2b_{xy}D_{xy} - 2b_{xz}D_{xz} - 2b_{yz}D_{yz}) \end{aligned} \quad (3.4)$$

E' importante notare che utilizzando il gradiente per la diffusione lungo una sola direzione, per esempio lungo x , l'attenuazione del segnale non dipende solamente dalla diffusione lungo quella direzione, ma include anche i contributi lungo le altre due direzioni, y e z . Il calcolo di $\mathbf{b}$ può diventare complicato con l'utilizzo di più gradienti pulsati, ma è necessario un loro utilizzo per una completa descrizione del tensore di diffusione e il grado di anisotropia.

3.3 Acquisizione e processing dei dati

Per la determinazione completa del tensore di diffusione, è necessario utilizzare una serie di immagini pesate in diffusione, utilizzando gradienti lungo diverse direzioni, con una sequenza MR sensibile alla diffusione dell'acqua, come una EPI (*echo-planar imaging*). Poichè il tensore di diffusione è simmetrico, è costituito da sei diversi parametri che devono essere stimati; pertanto, in linea teorica, sono necessarie al minimo sei immagini pesate in diffusione ottenute utilizzando sei gradienti applicati in sei direzioni diverse, più un'acquisizione di partenza ottenuta senza applicazione del gradiente ($b=0$). Un tipico set di gradienti che campiona in modo uniforme lo spazio, utilizzando un valore costante di b lungo tutte le direzioni risulta:

$$\begin{bmatrix} (1/\sqrt{2}, 0, 1/\sqrt{2}) & (-1/\sqrt{2}, 0, 1/\sqrt{2}) \\ (0, 1/\sqrt{2}, 1/\sqrt{2}) & (0, 1/\sqrt{2}, -1/\sqrt{2}) \\ (1/\sqrt{2}, 1/\sqrt{2}, 0) & (-1/\sqrt{2}, 1/\sqrt{2}, 0) \end{bmatrix} \quad (3.5)$$

Questo set minimo di gradienti può essere ripetuto più volte e mediato, per aumentare il SNR. Recenti studi e simulazioni [17] suggeriscono di utilizzare un numero massimo di 30 gradienti disposti uniformemente nello spazio per ottenere una stima robusta dei coefficienti di diffusione.

Da notare che non è necessario e neppure efficiente in termini di SNR ottenere acquisizioni con differenti b value per ciascuna direzione. Nel caso che la

diffusione fosse scalare, un modo per ottenere il coefficiente di diffusione con la migliore approssimazione è utilizzare 2 *b factor*, b_1 e b_2 , che differiscono per $1/D$; nel caso del cervello, $(b_2 - b_1) \approx 1000 - 1500 \text{ s/mm}^2$. Se invece vengono utilizzate più di due acquisizioni, per essere poi mediate, la teoria della propagazione degli errori dimostra che è meglio utilizzare due misure, n_1 e n_2 per due *b factor* b_1 e b_2 , uno di modulo alto e l'altro di modulo basso, rispetto che a una serie di misure utilizzando un range di *b factor*. L'acquisizione delle immagini pesate utilizzando un set di *b value* lineare risulta, in ogni modo, utile a livello di performance hardware e di sequenze MR e per una migliore stima della diffusione in presenza di più compartimenti.

La sequenza di acquisizione, EPI, è una sequenza pulsata, inizialmente introdotta da Stejskal e Tanner nel 1965 e poi modificata, che acquisisce le immagini in un intervallo di tempo molto breve (solitamente 30-60 ms per slice), eliminando pertanto qualsiasi artefatto dovuto allo spostamento del paziente durante l'acquisizione, fenomeno che avviene spesso nei pazienti affetti da MS con problemi di disabilità o con altre malattie degenerative. D'altro canto, la breve durata dell'acquisizione comporta immagini con una più bassa risoluzione spaziale e distorsione geometriche provocate dalla disomogeneità del campo magnetico rispetto alle usuali immagini MR (vedi fig 3.1). Questo problema può diventare significativo quando si effettuano studi quantitativi sovrapponendo diverse immagini, quali segmentazione della GM su immagini T1 pesate: in questi casi ci possono essere problemi di corrispondenze nelle diverse acquisizioni che possono fuorviare i risultati finali. Le distorsioni geometriche devono essere corrette prima che le immagini EPI vengano utilizzate con le usuali immagini MR [18]. Per evitare artefatti visibili dovuti al trasferimento di magnetizzazione causato dal grasso sottocutaneo, vengono 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 viene quindi acquisito utilizzando questa particolare sequenza EPI pesata in diffusione in un tempo molto breve e il processo viene ripetuto per ciascuna direzione del gradiente. Inoltre, i dati acquisiti

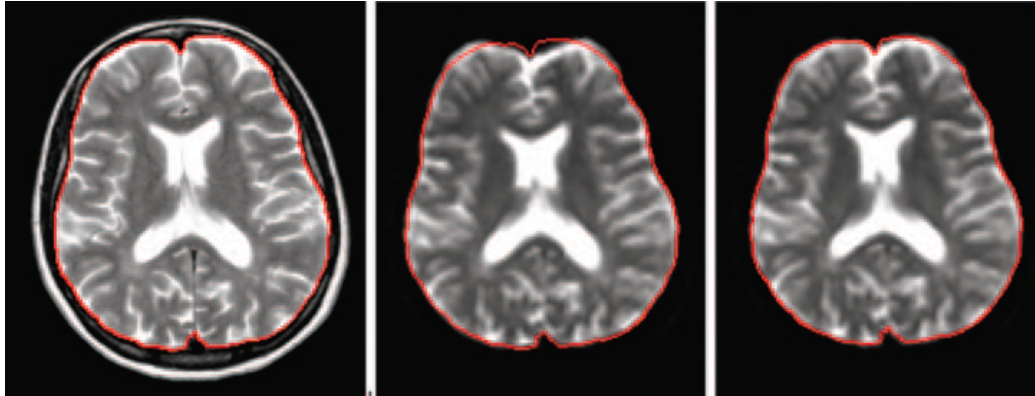


Figura 3.1: Distorsione geometrica di un'immagine EPI comparata con un'immagine FSE T2 pesata (a sx). Il bordo rosso che costituisce la segmentazione della materia cerebrale nell'immagine T2 è stato sovrapposto all'immagine EPI (al centro) per evidenziare la distorsione. A sx, l'immagine corretta attraverso una trasformazione non lineare [18].

devono essere messi in correlazione con il battito cardiaco del soggetto, perchè 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 i tempi di acquisizione del segnale, limitando l'analisi alla maggior parte dei pazienti disabili affetti da MS.

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 di quei 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 o rimosse in gran parte utilizzando delle metodologie post-processing (vedi fig. 3.2).

Recentemente sono state sviluppate tecnologie, utili in generale nell'ambito dell'imaging MR, ma che hanno avuto un grande potenziale utilizzo positivo nelle acquisizioni di immagini DT; esse sono l'utilizzo di magneti ad

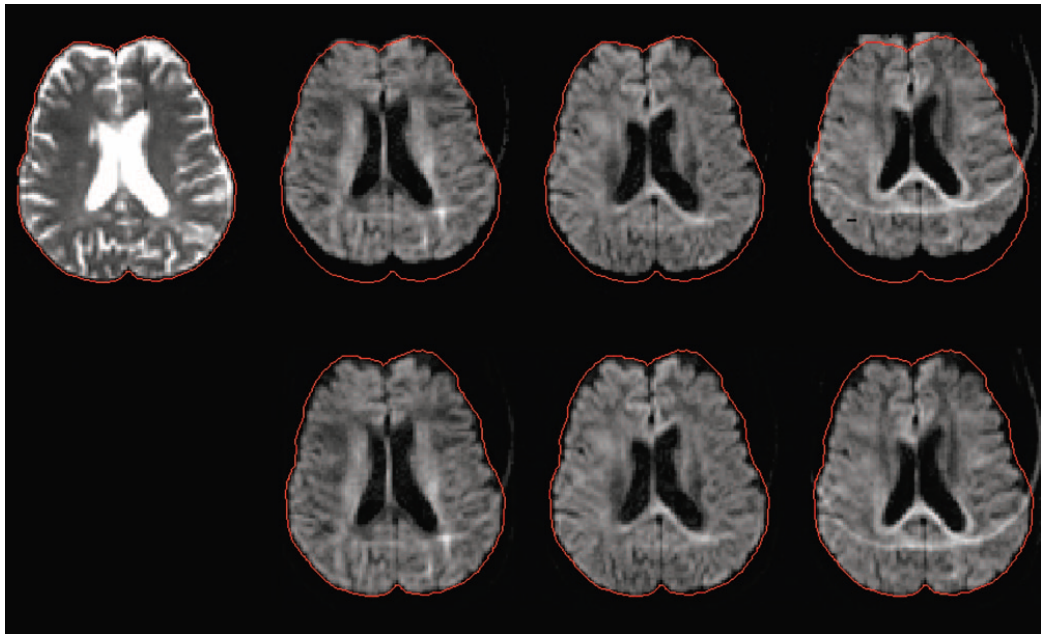


Figura 3.2: Distorsione geometrica provocata dalle eddy-currents. In alto a sx un'immagine non pesata in diffusione. Nella prima riga 3 immagini DT con gradienti applicati in diverse direzione e nella seconda riga le stesse 3 immagini corrette. La linea rossa della materia cerebrale dell'immagine non pesata è stata riportata su tutte le altre. Nelle immagini DT pesate è presente un artefatto causato dalla soppressione non ottima del grasso a causa della disomogeneità del campo magnetico [18].

alta resistenza, per poter essere utilizzati in scanner 3T, e ricevitori multipli assieme a migliori tecniche di acquisizione delle immagini. Entrambi queste tecnologie hanno incoraggiato l'utilizzo di immagini DT nella ricerca della MS aumentandone la risoluzione spaziale. L'utilizzo di grandi campi magnetici, quali il 3T, comporta un migliore SNR, una miglior risoluzione spaziale ma tempi più lunghi di acquisizione. I principali limiti dell'utilizzo di grandi campi magnetici consiste nella disomogeneità avvertita nei ricevitori ed emettitori a RF, che in particolare nella DTI, possono provocare alterazioni quantitative dei parametri stimati.

Il secondo passaggio è la stima dei valori D_{ij} dal set di immagini pesate in diffusione. La relazione tra il campo magnetico applicato e l'intensità del segnale di eco ricevuto, espressa inizialmente dalla (3.4), viene trasformata in:

$$\ln\left(\frac{A}{A_0}\right) = - \sum_{i=x,y,z} \sum_{j=x,y,z} b_{ij} D_{ij} \quad (3.6)$$

dove A è l'intensità dell'eco acquisito, A_0 è l'intensità dell'eco senza gradienti applicati, e b_{ij} e D_{ij} sono le ij -esime componenti del tensore di diffusione D e della matrice dei b value. Poichè le acquisizioni sono state studiate per registrare misure delle intensità di eco indipendenti tra di loro, per la stima dei parametri di diffusione viene utilizzata una regressione lineare multivariata.

Dai componenti del tensore di diffusione è possibile calcolare degli indici che riflettono la diffusione media e il grado di anisotropia di ciascun voxel [14]. Il passo successivo è determinare la direzione principale di diffusione in ciascun voxel e i valori di diffusione associati a queste direzioni. Questo equivale ad annullare i termini fuori dalla diagonale del tensore, ovvero diagonalizzando il tensore di diffusione attraverso la teoria degli autovettori e autovalori, che in questo caso specifico, corrispondono rispettivamente alle direzione medie di diffusione e alla diffusività associata a quella direzione (si parla di *autodiffusività*, λ); gli autovalori λ_i vengono determinati risolvendo le radici del polinomio caratteristico: $p(x) : \det(D - \lambda I) = 0$, mentre gli autovettori

sono le soluzioni X_i dell'equazione $DX_i = \lambda_i X_i$ [18].

Dal momento che la visualizzazione del tensore tridimensionali sovrapposto alle immagini è poco praticabile, è stato introdotto il concetto di *ellissoide di diffusione* (vedi fig. 3.3). Esso è costituito da un ellissoide tridimensionale che rappresenta la probabilità di tipo Gaussiano che una molecola, a partire dalla posizione x_0 , situata al centro della volume, raggiunga la posizione x (bordo della figura) per opera del processo di diffusione, in determinato intervallo, detto tempo di diffusione, T_d .

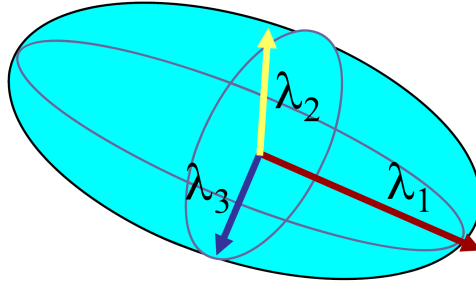


Figura 3.3: Ellissoide di diffusione costituito dai tre autovalori $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ nelle tre direzioni principali x', y', z' .

Questi ellissoidi, che possono essere rappresentati per ciascun voxel dell'immagine, sono facilmente calcolati a partire dagli autovalori della diffusione $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ nelle tre direzioni principali x', y', z' :

$$\frac{x'^2}{2\lambda_1 T_d} + \frac{y'^2}{2\lambda_2 T_d} + \frac{z'^2}{2\lambda_3 T_d} = 1 \quad (3.7)$$

dove x', y', z' si riferiscono alla direzione di diffusione media del tensore. Le autodiffusività rappresentano i coefficienti di diffusione unidimensionali nelle principali direzioni di diffusività, pertanto gli assi principali dell'ellissoide corrispondono alle direzioni principali di diffusione del voxel (coincidenti con le direzioni delle fibre), mentre all'eccentricità dell'ellissoide corrisponde al grado di anisotropia e di simmetria (in linea teorica, a una diffusione isotropa corrisponde una sfera, in cui i tre autovalori di diffusione sono uguali fra di loro). In funzione del modulo degli autovalori, i tensori possono essere clas-

sificati nei seguenti modi che chiariscono la struttura del tessuto contenuto in ciascun voxel [18]:

Lineare ($\lambda_1 \gg \lambda_2 \cong \lambda_3$): la diffusione avviene principalmente lungo la direzione specificata dall'autovettore corrispondente all'autovalore più grande.

Planare ($\lambda_1 \cong \lambda_2 \gg \lambda_3$): la diffusione avviene principalmente lungo il piano generato dai due autovettori corrispondenti ai due autovalori più grandi.

Sferica ($\lambda_1 \cong \lambda_2 \cong \lambda_3$): la diffusione è quasi completamente isotropa.

3.4 Parametri estraibili dai dati di DTI

Utilizzando la tecnica della DTI, i dati di diffusione possono essere analizzati utilizzando tre parametri che caratterizzano non solo l'orientazione dell'ellissoide, ma anche la sua forma tridimensionale, e che forniscono informazioni sulla microstruttura e morfologia del tessuto incluso in ciascun voxel: (1) la *diffusività media*, che caratterizza la media quadratica degli spostamenti delle molecole (media della dimensione dell'ellissoide) e definisce la presenza di ostacoli alla diffusione; (2) il *grado di anisotropia*, che descrive quanto gli spostamenti molecolari variano nello spazio (collegata all'eccentricità dell'ellissoide), relazionato quindi alla presenza di strutture orientate; (3) le *principali direzioni di diffusione* (assi principali dell'ellissoide), che sono collegate all'orientazione nello spazio delle strutture presenti. Questi tre parametri di DTI possono essere interamente derivati dalla conoscenza del tensore di diffusione. A causa della complessità dell'acquisizione dei dati DTI e alla sensibilità al rumore per la determinazione degli autovalori del tensore, sono stati proposti approcci semplificati.

3.4.1 Diffusività media

Per ottenere una valutazione veritiera della diffusione in un determinato voxel, è necessario eliminare gli effetti di diffusione anisotropa e limitare il risultato ad una costante, indipendente dall'orientazione degli assi principali. Uno degli elementi indipendenti dalle differenti combinazioni di tensori è la traccia del tensore di diffusione:

$$\text{Tr}(\mathbf{D}) = D_{xx} + D_{yy} + D_{zz} \quad (3.8)$$

La diffusività media, o *mean diffusivity* (MD), è data da:

$$MD = \text{Tr}(\mathbf{D})/3 \quad (3.9)$$

Purtroppo, per ottenere una stima corretta della $\text{Tr}(\mathbf{D})$ è necessaria una stima completa del tensore di diffusione e la semplice stima dei coefficienti di diffusione ottenuti separatamente lungo le direzioni principali x,y,z non corrispondono spesso con D_{xx} , D_{yy} , D_{zz} . La ragione principale è che il segnale attenuato, corrispondente alla diffusione in quella direzione, per esempio lungo x, non è semplicemente dato dalla (3.4), $A = \exp(-b_{xx}D_{xx})$, a meno che la diffusione non sia perfettamente isotropa (i termini fuori dalla diagonale sono nulli) o i contributi del gradiente pulsato lungo le direzioni y e z siano trascurabili. Per evitare questo inconveniente e semplificare l'approccio, sono state studiate sequenze MR basate su echi multipli o acquisizioni con configurazioni dei gradienti in forma di tetraedro, in modo da eliminare il contributo dei termini fuori dalla diagonale direttamente nel segnale MRI.

3.4.2 Indici di Anisotropia

Il grado di anisotropia varia in accordo all'orientazione del gradiente applicato al tessuto di riferimento. Anche in questo caso sono stati studiati degli indici invarianti alla configurazione hardware utilizzata per ottenere i dati DTI, che eliminino errori e restituiscano un valore obiettivo e intrinseco

delle strutture oggetto di studio.

Gli indici invarianti sono dunque costituiti da combinazioni dei termini ottenuti dalla diagonalizzazione del tensore di diffusione, ovvero gli autovalori $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$. Gli indici più comunemente usati sono i seguenti:

Relative Anisotropy (RA) : è una standard deviation normalizzata e rappresenta il rapporto tra la parte anisotropa di D e la sua parte isotropa. La sua formulazione matematica è:

$$RA = \frac{\sqrt{(\lambda_1 - \bar{\lambda})^2 + (\lambda_2 - \bar{\lambda})^2 + (\lambda_3 - \bar{\lambda})^2}}{\sqrt{3\bar{\lambda}}} \quad (3.10)$$

dove $\bar{\lambda} = (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3)/3$ è la media degli autovalori; il suo range va da un 0 (diffusione isotropa) e $\sqrt{2}$ (diffusione anisotropa).

Fractional anisotropy (FA) : rappresenta la frazione del modulo di D che può essere descritta dalla diffusione anisotropa e può variare in un range tra 0 (diffusione isotropa) e 1 (anisotropia infinita o diffusione completamente anisotropa). La sua formulazione matematica è:

$$FA = \frac{\sqrt{3[(\lambda_1 - \bar{\lambda})^2 + (\lambda_2 - \bar{\lambda})^2 + (\lambda_3 - \bar{\lambda})^2]}}{\sqrt{2(\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2)}} \quad (3.11)$$

Volume ratio (VR) : rappresenta una sorta di rapporto tra il volume dell'ellissoide e il volume della sfera con raggio la media degli autovalori $\bar{\lambda}$; il suo range varia da 1 (diffusione isotropa) a 0 (alcuni autori preferiscono usare la formulazione 1-VR per adeguarsi ai valori analoghi di RA e FA per diffusione isotropa). La sua formula è:

$$VR = \frac{\lambda_1 \lambda_2 \lambda_3}{\bar{\lambda}^3} \quad (3.12)$$

3.4.3 Mappatura delle fibre

L'ultima famiglia di parametri che possono essere estratti dalla DTI consiste nella mappatura nello spazio dell'orientazione delle strutture tessutali,

quali le fibre nervose. L'assunzione alla base è che la direzione delle fibre è parallela alla direzione dell'autovettore associato al più grande autovalore di diffusività. Questo approccio apre un nuovo modo di ottenere in modo diretto e *in vivo* informazioni sull'organizzazione spaziale dei tessuti, come muscoli, miocardio o, nel cervello, fibre di WM, di alto interesse clinico e funzionale. L'orientazione delle fibre può essere ottenuta direttamente da immagini MR-DTI o attraverso il calcolo dei tensori di diffusione per ciascun voxel. Una particolare attenzione riveste la visualizzazione dell'orientazione delle fibre per ogni voxel. Sono state studiate mappe colorate, mappe basate sulla rappresentazione di ellissoidi, ottaedri o vettori che puntano la direzione delle fibre (vedi fig. 3.4).

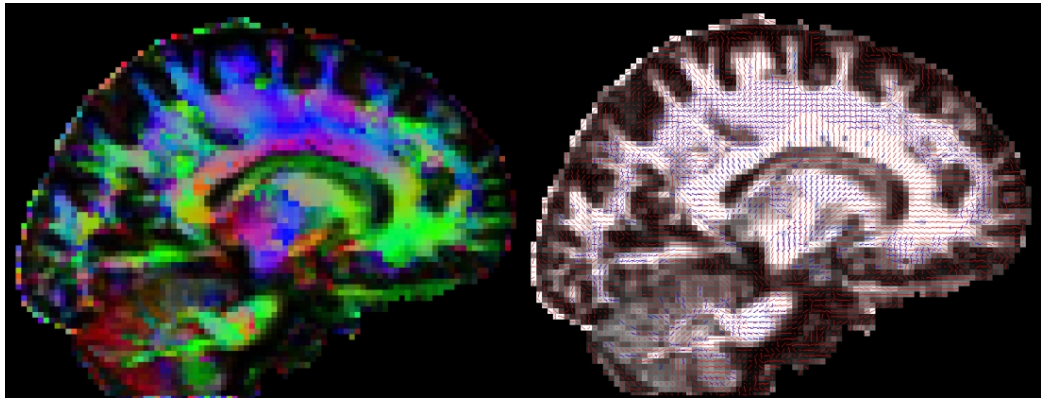


Figura 3.4: Esempio di trattografia che utilizza colori (a sx) e vettori (a dx) per indicare la direzione della diffusività massima per ciascun voxel.

3.5 Applicazioni

Uno dei particolari vantaggi che possiede la tecnica della DTI risiede nel fatto che i coefficienti di diffusione ottenuti possono essere confrontati in diverse zone dello stesso soggetto, su più soggetti, anche con immagini ottenute con diversi scanner MR o di diversi ospedali perchè, in linea teorica, questi coefficienti sono indipendenti dalle orientazioni dei gradienti applicati e dal modulo del *b vector* e non necessitano di alcuna normalizzazione.

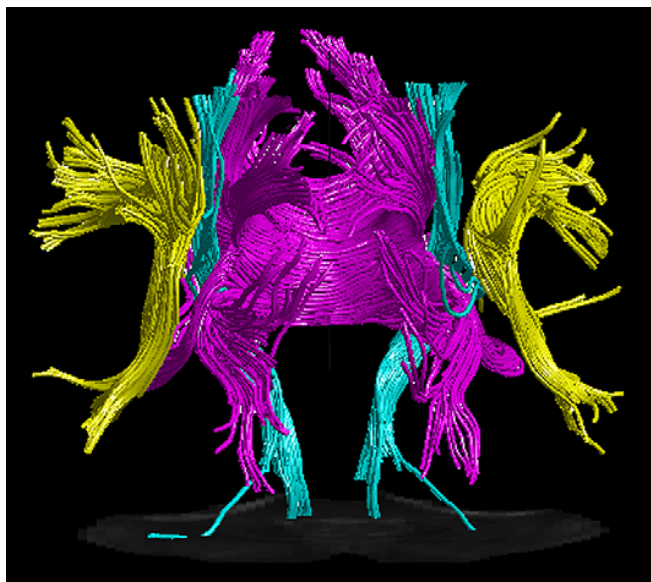


Figura 3.5: Rendering 3D del tratto corticospinale (azzurro), del corpo calloso (magenta) e del fascicolo superiore longitudinale (giallo) ricostruito tramite algoritmi di trattografia in un soggetto sano [19].

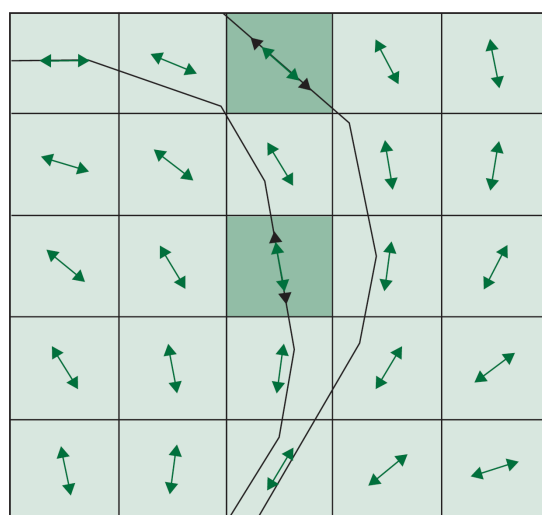


Figura 3.6: Procedimento schematico utilizzato nella trattografia. Una linea continua viene ottenuta collegando vertici adiacenti sulla base della direzione dell'autovettore corrispondente all'autovalore massimo. Il procedimento viene applicato a partire dal vertice centrale più scuro [20].

Utili informazioni possono essere ottenute analizzando il comportamento dei valori di FA e MD in studi su soggetti affetti da MS, per ottenere maggiori informazioni sul decorso della patologia che interessa il tessuto cerebrale. Ciononostante, una chiara conoscenza dell'anatomia degli organi coinvolti e dei meccanismi fisici che stanno alla base di questi principi è fondamentale per ottenere una chiara e corretta interpretazione dei risultati [18].

3.6 DTI e MS

3.6.1 Affidabilità dei dati DTI

Al giorno d'oggi, l'avvento di apparecchiature che utilizzando potenti campi magnetici, la commercializzazione dei macchinari con sequenze quale la EPI adatte allo studio della DTI e analisi su soggetti malati e non su tutta la popolazione, offrono la possibilità di analizzare e monitorare nel tempo l'evolversi della patologia e le conseguenze da essa riportate attraverso un'analisi quantitativa dei dati acquisiti e l'evolversi della fisiopatologia attraverso scale cliniche della disabilità. Ad ogni modo, è utile ricordare che tutti i dati acquisiti devono essere analizzati con cautela, soprattutto se essi sono stati effettuati su studi di follow-up in diversi anni o con dati provenienti da istituti clinici diversi, sebbene quest'ultimo teoricamente non dovrebbe costituire un problema.

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

- durata e orientazione dei gradienti;
- utilizzo di diverse sequenze pulsate EPI;
- utilizzo di differenti scanner;
- metodi utilizzati per la correzione delle distorsioni geometriche provocata dalle eddy-currents;

- tecniche di shimming per omogeneizzare in campo magnetico ai bordi;
- metodologia utilizzata per l'attenuazione del grasso;
- correzioni delle non linearità nelle immagini DTI;
- se l'acquisizione è stata sincronizzata con il battito cardiaco e in che modo;
- attività biologiche in atto;
- accuratezza nell'immobilizzazione del paziente,

Nei studi clinici di follow-up che si sviluppano con durata di qualche anno, è difficile mantenere costanti questi fattori, come per esempio gli stessi scanner MR o le sequenze che diventano obsolete con il passare del tempo e che devono essere modificate o aggiornate.

3.6.2 Importanza della FA nella MS

Dalla suo utilizzo negli studi di immagini MR, la trattografia è stata anche utilizzata in pazienti affetti da MS per rispondere principalmente alle seguenti domande: può stimare il processo patologico di degenerazione dei percorsi della WM? Può determinare una correlazione tra le evidenze radiologiche (lesioni in GM e WM) e disabilità motoria? Può la FA correlare meglio con la disabilità? La trattografia può determinare i cambiamenti strutturali della materia che contribuiscono ai cambiamenti funzionali correlati?

Qualsiasi studio su pazienti affetti da MS, in cui è stata utilizzata la trattografia, erano coinvolte lesioni nella WM e loro possibili interferenze sui dati. In particolare, il valore di FA nei voxel appartenenti alle lesioni è in genere più basso rispetto alle stesse regioni nei soggetti sani di controllo, e anche la FA nella WM esterna alle lesioni (chiamata WM apparentemente normale) dimostra lo stesso comportamento. Questo fatto può essere erroneamente spiegato attraverso errori particolari degli algoritmi di tracking o attraverso

le deviazioni dei fasci di fibre nelle zone lesionate; invece, i valori anomali di FA e la loro correlazione con le lesioni sono conferma dell'evolversi del processo patologico nei tratti corticospinali, come la degenerazione mielinica o un'inflammatione diffusa [14].

In un'altra ricerca [21] sono state determinate con precisione un totale di 12 ROI (tra cui il corpo calloso) in cui la FA risulta più bassa nei soggetti affetti da MS rispetto a quelli sani. Inoltre, alla riduzione della FA corrispondeva un'aumento della diffusività radiale, in alcune zone molto accentuata. Questi risultati possono corroborare la tesi dell'evidenza nella MS del danno subito agli assoni delle cellule nervose e della loro demielinizzazione.

D'altra parte, in uno studio [22], è stato riscontrato che i valori di MD e FA erano significativamente più alti nelle lesioni corticali della GM in pazienti affetti da MS rispetto ai soggetti sani di controllo, mentre a livello globale, ovvero considerando tutti i valori dei voxel della materia cerebrale, e studiando il picco degli istogrammi dei valori, il picco di FA risultava significativamente più basso ($FA=0.061$ contro $FA=0.068$) nei pazienti con MS, mentre il picco di MD era significativamente più alto ($MD=0.00074$ contro $MD=0.00071$). Questo comportamento appare opposto a quello riscontrato nelle lesioni della WM, che invece mostrano un valore più basso di FA, indicativo del danneggiamento dell'organizzazione microstrutturale delle fibre nelle lesioni [23].

I risultati appena esposti sembrano andare in contraddizione, ma invece non è così. E' vero che è stato riscontrato un aumento di FA e MD nelle lesioni, ma su un'analisi globale (inclusendo quindi, GM, NAGM e lesioni corticali), il contributo delle lesioni è molto piccolo dato il loro piccolo volume comparato a quello della GM e della GM apparentemente normale. Pertanto, ogni cambiamento microstrutturale che avviene all'interno delle lesioni può essere dettagliatamente descritto attraverso la tecnica della DTI, ma viene completamente oscurato dai restanti voxel, in numero molto superiore, dell'analisi globale. Questo fatto deve essere tenuto in considerazione per interpretare in modo corretto i parametri che si riferiscono alle lesioni [22].

All'interno delle lesioni corticali è stato evidenziato la presenza di neuriti e perdite delle ramificazioni dendritiche dei neuroni corticali, affiancata a per-

dità generalizzata di neuroni, sinapsi e cellule gliali. La perdita di dendriti e assoni, e in maniera uguale la presenza di ramificazioni dendritiche, è rilevante in questo caso perchè combacia perfettamente con l'aumento dell'anisotropia della diffusione della GM normale riscontrato nello studio. L'aumento della FA è consistente anche con il fatto di un'attivazione microgliale attraverso un processo esteso anche ad altre cellule neurali e neuriti.

E' anche possibile che la microglia attivata possa contribuire all'aumento dell'organizzazione locale delle microstrutture corticali, potenziando l'aumento locale dell'anisotropia. Uno dei limiti principali che spesso viene riscontrato in questi studi consiste nella ricerca delle lesioni; vengono utilizzate infatti immagini MR DIR, in cui si ha una maggior facilità nella determinazione delle lesioni della GM corticale rispetto alle usuali sequenze MR; ma nonostante ciò solamente un ristretto numero viene considerato per il calcolo dei coefficienti di diffusione e per la validazione di questi studi [22].

Un argomento molto importante è capire se nei pazienti affetti da MS i cambiamenti strutturali che vengono determinati da indici anormali di diffusione contribuiscano ad una riorganizzazione funzionale positiva dei percorsi nervosi.

Capitolo 4

Segmentazione FSL

4.1 Introduzione

FSL (*FMRIB Software Library*) è un pacchetto di software di analisi per immagini MR, fMRI (*functional MRI*), e MR-DTI creato dai membri dell'*Analysis Group*, FMRIB, Oxford, UK (<http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>), disponibile gratuitamente dal sito internet previa registrazione. Questo utile raccolta di software è costituita principalmente in 4 unità funzionali, costituite ciascuna da più pacchetti per diversi scopi:

Functional MRI Consiste in 4 pacchetti per l'analisi e lo studio di immagini MR funzionali e per lo studio di immagini ASL (*Arterial Spin Labelling*).

Structural MRI Costituito da 9 pacchetti (tra cui *BET*, vedi paragrafo 4.2, e *FAST*, vedi paragrafo 4.4) che consentono l'elaborazione di immagini T1 e T2 pesate, quali l'estrazione del cervello, la segmentazione, coregistrazioni lineari e non lineari, correzioni di distorsioni geometriche e del rumore, stima di atrofie cerebrali per studi longitudinali.

Diffusion MRI Consente l'elaborazione delle immagini DTI per la stima dei parametri di diffusione.

Other tools Costituito da 6 pacchetti, incluso *FSL view* utilizzato per la visualizzazione di immagini in formato *analyze* e *nifti*.

In questo capitolo viene presentata la segmentazione ottenuta con FSL e i fondamenti teorici che ne stanno alla base.

Innanzitutto, la segmentazione in FSL avviene attraverso due passaggi diversi:

- Il primo passo consiste nel BET, ovvero l'estrazione del cervello (vedi paragrafo 4.2).
- Il secondo passaggio consiste nel FAST (vedi paragrafo 4.4) , ovvero la segmentazione vera e propria del volume di cervello prima estratto con il BET.

4.2 BET

La prima procedura utilizzata nella segmentazione FSL è il BET (Brain Extraction Tool)[24], nel quale viene effettuata una prima segmentazione di tessuto appartenente o no al cervello. Vengono eliminate quindi tutte quelle strutture che non contengono il cervello vero e proprio e che possono provocare imperfezioni ed errori al processo di segmentazione successivo: occhi, grasso, pelle, muscolo, base del collo, scalpo, liquido cerebrospinale, ... Importante da sottolineare che l'algoritmo è completamente automatico e non utilizza nessun tipo di modello o atlante standard ma basa la sua elaborazione solamente sui dati in esame; come dati iniziali utilizza immagini MR pesate T1 o T2. Risulta robusto e accurato e impiega all'incirca 5-20 secondi su un moderno computer.

Per focalizzare meglio il problema, vengono descritte le tre principali metodologie alternative, che si trovano in letteratura, che effettuano la classificazione dei voxel in due grandi classi: cervello/non cervello.

Segmentazione manuale E' probabilmente la procedura più accurata rispetto a tutte le altre procedure automatiche o semi-automatiche. Viene tenuto in considerazione il principio di *neighbourhood*, ovvero della vicinanza tra voxel della stessa classe: si vuole cioè evitare che si creino zone di pochi voxel isolate appartenenti ad una classe, e la segmentazione manuale idealmente lo applica al meglio. Ovviamente questo metodo ha seri svantaggi. Innanzitutto il tempo necessario varia dai 15 minuti a 2 ore per un soggetto; dopodichè bisogna tenere conto che la segmentazione manuale può essere eseguita solo da un operatore specializzato (per esempio un medico) ed è necessario un sufficiente training preliminare per ottenere buoni risultati, e nonostante ciò ci potrebbero essere delle disparità tra operatori, anche con un background culturale diverso.

Sogliatura con morfologia Viene effettuata una sogliatura iniziale basata semplicemente sull'intensità con una soglia massima e minima per eliminare 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, e poi applicata all'immagine, viene effettuata una sorta di clusterizzazione in due classi in cui il bordo che delimita i voxel appartenenti al cluster deve essere continuo e il più grande possibile. Per poter fare ciò si utilizza un algoritmo che parte dalle regioni più chiare ed "erode" i voxel fino ad arrivare alla zona che separa il cervello da ciò che non è cervello.

Questo metodo è quasi completamente semi-automatico e all'utente è solamente richiesta la soglia da utilizzare per la segmentazione iniziale. Spesso è necessario provare diversi risultati con soglie diverse. Di solito è molto difficile riprodurre i risultati ottimali, poichè l'algoritmo non utilizza nessun prior, e in genere si passa ad una post-operazione di editing manuale.

Modelli di superfici deformabili La terza classe di algoritmi utilizza modelli di superfici deformabili composte principalmente da mesh di triangoli che vengono poi "fittati" alla superficie del cervello. Il fitting è di

solito ottenuto deformando passo dopo passo la superficie dal punto di partenza fino ad ottenere la soluzione ottima. Questo tipo di algoritmo ha il vantaggio di essere facilmente applicabile alla morfologia del cervello e di mantenere il principio di vicinanza in qualunque punto. Sembra essere il più robusto tra tutti, e più facilmente applicabile in maniera automatica rispetto all'algoritmo di sogliatura.

4.2.1 Dettagli del metodo

Inizialmente si determina l'istogramma delle intensità e si cerca il valore "robusto" che determina l'intensità massima e minima dell'immagine, per applicare una prima sogliatura. Successivamente, utilizzando i voxel che appartengono a questo range (quindi quello che costituiscono il bordo del cranio e lo scalpo), viene calcolato il punto che approssimativamente corrisponde centro di gravità di tutta la testa per poi utilizzare una tessellazione triangolare di una sfera costruita all'interno del cervello partendo da questo punto; viene aggiornato un vertice alla volta seguendo il gradiente di forza che tende ad espandere la superficie, eliminando eventuali spigoli. Se non si è raggiunta una soluzione accettabile, viene riefettuata l'operazione applicando all'immagine, prima dell'iterazione, uno smoothing più elevato.

4.2.2 Stima dei parametri di partenza

Prima di tutto si vuole determinare l'intensità massima e minima che caratterizzano in modo "robusto" l'immagine, ovvero ignorando quei voxel con intensità troppo alta o troppo bassa. Si usa pertanto come soglia minima t_2 il 2 % dell'istogramma totale, e il 98 % come soglia massima t_{98} . Nelle immagini T1 pesate, il liquido cerebrospinale, scalpo e aria sono scuri, mentre nelle immagini T2 pesate, il liquido cerebrospinale è chiaro e i muscoli appaiono scuri, pertanto in entrambi i casi vengono eliminati dall'immagine attraverso questa sogliatura. Successivamente viene scelta una soglia grezza t che ha lo scopo di distinguere inizialmente il cervello dal tutto il resto, ossa

e tessuto circostante incluso; usualmente si utilizza una soglia del 10% sui voxel considerati dalla precedente sogliatura. Questa soglia viene solamente utilizzata per stimare approssimativamente la posizione del centro di gravità della testa: viene calcolata la media pesata per ogni voxel con intensità più grande della soglia t , e la loro intensità viene usata come peso.

Viene poi stimato il raggio medio di una sfera ideale interna al cervello conteggiando come volume tutti i voxel oltre la soglia e calcolato anche il centro di gravità (COG). La sua posizione è ovviamente approssimativa e grezza, ma viene utilizzata solamente come punto di partenza per la tessellazione successiva, che deve partire dal centro del cervello. Infine, viene stimata l'intensità media t_m di tutti quei punti all'interno della sfera ideale.

4.2.3 Modellizzazione della superficie

La superficie del cervello è quindi modellata da una superficie tessellata di triangoli. La figura di partenza è un icosaedro che iterativamente divide ogni superficie triangolare in 4 triangoli più piccoli, aggiustando la distanza di ciascun vertice dal centro in modo da formare per quanto più possibile una sfera. Ciascun vertice ha cinque o sei vertici vicini.

La superficie sferica tessellata è inizialmente centrata nel COG con raggio volutamente settato a metà del raggio della sfera più esterna stimata, per avere la certezza che la sfera di partenza sia completamente inclusa nel cervello. I risultati che si ottengono con una sfera più piccola, che passo dopo passo aumenta la sua dimensione fino ad adattarsi a tutto il cervello scelto, sono migliori di quelli ottenuti da una sfera più grande che iterativamente diminuisce la sua dimensione. La posizione di ciascun vertice è definito in uno spazio reale, pertanto non è presente nessun limite teorico nel suo spostamento.

La posizione di ciascun vertice è aggiornata ad ogni iterazione scegliendo la migliore posizione che porta ad aumentare la superficie della sfera. I singoli spostamenti sono piccoli, in quanto sono necessari per ciascun vertice all'incirca un migliaio di iterazioni per ottenere la completa espansione della superficie; i movimenti sono "piccoli" relativamente alla distanza media tra i

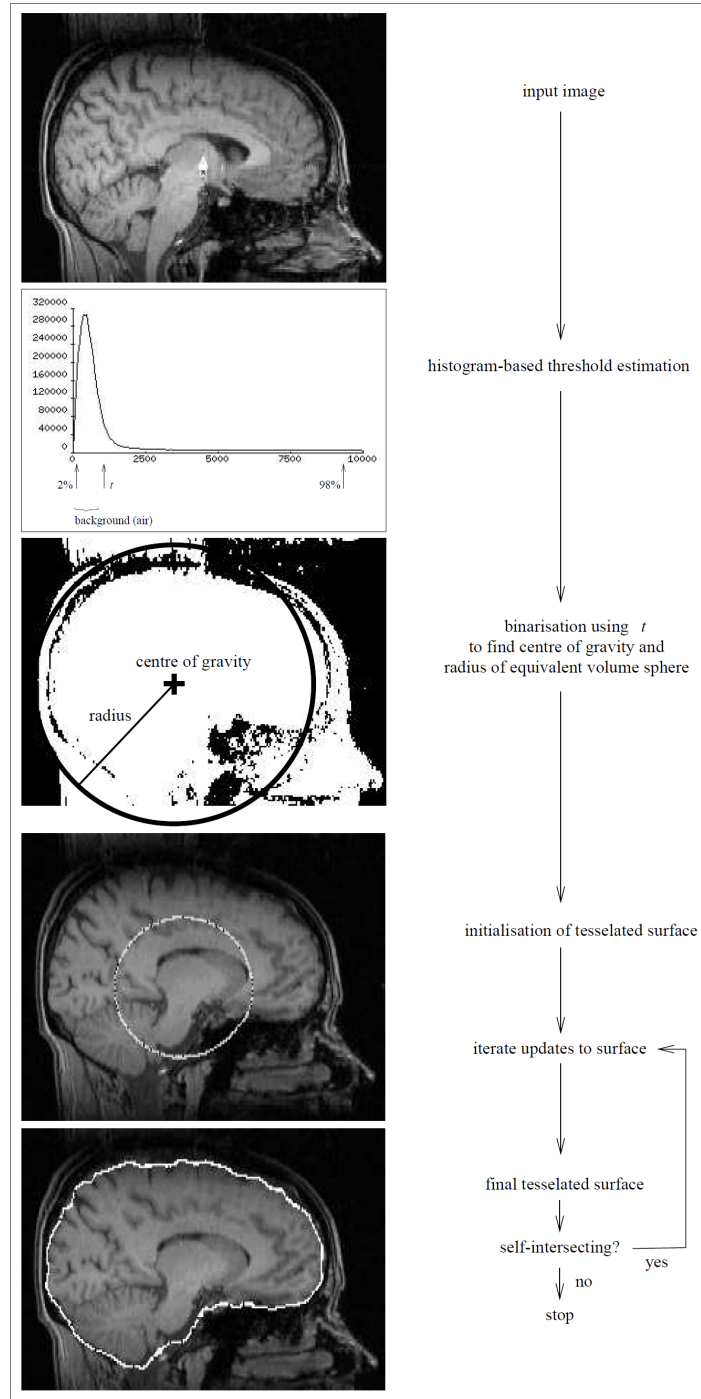


Figura 4.1: Pipeline dell'algoritmo BET. Dall'alto: immagine T1 di partenza, sogliatura iniziale, calcolo del COG, fitting delle mesh della superficie fino alla completa espansione, evitando eventuali intersezioni [24].

vertici vicini. Per determinare la direzione di spostamento, per ciascun vertice viene calcolato il vettore spostamento $\mathbf{u}$, costituito da tre componenti $(\mathbf{u}_1, \mathbf{u}_2, \mathbf{u}_3)$.

Prima di tutto, per ciascuna coppia consecutiva di vertici [v. centrale]-[v. vicino A],[v. centrale]-[v. vicino B] viene calcolato il vettore prodotto e successivamente si effettua la somma di tutti i vettori prodotto ottenuti; il vettore normale $\mathbf{n}$ è definito come la sua lunghezza scalata di un ordine di grandezza.

A questo punto viene definito il vettore $\mathbf{s}$ come differenza tra i due vettori che uniscono coppie consecutive di vertici definite prima, giacente sulla superficie locale, che viene poi scomposto in una componente normale alla superficie $s_n = (\mathbf{s} \cdot \hat{n})\hat{n}$ e una tangenziale $s_t = \mathbf{s} - s_n$.

La prima componente del vettore $\mathbf{u}$ è u_1 , componente tangenziale alla superficie locale, ed è direttamente legata alla componente tangenziale s_t :

$$u_1 = s_t/2 \quad (4.1)$$

Il suo ruolo è tenere tutti i vertici della superficie equamente spazati, muovendoli verso la posizione migliore.

Le rimanenti due componenti sono parallele alla normale della superficie locale $\mathbf{n}$. La prima, u_2 deriva direttamente da s_n e cerca di allineare tutti i vertici vicini con lo scopo di aumentare la regolarità della superficie:

$$u_2 = f_2 s_n \quad (4.2)$$

dove f_2 è una costante frazionaria che si aggiorna di passo in passo. Un significativo miglioramento nell'espansione della sfera tessellata avviene se viene sostituita la costante f_2 da una funzione non lineare: infatti se si utilizza una costante, al crescere del raggio della sfera si ottiene un oversmoothing che causa la sottostima in alcune zone e l'esclusione dal cervello di alcuni organi, ottenendo il cosiddetto *taglio degli angoli*. Viene pertanto utilizzata una funzione a sigmoide che varia al variare del raggio locale calcolato utilizzando il punto medio della superficie generata dai due vertici vicini e il

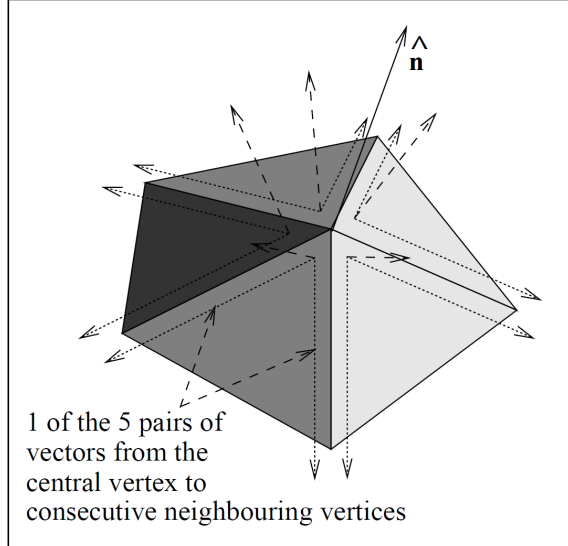


Figura 4.2: Esempio di vertice con vettore normale $\mathbf{n}$ e 5 superfici locali, ciascuna con vettore normale e due vettori tangenziali [24].

vertice centrale: con un raggio piccolo avrò un alto valore di f_2 ottenendo una superficie regolare, mentre all'aumentare del raggio f_2 diminuisce per far sì che la superficie riesca ad adattarsi meglio a tutte le possibili curvature del cervello.

L'ultima componente, u_3 , è parallela a s_n e per determinare il suo modulo vengono utilizzate le informazioni direttamente dall'immagine originale, affinché la superficie si adatti alla vera superficie del cervello. Mentre la superficie si espande all'interno del cervello, u_3 è diretta verso l'esterno, ma non appena la superficie oltrepassa la maschera creata precedentemente, incontrando osso o lo scalpo, il suo valore va a zero. Dal momento che la superficie è forzata ad espandersi, l'utilizzo di questa componente così definita implica che la superficie finale sarà di sicuro sempre convessa.

Un problema da notare è che l'efficienza dell'algoritmo in questo punto dipende soprattutto dalla soglia iniziale t decisa precedentemente: se l'immagine è di bassa qualità o è presente del bias, la soglia scelta potrebbe non essere corretta per lo scopo.

In alternativa viene usata una relazione più semplice e più robusta, fondata

sulla stessa idea. Prima di tutto viene determinata l'intensità massima e minima dei vertici che si trovano nella linea immaginaria che collega il vertice con il COG fino ad una distanza di $d_1 = 20$ mm per il valore massimo e fino ad una distanza di $d_2 = 10$ mm per il valore minimo.

$$I_{min} = \max(t_2, \min(t_m, I(0), I(1), \dots, I(d_1)))$$

$$I_{max} = \min(t_m, \max(t, I(0), I(1), \dots, I(d_2)))$$

Da sottolineare che le coordinate in cui sono misurate le intensità si trovano in generale tra i voxel dell'immagine di partenza, pertanto è necessaria un'interpolazione tra le intensità dei voxel originari. E' stato verificato che l'interpolazione *nearest neighbour* produce migliori risultati rispetto a interpolazioni trilineari o di alto ordine, probabilmente perchè non alterano il valore delle intensità originali, rimanendo vicine ai valori veri. I_{max} è utilizzata per creare una soglia locale che distingue il cervello dallo sfondo:

$$t_l = (I_{max} - t_2)b_t + t_2$$

dove b_t è una costante frazionaria, data in input come parametro prima di avviare il BET. Di default vale 0.5, poichè questo valore restituisce i risultati migliori, ma è possibile variare il parametro da 0 a 1 in funzione dei risultati ottenuti. Quindi alla componente u_3 viene premoltiplicato il coefficiente f_3 , definito in questo modo:

$$f_3 = \frac{2(I_{min} - t_l)}{I_{max} - t_2} \quad (4.3)$$

dove il fattore 2 sposta il range a $[-1,1]$. Se I_{min} è minore della soglia locale t_l , f_3 diventa negativo, provocando lo spostamento della superficie nel vertice corrente verso l'interno, verso l'esterno se f_3 è positivo. A f_3 viene moltiplicata la distanza media tra vertici l , e una costante relativa, 0.05, settata empiricamente, che opera un compromesso tra il termine di smooth

e quello basato sull'intensità dei singoli voxel. La forma finale dell'equazione del vettore spostamento $\mathbf{u}$, per ciascun vertice, diventa:

$$\mathbf{u} = 0.5s_t + f_2s_n + 0.05f_3l\hat{s}_n \quad (4.4)$$

Un limite nell'utilizzo di questo tipo di modello per delineare la superficie del cervello consiste nel fatto che essa non può intersecarsi. Nonostante questo accada raramente (circa nel 5% dei casi), per ovviare a ciò si riesegue l'algoritmo BET con un maggior smoothing per un 75% delle iterazioni.



Figura 4.3: Risultato finale dell'algoritmo BET [24]. La linea bianca rappresenta la superficie che delimita il cervello da segmentare successivamente.

4.3 BET2

BET2 (Brain Extraction Tool v2) è basato sulla precedente versione BET, che utilizza una singola immagine MR per estrarre i voxel appartenenti al cervello da quelli non appartenenti. Con BET2 c'è anche la possibilità di utilizzare simultaneamente immagini MR pesate T1 e T2 precedentemente coregistrate e calcolare la superficie dell'osso cranico interna ed esterna e dello scalpo.

Il BET2 è composto al suo interno da 2 function [25]:

bet riceve in input un'immagine pesata T1 e calcola l'estrazione del cervello,

ottenendo in output la mesh che rappresenta la superficie esterna del cervello (identico all'originario algoritmo BET).

betsurf utilizza due immagini, T1 e T2 pesata, dello stesso soggetto, già co-registrate. In output viene ottenuta la mesh della superficie del cervello e la matrice della trasformazione Affine che porta l'immagine pesata T1 su volume in uno spazio standard MNI152 utilizzando il tool FLIRT (FMRIB's Linear Image Registration Tool) di FSL. Betsurf è basato sia un'analisi locale, punto per punto, che su un modello deformabile, che fitta le mesh da questi punti.

La descrizione dell'algoritmo viene esaminata contestualmente al fatto che l'analisi è stata effettuata a partire da immagini MR T1 pesate.

4.3.1 Sogliatura

L'intensità dello scalpo nelle immagini T1 pesate può variare sensibilmente da scanner a scanner. Per aumentare la robustezza del **betsurf** a queste variazioni, viene relazionata la massima intensità dello scalpo con la relativa intensità del cervello. Lo scopo è ottenere un range robusto di intensità all'interno del volume del cervello (compreso tra il 2% e il 98% dell'intensità totale del cervello) prendendo come soglia minima il 10%.

4.3.2 Rilevazione dei punti nella superficie

Una prima analisi è effettuata lungo le normali delle superfici iniziali del cervello, con lo scopo di determinare i punti corrispondenti nelle tre interfacce cervello/osso, osso/scalpo, scalpo/sfondo. Prima di tutto, per ciascun vertice della mesh iniziale, vengono estratti i profili di intensità lungo le perpendicolari alle superfici da 3 mm verso l'interno fino a 60 mm verso l'esterno, campionando con passo di 0.5 mm (il profilo viene ottenuto campionando l'immagine originale con un'interpolazione trilineare). Generalmente, in un cervello adulto, la distanza media tra vertici vicini è approssimativamente di

5 mm.

4.3.3 Superficie esterna - scalpo

La superficie esterna dello scalpo viene determinata considerando quei punti che oltrepassano del 20% il range dal minimo al massimo del profilo d'intensità. Se questi punti non sono abbastanza vicini (< 5 mm), probabilmente sono presenti degli artefatti nel volume, e viene rieffettuata la ricerca limitando la distanza a 15 mm del punto più vicino dello scalpo e accettando i punti che distano però < 10 mm.

4.3.4 Superficie cranica interna

Per il calcolo della superficie interna, si seleziona una ROI che includerà i voxel da cui verrà calcolata la mesh, corrispondenti al liquido cerebrospinale interno al cervello o, nel caso questi non siano ben identificabili, al liquido che si trova tra il cervello e il cranio; viene fatta una sogliatura di intensità inferiore al 25% tra l'intensità massima e minima selezionata precedentemente: in questo modo vengono eliminate le zone chiare di liquido cerebrospinale e i voxel scuri dello sfondo.

4.3.5 Superficie cranica esterna

Ottenere la ripetibilità su più soggetti in questo punto è molto difficile, poichè la forma del cranio e dello scalpo possono essere diverse in zone diverse nello stesso soggetto e, ancor maggiormente, tra più soggetti. Il problema maggiore è la presenza del midollo spinale all'interno del cranio che risulta più chiaro di tutto il resto, e impedisce l'utilizzo di una semplice sogliatura. Inoltre, nelle immagini T1 pesate, lo scalpo è difficilmente di intensità uniforme e spesso ha una struttura complessa: semplicemente determinando i punti sull'interfaccia scalpo/sfondo si potrebbero trovare punti presenti sul

muscolo, e non sullo scalpo. Nelle immagini T1 pesate, viene determinato un punto sotto il 15% e un punto oltre il 60% della soglia, partendo da un punto della superficie interna dello scalpo e muovendosi verso l'esterno. Molte delle volte, il punto trovato si trova veramente nella superficie cranica esterna, ma la complessità dello scalpo può provocare errori, portando a localizzare i punti sul muscolo, 2 o 3 mm distante dal cervello. E' necessaria una soglia che si avvicina alle alte intensità, dal momento che corrisponde allo scalpo, ma qualche volta possono venir scelti anche punti sul muscolo: viene fatto, quindi, un controllo partendo da un punto della superficie esterna dello scalpo.

4.3.6 Analisi del profilo Antero-Posteriore

Viene inoltre delimitata un area a priori attraverso un piano obliquo che elimina gli organi anteriori, come occhi, naso, bocca, esclusa una zona dei seni frontali, dove solitamente l'algoritmo riesce a determinare bene la superficie. Per collocare il piano nell'esatta posizione in ogni cervello, viene usato il tool di FSL, FLIRT, per ottenere la matrice di trasformazione in uno spazio standard, dove è definito il piano, e poi invertirla, per collocare quest'ultimo nel soggetto in esame.

La topologia dell'osso cranico, nell'area eliminata dal piano, è troppo com-

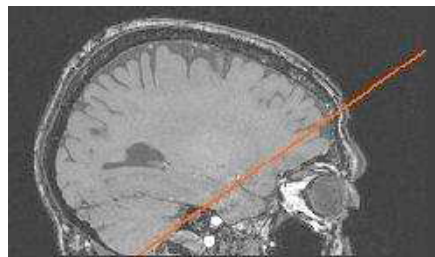


Figura 4.4: In rosso, piano utilizzato per eliminare gli organi anteriori del cranio [24].

plexa per essere modellizzata come una semplice sfera. Il cranio esterno è ottenuto facendo una sogliatura sopra il 35% del voxel con intensità più alta

e sotto il 25% del voxel con intensità più bassa. Se il primo punto è più distante di 7 mm verso l'esterno rispetto della parete cranica interna, viene semplicemente deciso che il punto si trova fuori di 0.5 mm da questa.

4.3.7 Fitting delle mesh

Ottenuti i punti nell'immagine corrispondente alle tre superfici previste, il passo successivo è fittare le mesh in queste superfici e costringere che queste non si intersechino fra di loro. Per omogeneizzare la superficie appartenente a ciascun gruppo di punti, viene effettuato un smooth Gaussiano con $\sigma=3$ mm.

La prima mesh calcolata è la superficie cranica interna, ottenuta passando a *betsurf* la superficie esterna del cervello come input. Viene applicato esattamente lo stesso algoritmo del BET (4.2.3), calcolando le tre componenti del vettore spostamento $\mathbf{u}$:

- La prima componente è tangenziale alla superficie locale e mantiene una distanza uniforme tra i punti della mesh.
- La seconda componente è normale alla superficie locale e controlla lo smooth.
- La terza componente è proporzionale al gradiente locale di intensità.

Lo stesso procedimento viene effettuato per la superficie cranica esterna, partendo da quella interna appena calcolata, e applicando la forzatura di non intersezione con la precedente superficie interna. A questo scopo, viene creata una maschera binaria della precedente mesh, e se un punto si avvicina al bordo di questa, viene rimpiazzato il secondo e terzo termine del vettore spostamento $\mathbf{u}$ da una forza diretta verso l'esterno.

In questo passo posso avvenire dei problemi, principalmente per due motivi:

- Se vengono calcolati incorrettamente due voxel appartenenti alla superficie esterna, la mesh viene attratta da questi due punti e si genera

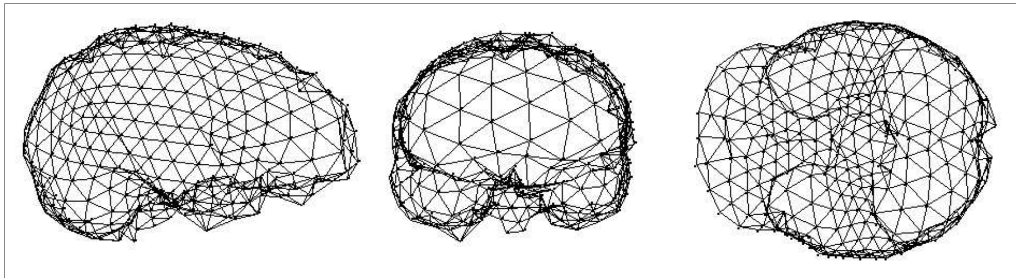


Figura 4.5: Tre prospettive del fit di una superficie con mesh. In loro numero è stato ridotto per ottenere una migliore lettura dell'immagine

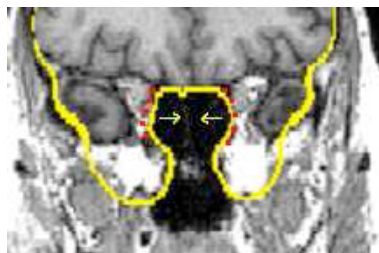


Figura 4.6: Situazione possibile in cui l'algoritmo BET2 non va a buon fine. La linea gialla rappresenta la superficie cranica interna e i punti rossi sono i punti assegnati non correttamente come superficie esterna: nelle iterazioni successive la superficie si espande nella direzione delle frecce e si potrebbe creare un'intersezione [25]

l'intersezione della superficie. La soluzione, semplicemente, consiste nel rimuovere tutti i punti della superficie esterna contenuti all'interno della maschera della superficie interna precedentemente calcolata (vedi fig 4.6).

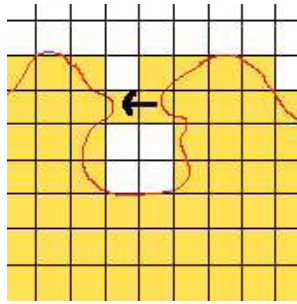


Figura 4.7: Un'altra situazione possibile in cui l'algoritmo BET2 non va a buon fine. La causa è la discretizzazione della superficie [25].

- Con il processo di discretizzazione, applicato dopo il calcolo delle mesh definitive (vedi fig. 4.7).

La superficie dello scalpo viene calcolata partendo da una sfera ottenuta dalla precedente mesh, centrata in un punto centrale, calcolato come media di tutti i punti della superficie esterna, e raggio calcolato come media tra il centro e i punti iniziali da cui è partita la mesh, moltiplicata per un fattore 0.75 (quindi conservativo perchè si ottiene una sfera più piccola sicuramente inclusa all'interno del cervello). Per il calcolo sono necessarie all'incirca 1500 iterazioni. Viene applicata la stessa strategia descritta poco prima per evitare intersezioni con le superfici più interne.

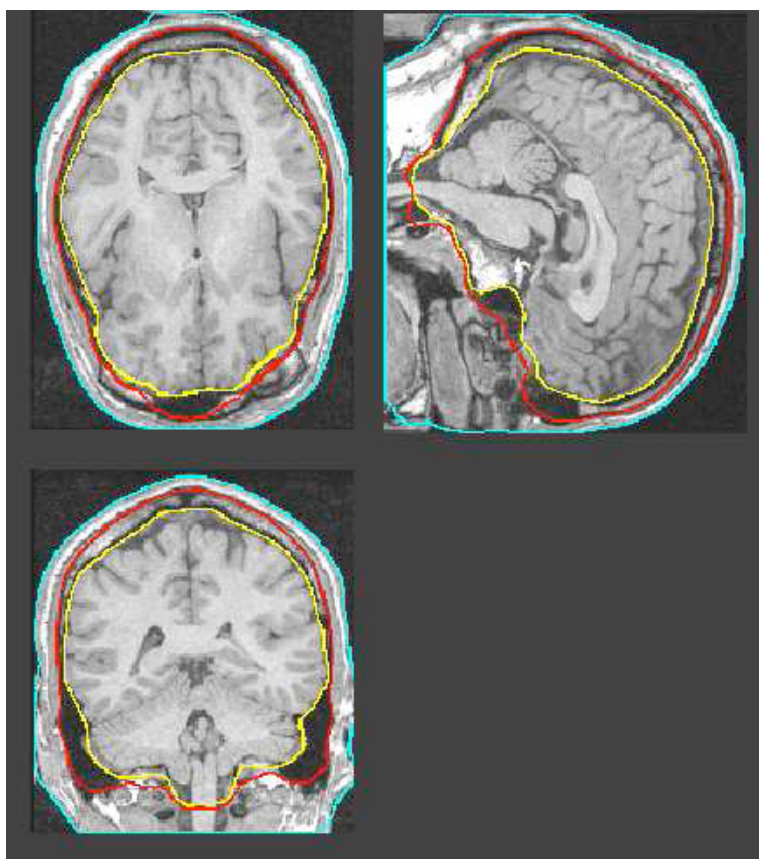


Figura 4.8: Risultato finale dell'algoritmo BET2 nelle sezioni trasversale, sagittale e frontale. In giallo la superficie cranica interna, in rosso la superficie cranica esterna e in azzurro lo scalpo [25].

4.4 FAST

4.4.1 Introduzione

FAST (FMRIB's Automated Segmentation Tool) è un pacchetto, incluso nel software FSL, di segmentazione del volume cerebrale nei tre differenti tessuti (GM, WM e CSF, quest'ultimo esclusivamente contenuto all'interno del volume estratto con il BET), con inclusi algoritmi di correzioni spaziali delle intensità (chiamati anche *bias field*). Il metodo su cui si basa l'algoritmo è un modello *hidden Markov Random Field* associato ad algoritmi di *Expectation-Maximization*. L'intero processo è completamente automatizzato e risulta robusto e ripetibile, se comparato ad altri algoritmi basati su metodi *finiture mixture*, molto più sensibili al rumore presente nelle immagini. Il processo, per un tipico volume di 120 slice con formato 256 x 256 impiega approssimativamente 10 minuti nei più moderni computer.

4.4.2 Stato dell'arte della segmentazione

I metodi di segmentazione automatica o semi-automatica di immagini MR possono essere divisi in due categorie:

- I metodi *strutturali*, basati sulle proprietà spaziali delle immagini: nell'immagine originale vengono selezionate delle regioni dette "semi" che si espandono progressivamente e si uniscono fino a comporre il volume finale della regione desiderata.
- I metodi *statistici*, basati sulle proprietà statistiche dell'immagine a partire dalla distribuzione d'intensità di ciascun voxel: vengono applicate delle soglie nell'istogramma per selezionare quei voxel che, con quella determinata luminosità, vengono classificati come appartenenti ad una determinata classe piuttosto che ad un'altra.

Esistono poi dei modelli statistici più sofisticati basati sulla funzione di distribuzione dell'intensità relazionata a ciascuna classe, dove quest'ultime

vengono trattate come variabili random, perchè inizialmente il loro contenuto è incognito e casuale.

Sia la variabile random $x \in X$ il livello di intensità di un voxel e $y \in Y$ la rispettiva classe di appartenenza. La probabilità condizionata dal fatto che il voxel appartenga alla classe x è $p(y|x)$. Gli approcci statistici tentano di determinare la classe di appartenenza x a partire dall'intensità di ciascun voxel dell'immagine y , utilizzando, per esempio, criteri come *Maximum a Posteriori* (MAP) o *maximum likelihood* (ML). La scelta della distribuzione di densità della probabilità $p(y)$ deve essere molto accurata: dalla sua scelta vengono distinti approcci *parametrici* o *non parametrici*.

Nei metodi non parametrici, la funzione di densità $p(y)$ dipende esclusivamente dai dati in possesso nell'analisi ed esclude qualsiasi assunzione a priori. Uno dei metodi maggiormente utilizzati è *K-Nearest-Neighbours* (K-NN): data una definizione di "distanza" tra voxel (es. differenza di intensità) e fissato il numero dei voxel vicini più prossimi da cercare, vengono agglomerati nella stessa classe voxel vicini e prossimi in modo iterativo fino al raggiungimento di un ottimo.

I metodi parametrici, invece, definiscono esplicitamente la densità di probabilità $p(y)$, che tipicamente per la segmentazione delle immagini MR, è di tipo *finite mixture* (FM), e in maniera più specifica *finite Gaussian mixture* (FGM) se la likelihood ha una distribuzione Gaussiana. Questo tipo di modelli sono sempre basati sull'analisi dell'istogramma delle intensità, ma non tengono conto di nessuna informazione spaziale, per cui ciascun voxel è considerato indipendente da tutti gli altri. Purtroppo, a causa di artefatti di varia natura presenti nelle immagini, questi metodi non portano sempre a risultati soddisfacenti.

Il modello Markov random field (HMRF) permette di ovviare a questi problemi [26]: è costituito da un processo stocastico, generato da un Markov random field, in cui le informazioni spaziali dell'immagine sono codificate attraverso l'introduzione del concetto di voxel vicini. Grazie a questo principio, i voxel vicini dovranno appartenere alla stessa classe e avere un'intensità simile; queste informazioni vengono trasmesse in modo reciproco da ciascun voxel a tutti gli altri attraverso la distribuzione condizionata MRF. Per un'appli-

cazione pragmatica del modello HMRF, è necessario l'utilizzo dell'algoritmo *expectation-maximization* (EM). Quindi, l'algoritmo finale HMRF-EM che ne risulta viene utilizzato nella segmentazione FSL di immagini MR e sembra essere accurato e robusto, se paragonato agli altri algoritmi disponibili.

Va ricordato che questi risultati possono essere raggiunti se si utilizza esclusivamente un approccio stocastico: infatti l'utilizzo di un semplice modello FM, basato su un prior, porta al suo seguito i problemi descritti precedentemente.

In questo contesto la segmentazione è trattata come un problema basato su un modello statistico, articolata in tre passaggi successivi:

- Selezione del modello
- Fitting del modello
- Classificazione

4.4.3 Fitting del modello attraverso l'algoritmo EM

Il modello, per essere completo, ha bisogno della stima dei parametri, procedura conosciuta come *fitting* del modello. Per un modello HMRF i parametri da stimare sono $\theta = \{\theta_l, l \in \mathcal{L}\}$ e, in particolare se viene utilizzata una funzione di emissione Gaussiana per la variabile osservata y , allora i parametri da stimare diventano la media e la deviazione standard della Gaussiana $\theta_l = (\mu_l, \sigma_l)$.

Inoltre, le classi della segmentazione e i parametri da stimare sono fortemente correlati tra di loro, pertanto la stima dei parametri del modello diventa un problema incompleto. Per risolvere la stima, come già introdotto, viene utilizzata un algoritmo del tipo *expectation-maximization* (EM), che matematicamente può essere riassunto in questi passaggi:

Stima iniziale Partendo da una iniziale stima θ^0 dei parametri incogniti, viene calcolata la parte $\hat{\mathbf{x}}$ (stima della classificazione).

E-step Consiste nel calcolo dell'aspettazione condizionata, che in questo caso, coincide con il valore atteso della log-likelihood condizionata dalla stima dei parametri del passo precedente

$$\begin{aligned} Q(\theta|\theta^{(t)}) &= \varepsilon [\log P(\mathbf{x}, \mathbf{y}|\theta)|\mathbf{y}, \theta^{(t)}] \\ &= \sum_{\mathbf{x} \in \mathcal{X}} p(\mathbf{x}|\mathbf{y}, \theta^{(t)}) \log p(\mathbf{x}, \mathbf{y}|\theta) \end{aligned} \quad (4.5)$$

M-step Consiste nella massimizzazione dell'aspettazione per ottenere una nuova stima dei parametri:

$$\theta^{(t+1)} = \arg \max_{\theta} Q(\theta|\theta^{(t)}) \quad (4.6)$$

Vengono aggiornate le nuove stime dei parametri $\theta^{(t+1)} \rightarrow \theta^{(t)}$ e ripetuta la procedura a partire dal passaggio E-step.

Dal momento che il fitting del modello EM e l'algoritmo di classificazione ICM convergono localmente, la scelta delle condizioni iniziali è cruciale per non cadere in un ottimo locale. Se non si utilizzano informazioni a priori, i parametri della distribuzione di probabilità a priori Gaussiana sono determinati attraverso un fitting dell'istogramma dell'intensità dell'immagine. In linea teorica, infatti, ciascuna classe dovrebbe essere separata dalle altre e quindi il fitting della distribuzione con una Gaussiana risulta piuttosto semplice. Purtroppo, a causa di immagini troppo rumorose e alla presenza di disomogeneità del campo magnetico, che si traducono in una non corretta luminosità dei voxel appartenenti a ciascuna classe, questo non è sempre facile. Si ricorre quindi ad una strategia alternativa, che si basa sulla determinazione di soglie, per ciascuna classe, che massimizzano la varianza tra voxel di classi diverse e minimizzano la varianza tra voxel della stessa classe. Una volta calcolate le soglie ottime, vengono stimati, per ciascuna classe, la media μ e la deviazione standard σ che costituiscono i parametri iniziali (del prior Gaussiano) per l'avvio dell'algoritmo.

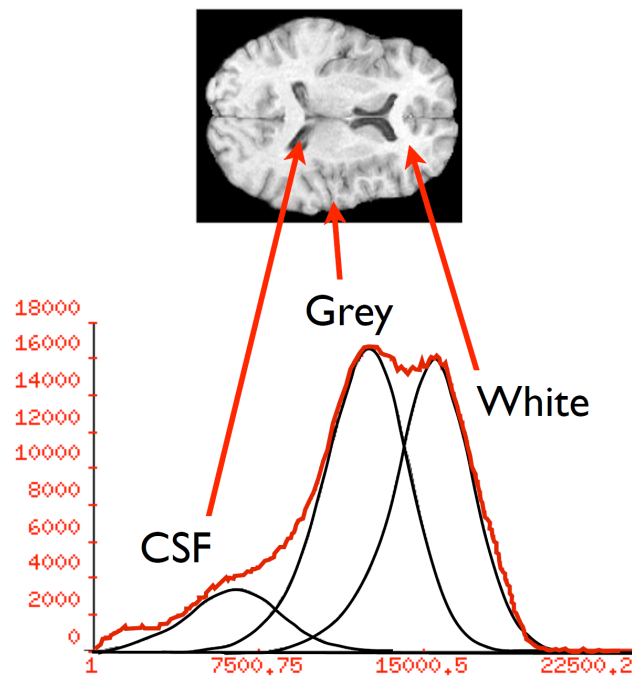


Figura 4.9: Istogramma dell'intensità dei voxel (in rosso) con sovrapposte le gaussiane (in nero) per ciascuna classe di segmentazione (CSF, GM e WM) con localizzazione spaziale di alcuni pixel di esempio (freccie rosse) in un'immagine T1 pesata.

4.4.4 Correzione del bias del campo magnetico - MEM

Le immagini MR sono spesso corrotte da un rumore di bassa frequenza conosciuto come *bias field* dovuto principalmente ad interazioni tra il corpo umano e il campo magnetico applicato dalla macchina, differenti attenuazioni del segnale e non linearità nei ricevitori del segnale a radio-frequenza. Questi artefatti spesso non sono visibili a occhio nudo, ma possono inficiare le performance di algoritmi automatici basati sull'intensità dell'immagine, come quelli che effettuano segmentazioni. E' necessaria pertanto una soluzione robusta, veloce ed automatica a questo problema.

Uno dei metodi più usati per eliminare il problema del *bias field* consiste nel costruire un modello, in cui il bias $B = (b_1, \dots, b_N)$ viene definito come un vettore random N -dimensionale con densità di probabilità Gaussiana $p(B) = G_{\psi_B}(B)$, di media 0 e varianza data dalla matrice di covarianza ψ_B $N \times N$. Definita $I = (I_1, \dots, I_N)$ le intensità dei voxel dell'immagine osservata e $I^* = (I_1^*, \dots, I_N^*)$ le intensità di quella reale, l'effetto dovuto al bias field può essere descritto come un fattore moltiplicativo:

$$I_i = I_i^* \times b_i \quad \text{con} \quad i \in \{1, \dots, N\} \quad (4.7)$$

Passando ad una trasformazione logaritmica delle intensità, l'artefatto dovuto al bias field può essere pensato come un rumore aggiuntivo alle immagini ideali: $\mathbf{y} = \mathbf{y}^* + B$. Considerando $\mathbf{x}$ come la matrice delle classi di appartenenza a ciascun voxel e a una distribuzione Gaussiana delle loro intensità, la distribuzione di probabilità congiunta dell'intensità del voxel i -esimo data dalla classe di appartenenza e dal bias field aggiunto diventa:

$$p(y_i | x_i, b_i) = g(y_i - b_i; \theta(x_i)) \quad (4.8)$$

e considerando la (A.3), diventa:

$$p(y_i | b_i) = \sum_{j \in \mathcal{L}} \{g(y_i - b_i; \theta(j)) P(j)\} \quad (4.9)$$

Per la stima del bias field $\hat{B}$ viene utilizzata una stima MAP:

$$\hat{B} = \arg \max_B p(\mathbf{y}|B)p(B)$$

Viene stimata quindi la probabilità a posteriori W_{ij} per il pixel i -esimo della classe j -esima, noto il bias field stimato b_i . Queste informazioni vengono utilizzate nell'algoritmo iterativo EM: nel E-step si assume noto il bias field (per la prima iterazione viene posto a zero su tutta l'immagine) e viene calcolata la probabilità a posteriori $W_{i,j}$ della classificazione, mentre nel M-step viene stimato il bias field B utilizzando la classificazione stimata al punto precedente; infine, raggiunto il punto di ottimo, viene calcolato il bias field finale e l'intensità originale $I^* = I / \log B$ dell'immagine.

Questo algoritmo raggiunge ottimi risultati se le classi seguono veramente un andamento probabilistico Gaussiano. Se così non è, come nel caso di regioni in cui è presente il liquido cerebro-spinale o sono presenti patologie, il bias field calcolato non è corretto. Per evitare che ciò accada, è stata introdotta un'ulteriore classe di segmentazione, in cui viene assegnato tutto ciò che non può essere accettato dalle altre classi: questa classe, chiamata *altra* ha una distribuzione uniforme. Correggendo la (4.9) diventa:

$$p(y_i|b_i) = \sum_{j \in \mathcal{L}_G} \{g(y_i - b_i; \theta(j))P(j)\} + \lambda P(l_o) \quad (4.10)$$

dove $\mathcal{L}_G$ indica l'insieme delle classi Gaussiane, l_o l'*altra* classe e λ la densità della distribuzione uniforme. Attraverso quest'ultima modifica, le performance dell'algoritmo, chiamato *EM modificato* (MEM), applicato al calcolo del bias field, migliorano sensibilmente in certe situazioni.

4.4.5 HMRF-EM con correzione del bias field

All'algoritmo di segmentazione HMRF descritto nel paragrafo 4.4.3 può venire facilmente aggiunta la correzione del bias field del campo magnetico. Si cerca la convergenza dell'algoritmo attraverso la stima di tre parametri: il bias field, la classificazione e i parametri impliciti del modello (riferiti alle

distribuzioni di probabilità Gaussiane).

Riassumendo schematicamente, il procedimento di segmentazione automatica viene così descritto:

Start Calcolo delle soglie ottime dell'immagine per la stima iniziale dei parametri.

E-step bias field Stima del bias field b_i del campo magnetico.

M-step bias field Massimizzazione del posterior porta alla stima dei nuovi parametri del bias field:

$$B^{(t)} = \arg \max_B p(B|\mathbf{y}, \mathbf{x}^{(t-1)}, \theta(t))$$

E-step classificazione Calcolo della likelihood con i parametri precedentemente stimati:

$$p^{(t)}(y_i|x_i, B) = g^{(t)}(y_i - b_i; \theta(x_i))$$

M-step classificazione Massimizzazione del posterior porta alla stima dei nuovi parametri per la classificazione:

$$\mathbf{x}^{(t)} = \arg \max_{\mathbf{x} \in \mathcal{X}} \{P(\mathbf{y}|\mathbf{x}, \theta(t)) + P(\mathbf{x})\}$$

E-step Calcolo dell'aspettazione condizionata $Q(\theta|\theta^{(t)})$

M-step Massimizzazione $Q(\theta|\theta^{(t)})$ per ottenere una nuova stima dei parametri $Q(\theta^{(t+1)})$:

$$Q(\theta^{(t+1)}) = \arg \max_{\theta} P(\mathbf{y}|\theta, \mathbf{x}^{(t)}, B^{(t)})$$

Vengono aggiornate le variabili $t \leftarrow t + 1$ e vengono ripetuti tutti i passi tranne lo *start* fino a convergenza in un ottimo.

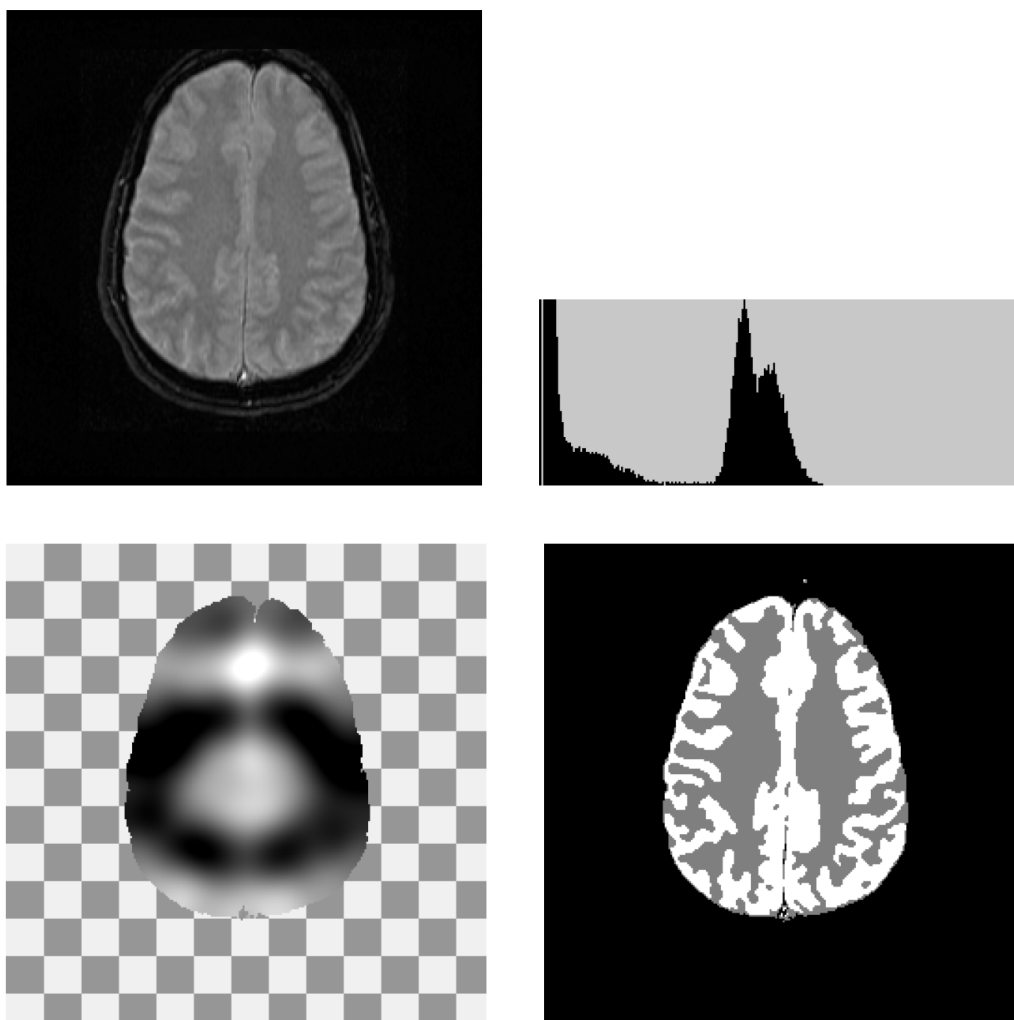


Figura 4.10: Risultato finale della segmentazione con l'algoritmo FAST di FSL. Dall'alto a sx: immagine T1 di partenza, istogramma dell'immagine corretta per il bias field (si nota il picco più a sx, corrispondente ai voxel più scuri del background, il picco al centro dei voxel della WM e quello più a dx, corrispondente ai voxel più luminosi, della GM), correzione del campo magnetico, segmentazione risultante (GM in colore bianco e WM in colore grigio).

Capitolo 5

Segmentazione SPM

5.1 Introduzione

Il software SPM è stato sviluppato dai Functional Imaging Laboratory (FIL), The Wellcome Trust Centre for NeuroImaging, presso l'Institute of Neurology nell'University College London (UCL), Uk, è disponibile gratuitamente da internet (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>) e viene implementato in Matlab (The MathWorks, Inc), con alcune function già precompilate in C.

5.2 Segmentazione in SPM

In generale la segmentazione di immagini anatomiche del cervello in WM, GM e CSF avviene attraverso due procedure [27]:

- La prima procedura consiste in una *tissue classification*, ovvero ogni voxel viene assegnato a una classe di tessuto in base alla sua intensità. Una selezione automatica dei voxel rappresentativi di ogni classe viene effettuata attraverso una prima registrazione del cervello in uno spazio standard e successivamente la classificazione dell'intensità di tutti

i voxel viene modellata nell'istogramma delle intensità con un mix di Gaussiane e pesata utilizzando una mappa di probabilità a priori riferita allo spazio standard.

- La seconda procedura utilizza una registrazione con un cervello standard già segmentato e in cui ogni struttura interna è già stata riconosciuta, e che viene poi riportata nel cervello da segmentare.

SPM utilizza una tecnica denominata *voxel-based morphometry* (VBM) ottimizzata. Brevemente, l'algoritmo consiste in un iniziale normalizzazione spaziale, segmentazione nelle rispettive classi di tessuti, smoothing e utilizzo di un prior per calcolare la probabilità statistica di appartenenza di ogni voxel ad ogni classe. Il cervello di ogni singolo soggetto viene normalizzato con un cervello standard affinché le materie grigie dei due cervelli combacino perfettamente; in questo modo è possibile eliminare tutto ciò al di fuori del cervello (es. lo scalpo). Successivamente vengono utilizzate le mappe probabilistiche a priori, che, combinate con l'intensità di ogni voxel attraverso la regola di Bayes, restituiscono la probabilità a posteriori.

Questa procedura sembrerebbe di primo acchito circolare, ovvero una registrazione iniziale richiede una classificazione iniziale (conoscere la segmentazione è necessario per poter allineare i due cervelli) e una classificazione iniziale richiede a sua volta una registrazione iniziale (il prior deve essere allineato con il cervello in esame). Il ragionamento circolare è stato quindi risolto combinando entrambe le metodologie con un singolo modello di tipo generativo. Questo modello, inoltre, include parametri che tengono conto della non uniforme intensità delle immagini dovuto al bias del campo magnetico. Massimizzando la probabilità a posteriori, vengono calcolati i parametri del modello alternando i tre step: classificazione, correzione del bias e registrazione. Questo approccio risulta più efficace rispetto alla la singola ottimizzazione di ogni singolo step.

5.3 Mix di Gaussiane

La distribuzione di intensità dell'immagine è modellata da un mix di K Gaussiane, che corrispondono ai cluster a cui apparterrà ciascun voxel, ciascuna caratterizzata da un media (μ_k), varianza (σ_k^2) e da un coefficiente di mix (γ_k , dove $\sum_{k=1}^K \gamma_k = 1$) che rappresenta il rapporto sul totale dei voxel che appartengono alla k -esima gaussiana. Determinare il fit del mix di Gaussiane (*mixture of Gaussians*, MOG) significa massimizzare la probabilità di osservare gli I elementi dell'immagine y , data la parametrizzazione della Gaussiana. La probabilità di ottenere un dato con intensità y_i , sapendo che appartiene alla k -esima gaussiana parametrizzata da μ_k e σ_k^2 è:

$$P(y_i|c_i = k, \mu_k, \sigma_k) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma_k^2}} \exp\left(-\frac{(y_i - \mu_k)^2}{2\sigma_k^2}\right) \quad (5.1)$$

La probabilità a priori di ciascun voxel di appartenere alla k -esima gaussiana, dato il coefficiente di mix di quella Gaussiana, è:

$$P(c_i = k|\gamma_k) = \gamma_k \quad (5.2)$$

Applicando la regola di Bayes per la probabilità congiunta, la probabilità di un voxel avente intensità y_i di appartenere al cluster k , chiamata anche *posterior*, è:

$$P(y_i, c_i = k|\mu_k, \sigma_k, \gamma_k) = P(y_i|c_i = k, \mu_k, \sigma_k)P(c_i = k|\gamma_k) \quad (5.3)$$

Integrando tutti i K cluster otteniamo la probabilità del voxel y_i :

$$P(y_i|\mu, \sigma, \gamma) = \sum_{k=1}^K P(y_i, c_i = k|\mu_k, \sigma_k, \gamma_k) \quad (5.4)$$

La probabilità dell'intero data-set y si ottiene dalla probabilità congiunta di tutti i voxel, ovvero moltiplicando l'intensità di ciascun voxel y_i del

data-set, perchè si assume che i voxel siano tra loro indipendenti (per ora). Applicando il logaritmo si ottiene la funzione costo, monotonica rispetto ai parametri da stimare, che deve essere massimizzata:

$$\varepsilon = -\log P(\mathbf{y}|\mu, \sigma, \gamma) = -\sum_{i=1}^I \log \left(\sum_{k=1}^K \frac{\gamma_k}{\sqrt{2\pi\sigma_k^2}} \exp \left(-\frac{(y_i - \mu_k)^2}{2\sigma_k^2} \right) \right) \quad (5.5)$$

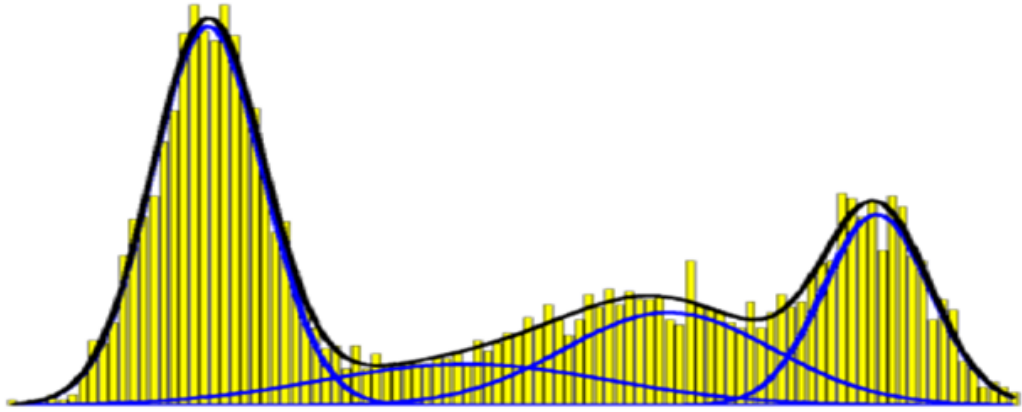


Figura 5.1: Istogramma delle intensità dei voxel (in giallo) sovrapposto alle gaussiane di ciascuna classe (in blu) e le intensità modellizzate dalla somma di gaussiane (linea nera). L'approssimazione dell'istogramma con la somma delle gaussiane è molto soddisfacente.

5.4 Correzione del bias

Le immagini MR sono generalmente corrotte da artefatti dovuto in particolar modo alla disomogeneità del campo magnetico presente all'interno della macchina che produce una variazione dell'intensità in tutto in volume in modo non uniforme. Questi artefatti, che non creano grandi problemi di visualizzazione delle immagini, in realtà possono provocare ovvi problemi alla segmentazione automatica. I modelli parametrici per la correzione del bias sono diversi e sono spesso parte integrante degli algoritmi di classificazione.

SPM utilizza un modello parametrico in cui l'intensità del segnale osservato y_i è costituito dal segnale vero μ_i e da un rumore Gaussiano aggiunto n_i , ridotti da un certo fattore di bias ρ_i :

$$y_i = (\mu_i + n_i)/\rho_i \quad (5.6)$$

Nel modello in esame, la correzione del bias è incluso nel MOG da un ulteriore parametro che tiene conto della variazione dell'intensità dello smooth, $\rho_i(\beta)$, dove β è un vettore dei parametri sconosciuti. Aggiornando, per ogni k -esimo cluster la media $\mu_k/\rho_i(\beta)$ e la varianza $(\sigma_k/\rho_i(\beta))^2$, la funzione obiettivo (5.5) della classificazione tessutale diventa:

$$\varepsilon = - \sum_{i=1}^I \log \left(\rho_i(\beta) \sum_{k=1}^K \frac{\gamma_k}{\sqrt{2\pi\sigma_k^2}} \exp \left(-\frac{(\rho_i(\beta)y_i - \mu_k)^2}{2\sigma_k^2} \right) \right) \quad (5.7)$$

Il modello del bias è quindi rappresentato come l'esponenziale di una combinazione lineare di funzioni logaritmiche.

5.5 Mappe probabilistiche a priori

I *prior*, o mappe probabilistiche a priori, sono ottenute registrando le mappe di un grande numero di soggetti, nelle quali a ogni voxel corrisponde la probabilità di appartenere a ciascuna classe, e facendo un'operazione di media tra di esse. SPM utilizza una versione modificata dell'ICBM Tissue Probabilistic Atlas, costituito da 452 immagini T1-pesate. Questo consiste in quattro mappe di probabilità per ciascuna delle quattro classi: materia bianca, materia grigia, liquido cerebrospinale e una quarta classe ottenuta come 1 meno la somma delle tre precedenti. Attraverso queste mappe si ottiene la probabilità di appartenenza a ciascuna classe di qualsiasi voxel dell'immagine, prima registrata nello spazio standard, indipendentemente dal valore dell'intensità di questo. A questo punto è possibile modificare

il modello dell'eq. (5.7) tenendo conto però delle mappe probabilistiche a priori che assumono il ruolo di prior spaziali. Viene corretto il fattore di mix ($P(c_i = k|\gamma) = \gamma_k$); la probabilità del voxel i -esimo di appartenere al k -esimo cluster è:

$$P(c_i = k|\gamma) = \frac{\gamma_k b_{ik}}{\sum_{j=1}^K \gamma_j b_{ij}} \quad (5.8)$$

dove b_{ij} è la probabilità tessutale per la classe k del voxel i -esimo.

Il numero di Gaussiane usate per rappresentare la distribuzione di intensità di ciascuna classe di solito è più grande di uno. Infatti una sola Gaussiana non riesce a modellizzare la distribuzione di intensità dei voxel di ogni classe perché solitamente un voxel non contiene solamente un solo tipo di tessuto (*partial volume effect*), soprattutto in quelle zone in cui si ha un graduale passaggio da una classe ad un'altra (la distinzione tra GM e WM non può essere rappresentata attraverso una linea netta) oppure in certe strutture interne, come il talamo, costituito sia da WM, che da GM. La maggior parte dei modelli utilizza una gaussiana per ogni classe più una gaussiana per ogni intervallo tra classi diverse, che contiene l'insieme dei voxel che non appartengono né all'una, né all'altra classe, con un rapporto di 50/50. Questo modello assume semplicemente che la distribuzione di ogni classe non sia Gaussiana e, in accordo con questo, utilizza una combinazione di queste: il numero di gaussiane che vengono utilizzate (di default dall'algoritmo) per la GM sono 2, per la WM sono 2, per il CSF sono 2 e per la rimanente quarta classe (costituita da quei tessuti che non appartengono a nessuna delle tre classi precedenti) sono 4.

In seguito alla registrazione su uno spazio standard, i cui parametri sono salvati nel vettore α , si ha una cosiddetta *deformazione* delle mappe di probabilità originali.

In SPM la registrazione su uno spazio standard avviene attraverso la determinazione dei parametri di una trasformazione Affine attraverso l'ottimizzazione di una funzione obiettivo che consiste nella somma di log-likelihood e termini a priori. Questo passaggio viene ripetuto per un migliaio di volte e

la registrazione che viene ottenuta è paragonabile a registrazioni ottenute da altri algoritmi automatizzati con molti più parametri.

Tenendo conto di quest'ultimo fattore e della correzione del fattore di mix (5.8), l'eq (5.7) diventa:

$$\varepsilon = - \sum_{i=1}^I \log \left(\frac{\rho_i(\beta)}{\sum_{k=1}^K \gamma_k b_{ij}(\alpha)} \sum_{k=1}^K \frac{\gamma_k b_{ij}(\alpha)}{\sqrt{2\pi\sigma_k^2}} \exp \left(-\frac{(\rho_i(\beta)y_i - \mu_k)^2}{2\sigma_k^2} \right) \right) \quad (5.9)$$

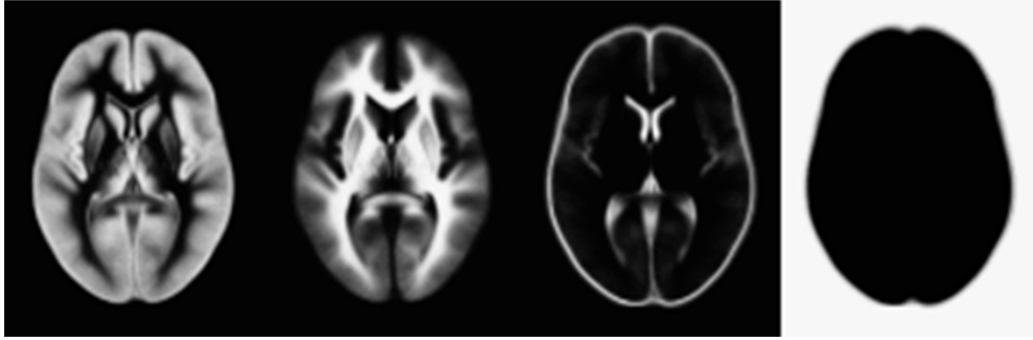


Figura 5.2: Mappe probabilistiche a priori utilizzate da SPM. Da sx, prior per la GM, WM, CSF e voxel non appartenenti al cervello. I valori, rappresentati con una scala dei grigi, sono compresi in un range tra zero (bianco) e uno (nero).

5.6 Regolarizzazione

Un fatto importante per la classificazione delle immagini basata sulla diversa intensità dei voxel è la distinzione tra variazione di intensità dovuta ad artefatti e disomogeneità, intrinseche delle immagini di MR, e variazioni lineari dovute all'appartenenza ad una tipologia di tessuto diverso. Infatti la prima è una variazione che tende a essere smooth nello spazio in considerazione, mentre la seconda variazione tende ad avere delle componenti in alta frequenza.

Una stima più accurata del bias del campo magnetico può essere ottenuta

includendo una stima a priori della distribuzione dello stesso, e massimizzando la funzione obiettivo likelihood al variare dei parametri che devono essere stimati (*fitting* del modello):

$$P(y, \beta, \alpha | \gamma, \mu, \sigma^2) = P(y | \beta, \alpha, \gamma, \mu, \sigma^2) P(\beta) P(\alpha) \quad (5.10)$$

Passando alla trasformazione logaritmica della (5.10), ciò equivalente a minimizzare:

$$\mathcal{F} = -\log P(y, \beta, \alpha | \gamma, \mu, \sigma^2) = \varepsilon - \log P(\beta) - \log P(\alpha) \quad (5.11)$$

dove si assume che la densità di probabilità dei parametri spaziali sia una gaussiana multivariata a media zero ($P(\alpha) = N(0, C_\alpha)$ e $P(\beta) = N(0, C_\beta)$). Il prior sul bias del campo magnetico è generato da uno smoothing di un rumore gaussiano random a media zero, da un ampio kernel gaussiano (di circa 70 mm FWHM) e successivamente convertito ad esponenziale.

5.7 Ottimizzazione

Definita la funzione obiettivo, lo scopo è minimizzarla al variare dei parametri: i parametri ottimi stimati saranno quelli ricavati nel punto minimo della funzione. Il valore ottimo di ogni parametro è in dipendenza dal valore degli altri. Viene utilizzato un approccio *Iterated Conditional Models* (ICM), assegnando un valore iniziale ai parametri e iterando la procedura fino alla soluzione ottima; ciascuna iterazione alterna la stima di un parametro tenendo fissi gli altri al loro valore ottimo precedentemente trovato. I parametri sono aggiornati attraverso un algoritmo di *Expectation Maximisation* (EM). Poichè l'intensità del bias è smooth, questo può essere descritto da un ristretto numero di parametri.

La procedura converge ad un ottimo locale, pertanto è necessaria una corretta assegnazione del valore iniziale dei parametri: i parametri per la clusterizza-

zione sono assegnati in maniera random mentre per i coefficienti per il bias e la deformazione non lineare sono settati a zero, ma viene stimata un'iniziale registrazione Affine per allineare in maniera approssimativa il cervello con le mappe probabilistiche a priori. Il modello in esame della segmentazione è pensato solamente per l'interno del cervello, pertanto è necessario effettuare un'operazione preliminare di eliminazione dello scalpo. Una procedura iniziale consiste nel classificare i voxel nell'istogramma delle intensità con due gaussiane, una a cui appartengono i voxel dell'interno del cervello, l'altra a cui appartiene l'aria circostante il cervello, e applicare una soglia a 50% delle probabilità.

5.7.1 Stima dei parametri μ, σ^2 e γ

Per l'ottimizzazione dei parametri del clustering (μ, σ^2 e γ) è sufficiente minimizzare la funzione obiettivo al variare di questi. Assumendo che il vettore dei parametri di interesse sia riassunto in $\theta = \{\mu, \sigma, \gamma, \alpha, \beta\}$, e q_{ij} una qualche distribuzione, per minimizzare la funzione obiettivo

$$\varepsilon \leq \varepsilon_{EM} = - \sum_{i=1}^I \log P(y_i|\theta) + \sum_{i=1}^I \sum_{k=1}^K q_{ik} \log \left(\frac{q_{ik}}{P(c_i = k|y_i, \theta)} \right) \quad (5.12)$$

si utilizza un approccio iterativo che alterna un E-step (che minimizza ε_{EM} rispetto a q_{ik}) ad un M-step (che minimizza ε_{EM} rispetto a θ). Per determinare il punto minimo della funzione obiettivo ε_{EM} , rispetto ad un determinato parametro, si calcola la derivata parziale e la si pone uguale a 0:

$$\begin{aligned}\frac{\partial \mathcal{F}}{\partial \mu_k} &= \frac{\partial \varepsilon}{\partial \mu_k} = 0 \longrightarrow \mu_k^{(n+1)} \\ \frac{\partial \mathcal{F}}{\partial \sigma_k^2} &= \frac{\partial \varepsilon}{\partial \sigma_k^2} = 0 \longrightarrow \sigma_k^{2(n+1)} \\ \frac{\partial \mathcal{F}}{\partial \gamma_k} &= \frac{\partial \varepsilon}{\partial \gamma_k} = 0 \longrightarrow \gamma_k^{(n+1)}\end{aligned}$$

dove $\mathcal{F}$ è ottenuta con la (5.11).

5.7.2 Stima dei parametri β

Il passo successivo è aggiornare la stima del bias dovuto al campo magnetico, tenendo fissati gli altri parametri $(\mu, \sigma, \gamma, \alpha)$ e utilizzando un approccio del tipo Newton-Raphson o Gauss-Newton; viene utilizzato un fattore di scala λ che funge da trade-off tra velocità di convergenza (valori bassi, prossimi allo 0) e stabilità (valori alti). Il valore di λ di solito viene gradualmente diminuito al diminuire del valore della funzione costo. Se la funzione costo aumenta, viene mantenuto il valore precedente di β stimato e λ viene aumentato per aumentare la stabilità dell'algoritmo. In questo caso vengono poste a zero le derivate prime e seconde della funzione costo rispetto al parametro β per ottenere la sua stima:

$$\beta^{(n+1)} = \beta^{(n)} - \left(\frac{\partial^2 \mathcal{F}}{\partial \beta^2} \Big|_{\beta^{(n)}} + \lambda \mathbf{I} \right)^{-1} \frac{\partial \mathcal{F}}{\partial \beta} \Big|_{\beta^{(n)}}$$

5.7.3 Stima dei parametri α

La stessa strategia viene utilizzata per l'aggiornamento dei parametri riferiti alla registrazione α , l'algoritmo di Gauss-Newton tiene conto solamente della differenza quadratica media della funzione obiettivo tra le immagini, da registrare e di riferimento. Per interpolare i dati si utilizza una semplice interpolazione trilineare o un'interpolazione con B-spline. Poichè le mappe tissutali devono contenere valori compresi tra 0 e 1, si preferisce la prima

alla seconda, perchè le B-spline possono produrre valori negativi o fuori dal range ammissibile per mantenere una certa regolarità della funzione interpolante. In alternativa si possono utilizzare le B-spline attraverso strategie di deconvoluzione che applicano una restrizione sulla non negatività dei nuovi valori stimati; di fatto vengono utilizzate B-spline di terzo grado senza deconvoluzione, ma questo aggiunge uno smooth alle immagini comunque accettabile.

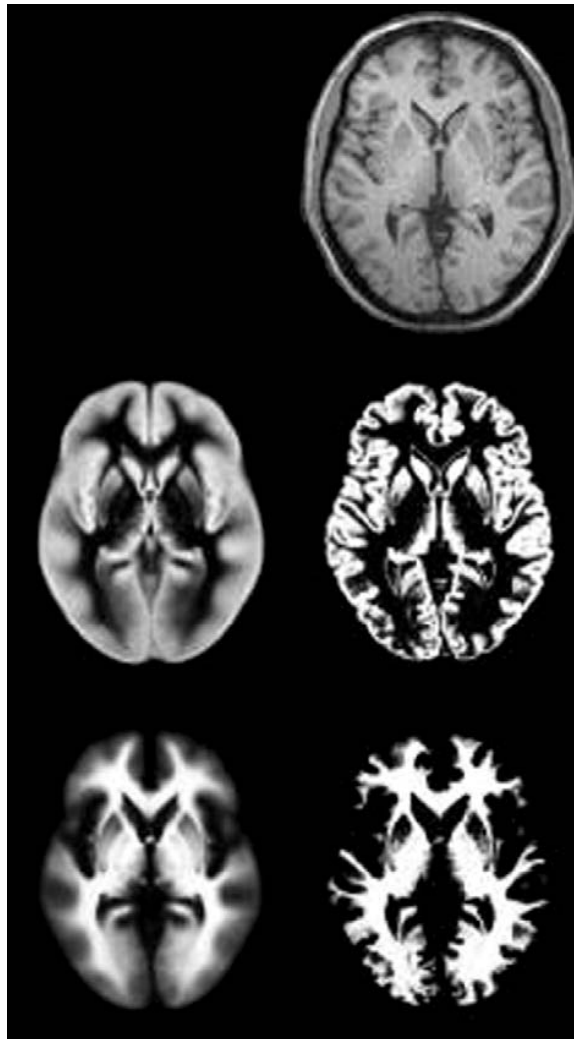


Figura 5.3: A sx, mappe probabilistiche a priori per la GM (in alto) e la WM (in basso). A dx, in alto immagine T1 di partenza e segmentazione della GM (al centro) e della WM (in basso).

Capitolo 6

Segmentazioni con SPM e FSL

6.1 Data-set 1

Il primo data-set analizzato è stato scaricato dal sito internet IBSR (Internet Brain Segmentation Repository, <http://www.cma.mgh.harvard.edu/ibsr/>) ed è costituito da immagini MR T1 pesate di 20 soggetti sani. Le immagini sono state ottenute attraverso due differenti sistemi di acquisizioni di immagini:

- 10 scansioni (4 maschi e 6 femmine) utilizzando una macchina Siemens Magnetom MR System 1.5 T e sequenza con i seguenti parametri:

Parametro	valore impostato
TR	40 msec
TE	8 msec
flip-angle	50°
field of view	30 cm
slice thickness	3.1 mm contigue
numero slice	variabile tra 60 e 64
matrice dell'immagine	256 x 256

- 10 scansioni (6 maschi e 4 femmine) utilizzando una macchina General Electric Signa MR System 1.5 T e sequenza con i seguenti parametri:

Parametro	valore impostato
TR	50 msec
TE	9 msec
flip-angle	50°
field of view	24 cm
slice thickness	3.0 mm contigue
numero slice	variabile tra 60 e 64
matrice dell'immagine	256 x 256

Le immagini di partenza non sono di alta qualità, molto rumoroso, proprio per testare anche nei casi più difficili gli algoritmi. Ad ogni modo sono stati eliminati 2 soggetti (n° 17 e 18) perchè era presente un forte bias e rumore nelle immagini, tanto che le segmentazioni risultavano difficoltose e i risultati sarebbero stati interpretati come outlier.

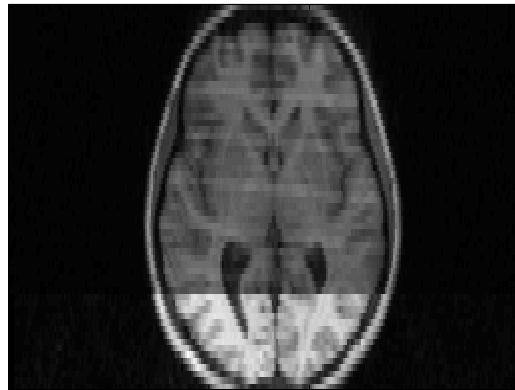


Figura 6.1: Soggetto n° 17 eliminato: è presente una artefatto ben visibile

Dei rimanenti 18 soggetti, tutti sono stati precedentemente normalizzati all'atlante standard di Talairach applicando solamente 3 rotazioni nei rispettivi assi del sistema di riferimento iniziale, utilizzando come punti di riferimento la metà della decussazione della commissura anteriore e posteriore e il piano medio-sagittale al livello della commissura posteriore. Le scansioni così orientate sono state ricampionate utilizzando le seguenti dimensioni per

Sogg n°	Sesso	Età
1	F	23
2	M	25
3	M	27
4	M	32
5	M	28
6	M	38
7	F	35
8	M	32
9	M	31
10	F	36
11	F	29
12	F	32
13	F	28
14	F	24
15	F	34
16	F	29
17	F	20
18	M	22
19	M	29
20	M	27

Tabella 6.1: Età e Sesso dei 20 soggetti analizzati

ciascun voxel: 3.0 mm lungo il piano coronale, 1.0 mm lungo il piano assiale e 1.0 mm lungo il piano sagittale.

La segmentazione di riferimento era già inclusa nei dati scaricati online ed è stata ottenuta precedentemente, a partire dalle immagini normalizzate su un atlante standard, da operatori esperti utilizzando un algoritmo di mappatura del contorno semi-automatizzato basato sull'intensità di ciascun voxel e su istogrammi di tutta l'immagine. Una volta che sono state definite le mappe dei bordi esterni del voxel da classificare, i bordi rispettivamente per la WM e la GM sono stati ottenuti attraverso istogrammi dell'intensità, definendo il bordo come il punto a metà tra i picchi degli istogrammi bimodali per una data struttura e il tessuto adiacente.

Poichè i dati scaricati erano in formato *raw analyze*, ciascun file (immagine T1 e segmentazione di riferimento) è stato convertito in formato interi di 16



Figura 6.2: Esempio di segmentazione fallita con SPM

bit.

Per quanto riguarda la segmentazione utilizzando sia l'algoritmo di SPM, sia l'algoritmo BET, primo passo per la segmentazione con FSL, sono state riscontrate subito delle difficoltà. Per quanto riguarda SPM, l'algoritmo di segmentazione non riusciva a riconoscere la posizione del cervello ed a orientarlo correttamente per allinearlo con i prior a disposizione (fig. 6.2), mentre, per quanto riguarda FSL, già utilizzando il BET che prepara alla segmentazione vera e propria, venivano considerate erroneamente come cervello anche alcune zone dello scalpo e del collo (fig. 6.3)

6.2 Normalizzazione

Pertanto si è dovuto preliminarmente normalizzare il cervello in uno spazio standard, ICBM space template, e successivamente, da questi volumi, segmentare con SPM e FSL. Il software SPM è stato fatto girare su Matlab v. 7.8.0 r2009a. Per la normalizzazione con SPM, è stata utilizzata la function *Normalise: Estimate & Write* con le impostazioni di tabella ??:

Nella directory in cui sono state salvate le immagini normalizzate con

Parametro	Valore impostato
Data-Subject	
Source Image	immagine MR di partenza T1 pesata da segmentare, utilizzata per il calcolo della matrice Affine
Source Weighting Image	non usata
Image to Write	si applica la normalizzazione alla stessa immagine usata nel Source
Estimation Options	
Template Image	T1.nii
Template Weighting Image	non usata
Source Image Smoothing	8, smoothing applicato all'immagine di partenza per aumentare il rapporto segnale-rumore.
Template Image Smoothing	0
Affine Regularisation	ICBM space template, spazio standard su cui normalizzare
Nonlinear Frequency Cutoff	25
Nonlinear Iterations	16
Nonlinear Regularisation	1
Writing Options	
Preserve	Preserve Amount
Bounding box	2x3 double
Voxel sizes	[1 3.1 1]
Interpolation	Trilinear
Wrapping	No wrap
Filename Prefix	w

Tabella 6.2: Impostazioni della function *Normalise: Estimate & Write* per la normalizzazione in SPM



Figura 6.3: Esempio di estrazione del cervello fallita con il BET: è ancora presente il collo.

il prefisso *w*, è stata salvata anche, per ciascun soggetto, un file **sn.mat*, contenente, al suo interno, la matrice Affine, contenente le informazioni di roto-traslazione stimate per effettuare la normalizzazione.

6.3 Segmentazione SPM

A questo punto è stata eseguita la segmentazione SPM con la function *Segment* con opzioni tutte di default inserendo in input le immagini da segmentare, precedentemente normalizzate. In questo studio si è interessati alla segmentazione della GM, pertanto è necessario impostare il parametro *Grey matter* al valore *Native Space*; se non si è interessati a salvare le mappe probabilistiche delle altre classi di segmentazione, è sufficiente impostare il valore a *None*. Nella directory vengono salvate, per ciascun volume, 3 immagini, una contenente la probabilità per la materia grigia, con prefisso *c1*, una contenente la probabilità per la materia bianca, con prefisso *c2*, e una contenente l'immagine corretta per il bias del campo magnetico, con prefisso *m*.

Parametro	Valore impostato
Data	immagine di partenza da segmentare
Output Files	
Grey Matter	Native Space
White Matter	Native Space
Cerebro-Spinal Fluid	None
Bias Corrected	Save Bias Corrected
Clean up any partitions	Don't do clean up
Custom	
Tissue probability maps	3 files
Gaussians per class	[2 2 2 4]
Affine Regularisation	ICBM space template - European brains
Warping Regularisation	1
Warp Frequency Cutoff	25
Bias regularisation	0.0001
Bias FWHM	60 mm cutoff
Sampling distance	3
Masking image	—

Tabella 6.3: Impostazioni della function *Segment* per la normalizzazione in SPM

Le mappe di probabilità contengono, per ogni voxel, la probabilità che questo appartenga alla rispettiva classe di segmentazione dell'immagine, con valori compresi tra 0 (nessuna probabilità di appartenere a quella classe) e 1 (massima probabilità di appartenere). Da queste si effettuerà una successiva sogliaatura, ovvero vengono considerati voxel appartenenti ad una determinata classe quelli con probabilità maggiore o uguale della soglia, cosicché da eliminare voxel con bassa probabilità.

6.4 Segmentazione FSL

Per quanto riguarda la segmentazione FSL a partire dalle immagini già normalizzate con SPM, sono stati eseguiti due script in due momenti successivi, uno che applica l'algoritmo BET per l'estrazione del cervello, e uno che applica l'algoritmo FAST, vero e proprio algoritmo di segmentazione. Per il BET, la command line utilizzata con le impostazioni di default, è:

```
<path della function bet> <path dell'immagine originale> <path  
dell'immagine descalpata> -f 0.5 -g 0
```

Le immagini descalpate risultanti sono salvate in formato nifty compresso (.nii.gz).

Successivamente viene applicato l'algoritmo FAST di segmentazione passando in input le immagini precedentemente descalpate e specificando di voler ottenere in uscita le mappe probabilistiche (opzione -p). Infatti, di default, il FAST restituisce mappe *partial volume*, ovvero, per ciascuna classe, la frazione di volume del voxel che appartiene a quella classe; in questo studio invece si vogliono ottenere delle mappe in cui ogni voxel rappresenta la probabilità di appartenere o meno a quella classe, in accordo con le mappe di uscita di SPM. La command line utilizzata è:

```
<path della function fast> -t 1 -n 3 -H 0.1 -I 4 -l 20.0 -p -o <path  
dell'immagine segmentata> <path dell'immagine descalpata>
```

Tra i vari file ottenuti, vengono utilizzati per l'elaborazione i file denominati con il suffisso **_prob_1.nii.gz*, contenenti le mappe di probabilità della materia grigia.

6.5 Normalizzazione inversa

Infine le immagini segmentate sono state riportate nello spazio originale. Per effettuare quest'operazione non è sufficiente l'inversione della matrice *Affine*, contenuta nei file *.mat*, dove sono salvate le informazioni della roto-traslazione del volume effettuate durante la normalizzazione. Questo perchè il processo di normalizzazione, in SPM non è lineare e la normalizzazione non corrisponde a una funzione biunivoca per ogni voxel dell'immagine; pertanto la normalizzazione inversa è un problema *mal posto*, ovvero un punto dell'immagine originale potrebbe corrispondere a più punti dell'immagine normalizzata. Il motivo di questa non linearità è dovuta all'utilizzo di regolarizzazioni basate sulla massimizzazione dello smooth delle deformazioni nell'immagine e di funzioni non lineari nel processo che hanno lo scopo di ridurre il numero di parametri da stimare e, di conseguenza, velocizzare l'algoritmo, ma che producono delle deformazioni nell'immagine che non possono essere invertite a partire dalla sola conoscenza dei parametri. Quindi, anche se si invertisse la matrice *Affine*, operazione sempre possibile e peraltro corretta dal punto di vista teorico se la normalizzazione fosse lineare, e si applicasse questa matrice di trasformazione all'immagine normalizzata, non si otterrebbe l'immagine originale corrispondente.

Per ottenere la normalizzazione inversa, SPM offre un toolbox, chiamato *Deformation*, all'interno del menù *Util*. Nell'utilizzo di questo toolbox, anche in questo caso sono state riempite solamente le opzioni di interesse, mentre tutte le altre voci sono state lasciate con i valori di default (vedi tabella 6.4).

I file in uscita (con prefisso *w**) sono le segmentazioni calcolate con SPM e FSL riportate nello spazio originale; si possono quindi confrontare con le segmentazioni di riferimento.

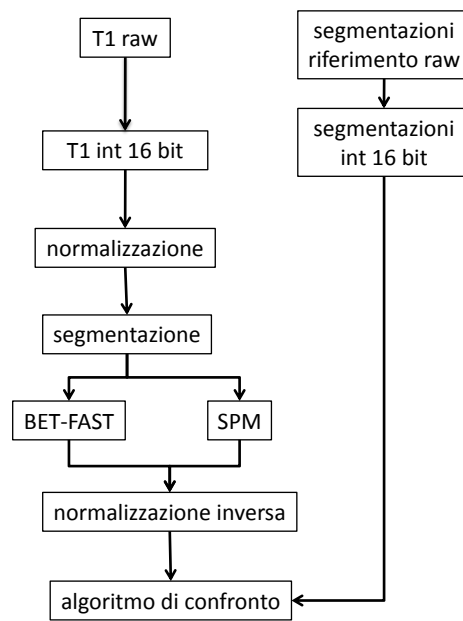


Figura 6.4: Pipeline utilizzata per il dataset 1

Parametro	Valore impostato
Composition	Inverse
Composition	Imported <i>_sn.mat</i>
Parameter File	file <i>*_sn.mat</i> in cui all'interno sono presenti i parametri della normalizzazione diretta da invertire
Voxel sizes	[NaN NaN NaN]
Bounding box	2x3 double
Image to base inverse on	immagine T1 non normalizzata di partenza
Save as	vuoto
Apply to	file contenenti le segmentazioni di SPM (<i>c1w*</i>) e FSL(<i>*_prob.1.nii</i>) su cui applicare la normalizzazione inversa
Output destination	current directory
Interpolation	trilinear

Tabella 6.4: Impostazioni della function *Deformation* per la normalizzazione inversa in SPM

6.6 Analisi dei risultati

Dalle mappe di probabilità ottenute è stata considerata per questo studio solamente la segmentazione della materia grigia ed è stata applicata una soglia al 50%. L'elaborazione sui dati spiegata di seguito è stata applicata alle segmentazioni di entrambi gli algoritmi.

Utilizzando la segmentazione di riferimento, sono stati calcolati i seguenti valori (vedi fig 6.5):

Veri Positivi - VP = voxel considerati appartenenti alla materia grigia sia nella segmentazione di riferimento, sia in quella calcolata.

Falsi Positivi - FP = voxel considerati appartenenti alla materia grigia ma non considerati tali nella segmentazione di riferimento

Falsi Negativi - FN = voxel esclusi dalla materia grigia ma considerati come appartenenti alla materia grigia nel riferimento

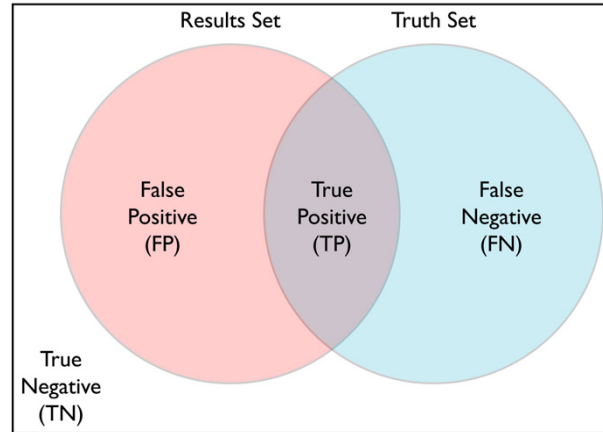


Figura 6.5: Insiemi per la valutazione delle performance dell'algoritmo. In rosa, i voxel considerati GM dall'algoritmo, mentre in azzurro i voxel di GM nei riferimenti; la loro intersezione corrisponde ai VP. Per VN sono stati anche considerati tutti i voxel esterni al cervello

Veri Negativi - VN = voxel esclusi dalla materia grigia sia dalle segmentazione calcolate, sia da quella di riferimento, considerando tali tutti i voxel attorno al cervello (scalpo e background).

		algoritmo di segmentazione	
		non GM	GM
riferimento	non GM	VN	FP
	GM	FN	VP

Tabella 6.5: Tabelle della valutazione delle performance dell'algoritmo di segmentazione.

Idealmente potremmo dividere i dati in due insiemi che si intersecano: il primo insieme contiene tutti i voxel considerati materia grigia dagli algoritmi (VP e FP, insieme rosa nella figura 6.5), mentre il secondo tutti i voxel considerati grigia dal riferimento (VP e FN, insieme azzurro nella figura 6.5); gli insiemi si intersecano nei VP. A questo punto è possibile calcolare i seguenti indici:

- La **sensitività** è definita come il numero di VP su tutti i voxel che appartengono al secondo insieme (quindi VP e FN). Più la sensitività è

alta e più è sensibile l'algoritmo a riconoscere i voxel appartenenti alla materia grigia.

$$\text{sensitività} = \frac{VP}{VP + FN} \quad (6.1)$$

- La **specificità** è definita come il numero di VN su tutti i voxel che appartengono al primo insieme (quindi VN è FP). Più la specificità è alta e più l'algoritmo è selettivo a considerare i voxel appartenenti alla grigia.

$$\text{specificità} = \frac{VN}{VN + FP} \quad (6.2)$$

- **Jaccard Similarity Metric** è un coefficiente che esprime il rapporto tra l'intersezione dei due insiemi (quindi i VP) sulla loro unione (quindi VP+FN+FP).

$$\text{Jaccard Similarity Metric} = \frac{VP}{VP + FN + FP} \quad (6.3)$$

- **Dice coefficient** è un coefficiente che esprime il rapporto tra l'intersezione dei due insiemi (VP) sulla media della loro somma ($\frac{1}{2}[(VP + FP) + (VP + FN)]$).

$$\text{Dice Coefficient} = \frac{2VP}{2VP + FN + FP} \quad (6.4)$$

Se le segmentazioni di SPM e FSL si avvicinano molto a quelle date come riferimento, allora avremmo una sensitività, specificità, JSM e DICE attorno a un valore 1 o, in termini percentuali, 100%.

Attraverso l'analisi dei risultati, si possono fare due confronti separati: si possono confrontare le segmentazioni dei due algoritmi e le segmentazioni di riferimento, per poter stabilire quale dei due algoritmi è *migliore*, ovvero si avvicina ai risultati attesi; oppure si possono confrontare, in maniera diretta, i due algoritmi tra di loro, valutando le differenze in termini di performance.

sogg n°	sensitività SPM	sensitività FSL	specificità SPM	specificità FSL
1	72.3357	66.8569	99.2833	99.6072
2	75.8666	63.6390	99.0356	99.6621
3	71.1903	65.2984	98.9384	99.4751
4	71.8761	64.1995	99.2809	99.6840
5	73.1734	66.0286	98.9987	99.5609
6	72.8184	67.2917	98.8989	99.5069
7	70.0849	61.1616	99.4052	99.7261
8	76.0695	69.6335	98.8781	99.4930
9	60.5213	51.8766	99.4577	99.6201
10	63.7693	54.5858	99.4962	99.6806
11	65.8496	57.4480	99.4635	99.6853
12	70.7565	63.0650	99.2425	99.5889
13	75.2350	65.4226	98.9732	99.6271
14	73.2651	65.2322	99.0841	99.5505
15	67.3045	55.6154	99.3339	99.6268
16	69.0657	57.5903	99.3631	99.6628
19	69.1396	57.5453	99.3056	99.6376
20	66.9878	57.4207	99.2760	99.5030
Media	74.1012	65.2479	99.1595	99.6346
SD	± 2.4968	± 2.2754	± 0.1751	± 0.0388

Tabella 6.6: Sensitività e Specificità per le segmentazioni SPM e FSL per ciascun soggetto, con sotto i valori medi e standard deviation. Nota: i valori sono espressi in % e non sono stati calcolati per i sogg. n° 17 e 18.

Per quanto riguarda il primo confronto, il valore medio $\pm$ la deviazione standard della sensibilità e specificità si avvicinano molto ai valori ottenuti da uno studio analogo [28], per tutti e due gli algoritmi. Il valore della specificità, molto alto e molto preciso (deviazione standard molto piccola), è considerato positivo, se si tiene conto che le immagini MR del data-set non sono di alta qualità (sono rumorose e lo spessore di 3.0 mm per ogni slice è abbastanza elevato se confrontato con i valori medi 1.0 - 1.5 mm di un volume MR).

Pertanto i due algoritmi segmentano in maniera corretta i dati, sembrano affidabili, con un basso numero di falsi positivi e negativi. Confrontando il numero di voxel considerati materia grigia, però, risulta che i due algoritmi sono entrambi più conservativi rispetto al riferimento, perchè includono meno voxel. I voxel esclusi si riferiscono in particolare alla zona media del cervello, intorno ai ventricoli e nella zona del cervelletto e dei seni nasali, zone dove la segmentazione manuale indicava queste zone come materia grigia. Questo spiegherebbe anche un valore della sensibilità molto più basso rispetto alla specificità, sia per SPM che per FSL.

Per il secondo tipo di analisi, invece, si può osservare una leggera differenza di elaborazione dei due algoritmi, scaturita dai diversi presupposti matematici su cui si basa la segmentazione.

Sono stati creati gli istogrammi delle probabilità relative alle segmentazioni con SPM e FSL (vedi fig. 6.8 e fig. 6.9 per un soggetto), scartando i voxel con valore uguale a zero. Gli istogrammi sono quasi simmetrici, ovvero sono molto di più i voxel con probabilità prossima a 0 e 1 piuttosto che quelli collocati a probabilità intermedia. Ciò rappresenta un buon comportamento di questi algoritmi, in quanto il numero di voxel incerti a cui attribuire o meno l'appartenenza alla materia grigia è molto piccolo rispetto a quelli a cui viene assegnata una probabilità prossima a 1 o 0.

Dal confronto, si può notare però che nelle mappe FSL il numero di voxel attorno al valore 0 è molto più alto rispetto a SPM (14×10^4 e 4×10^4), e il valore massimo della prima è attorno a 0.95, mentre in SPM si arriva facilmente a 1 per un gran numero di voxel.

Analizzando la sensibilità, questa risulta più alta per SPM di circa un 10%, mentre la specificità risulta pressochè uguale. Prendendo in considerazione,

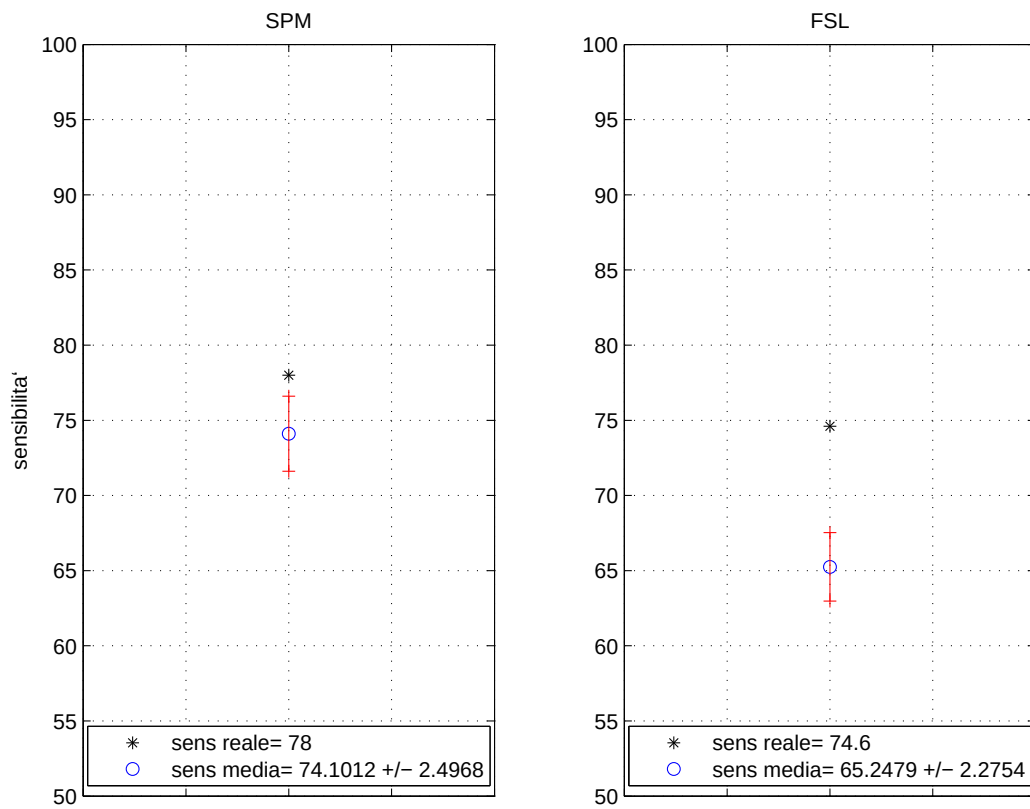


Figura 6.6: Dataset 1: sensibilità media con bande di confidenza e valore di riferimento per SPM e FSL [28]

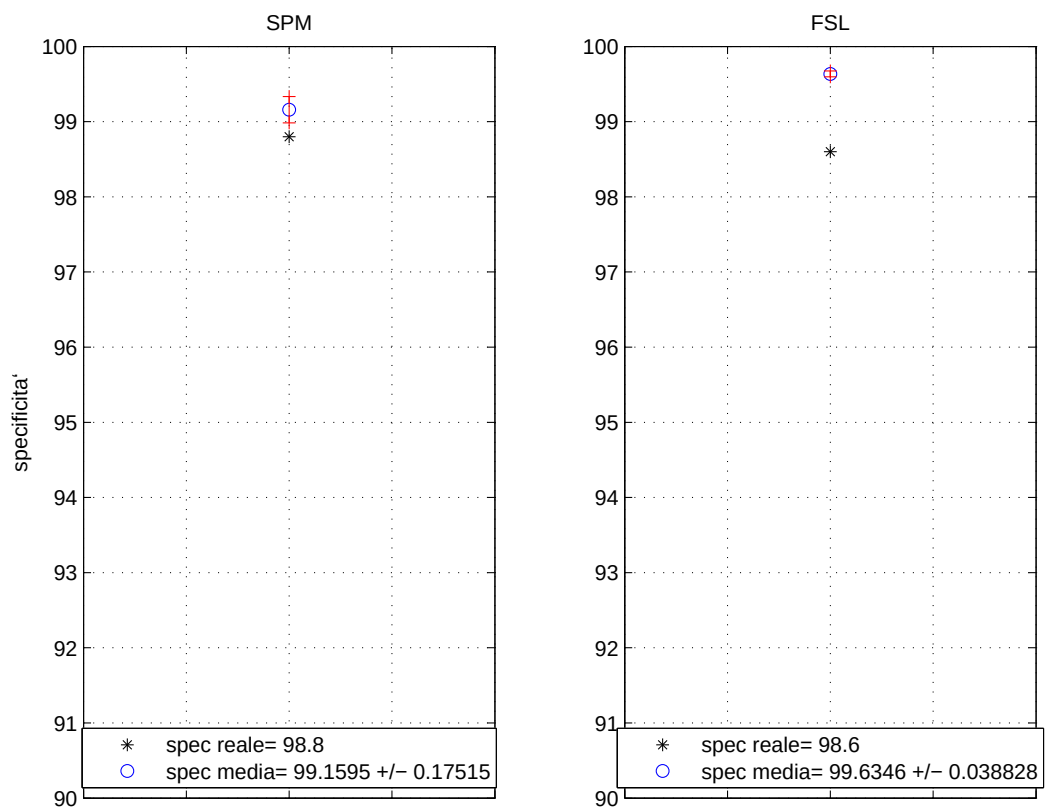


Figura 6.7: Dataset 1: specificità media con bande di confidenza e valore di riferimento per SPM e FSL [28]

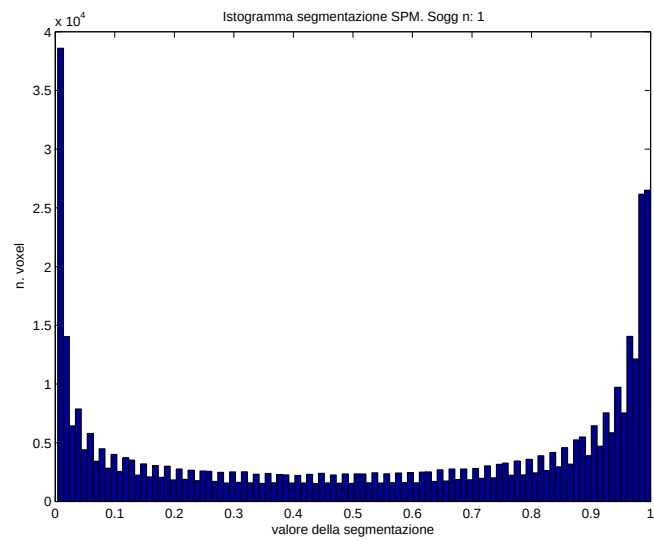


Figura 6.8: Dataset 1: Istogramma della segmentazione SPM del sogg. n. 1

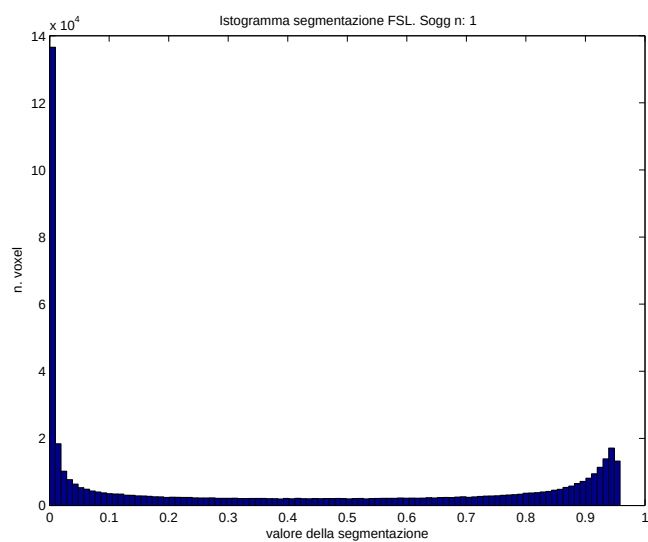


Figura 6.9: Dataset 1: Istogramma della segmentazione FSL del sogg. n. 1

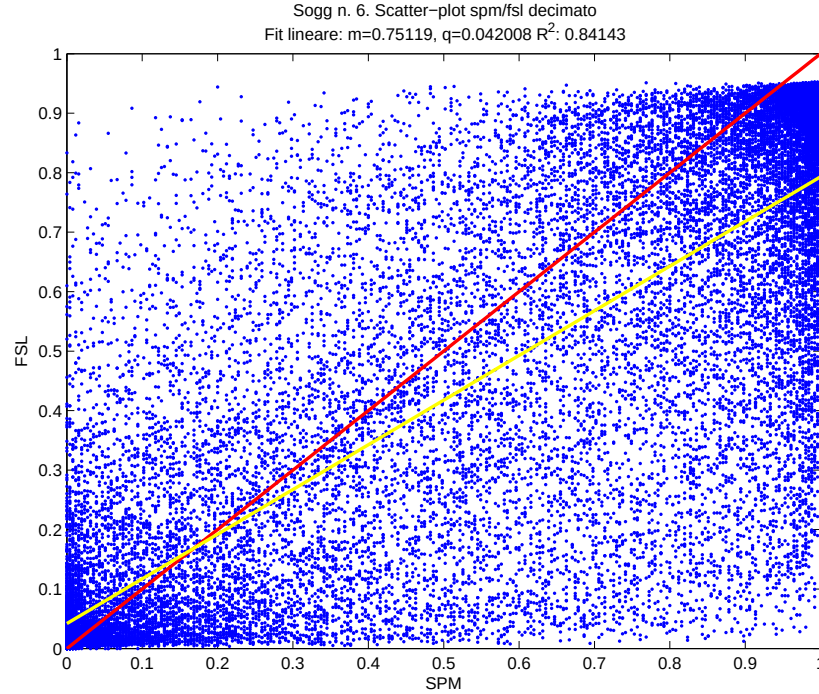


Figura 6.10: Dataset 1: scatter-plot decimato del soggetto n.6, peggiore tra tutti i soggetti. La linea rossa è la diagonale e rappresenta l'uguaglianza tra i due algoritmi. La linea gialla è la retta interpolante i dati.

inoltre, il numero di voxel elaborati dai due algoritmi, SPM considera un numero di voxel maggiore rispetto a FSL, su tutti i soggetti: l'algoritmo di FSL risulta quindi più conservativo e meno sensibile tra i due. Gli indici JSM e Dice rispecchiano i valori della sensibilità, più alta per SPM. Gli scatter-plot rappresentano in che modo la probabilità (diversa da 0) venga assegnata diversamente dai due algoritmi, per ciascun voxel del volume segmentato: se questi concordano, allora i valori si disporranno lungo la diagonale. A causa dell'alto numero di dati, gli scatter-plot sono stati decimati così da permettere una migliore visualizzazione. Si nota, su quasi tutti i soggetti, una nuvola di punti nell'angolo in basso a sinistra e nell'angolo in alto a destra. Questo fatto concorda con gli istogrammi dei valori di probabilità dei due algoritmi: il numero di voxel aumenta man mano che ci avviciniamo al valore 1 e 0 e si ha un minimo attorno alla probabilità 0.5.

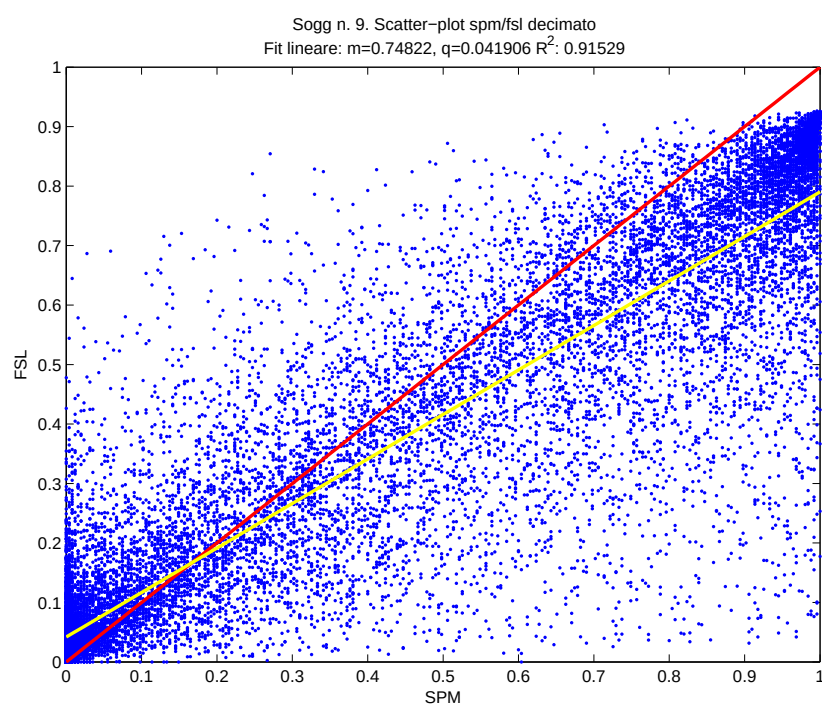


Figura 6.11: Dataset 1: scatter-plot decimato del soggetto n. 9, migliore tra tutti i soggetti. La linea rossa è la diagonale e rappresenta l'uguaglianza tra i due algoritmi. La linea gialla è la retta interpolante i dati.

Per ogni scatter-plot sono stati calcolati i coefficienti angolari e l'intercetta per ciascuna retta che interpola tutti i dati e la correlazione tra le due segmentazioni, la cui media su tutti i soggetti è di 0.89, valore che un'alta correlazione tra le mappe probabilistiche dei due algoritmi.

Infine, si è variata la soglia di segmentazione da 0.5 fino ad 1, cercando la soglia ottima a cui corrispondevano i risultati migliori. Come ci si aspettava, aumentando la soglia diminuisce il numero di voxel appartenenti alla materia grigia, aumentano quindi il numero di FN e diminuiscono i FP; si ha quindi un aumento della specificità e una diminuzione della sensibilità. Dalla definizione dei coefficienti JSM e Dice, con la riduzione del numero di FP si ha una diminuzione di questi. Scegliendo un compromesso tra alta sensibilità e specificità, come soglia ottima è stata scelta la soglia iniziale di 0.5 (utilizzata spesso come standard in letteratura) sulle mappe probabilistiche di entrambi gli algoritmi, visto che in entrambi è stato riscontrato lo stesso comportamento.

6.7 Data-set 2

Il data-set contiene 18 immagini MR T1 pesate di altrettanti soggetti normali, in formato analyze. Come per il data-set precedente, i volumi sono stati precedentemente normalizzati solamente attraverso rotazioni utilizzando l'atlante di Talairach e sono stati elaborati per la correzione del bias field dall'algoritmo CMA autoseg.

Il formato delle immagini è di 256x256 per ciascuna delle 128 slice, orientate lungo il piano sagittale. La risoluzione delle immagini è migliore del precedente data-set ed è diversa per ogni soggetto (vedi tab. 6.8).

La segmentazione di riferimento è stata ottenuta dalla "general segmentation" delle principali strutture della materia bianca e grigia. E' inoltre presente la consueta segmentazione "trinaria", costituita da background, liquido cerebrospinale, materia bianca e materia grigia.

Per questo data-set, la segmentazione con SPM e FSL è andata a buon fine per quasi tutti i soggetti. Per quelli in cui sono stati riscontrati problemi

sogg n°	coeff angolare [m]	intercetta [q]	correlazione [R^2]
1	0.8593	0.0032	0.9205
2	0.7338	0.0173	0.8390
3	0.7778	0.0265	0.8781
4	0.7917	0.0163	0.8854
5	0.8091	0.0112	0.8990
6	0.7512	0.0420	0.8414
7	0.7764	0.0113	0.8997
8	0.8077	0.0140	0.8882
9	0.7482	0.0419	0.9153
10	0.7573	0.0281	0.9004
11	0.7669	0.0269	0.8932
12	0.8495	-0.0119	0.9465
13	0.7885	-0.0036	0.8988
14	0.8412	-0.0115	0.9404
15	0.7215	0.0246	0.8622
16	0.7390	0.0205	0.8654
19	0.7804	-0.0004	0.8976
20	0.8151	0.0004	0.9259
Media	0.7966	0.0103	0.8808
SD	± 0.0888	± 0.0100	± 0.0576

Tabella 6.7: Dataset 1: coefficiente angolare, intercetta e coefficiente di Correlazione relativi ai scatter-plot SPM-FSL per ogni soggetto, con valori medi e standard deviation. Nota: non sono stati elaborati i sogg n° 17 e 18.

sogg	X	Y	Slice
1	0.93750	0.93750	1.5
2	0.93750	0.93750	1.5
3	0.93750	0.93750	1.5
4	0.93750	0.93750	1.5
5	0.93750	0.93750	1.5
6	0.93750	0.93750	1.5
7	1.0	1.0	1.5
8	1.0	1.0	1.5
9	1.0	1.0	1.5
10	1.0	1.0	1.5
11	1.0	1.0	1.5
12	1.0	1.0	1.5
13	0.93750	0.93750	1.5
14	0.93750	0.93750	1.5
15	0.83705	0.83705	1.5
16	0.83705	0.83705	1.5
17	0.83705	0.83705	1.5
18	0.83705	0.83705	1.5

Tabella 6.8: Dataset 2: Risoluzione delle immagini MR T1 di partenza lungo le tre dimensioni.

analoghi al precedente data-set (in particolare sogg. n° 5 - 7 - 10 - 12 - 18), è stata eseguita una normalizzazione all'atlante ICBM (vedi 6.2), successivamente è stata effettuata la segmentazione con SPM e FSL dei volumi normalizzati (6.3 e 6.4), e infine la normalizzazione inversa per riportare i soggetti nello spazio d'origine (6.5); per ogni passaggio le opzioni utilizzate sono state tutte di default (vedi paragrafi precedenti) tranne che per le dimensioni dei voxel nella normalizzazione, settate per questi 5 soggetti tutti a 1 mm x 1 mm x 1.5 mm ragionevolmente con la risoluzione delle immagini di partenza. Mentre nella normalizzazione inversa, come voxel size si è selezionato NaN, indicando all'algoritmo di selezionare in automatico la risoluzione in base al volume di riferimento specificato nella voce "image to base inverse on", ovvero la risoluzione delle immagini T1 pesate di partenza.

6.8 Analisi dei risultati

A differenza di quanto effettuato per il data-set 1, per questo data set non è stato pubblicato alcun articolo scientifico su cui confrontare i risultati ottenuti. Si è pensato quindi di considerare accettabili i riferimenti dell'articolo precedente per quanto riguarda la sensibilità e specificità.

Alle mappe di probabilità della segmentazione di SPM e FSL è stata applicata una soglia iniziale al 50%. Le sensibilità sono inferiori rispetto al precedente data-set, di modulo più alto quella di SPM, mentre le specificità restano molto alte, per entrambi gli algoritmi. I valori della sensibilità per FSL sono più sparsi rispetto a SPM, e questo porta ad un valore molto più alto della standard deviation (4.95 contro 0.37). Sembra quindi che l'algoritmo di segmentazione SPM sia più sensibile ed anche più specifico.

Le medie dei coefficienti Dice e Jaccard sono pressochè uguali al data-set 1 e considerando anche le bande di confidenza, rispecchiano a pieno i riferimenti dati dall'articolo.

Passando al confronto tra i due algoritmi SPM-FSL, anche in questo caso SPM considera un numero di voxel di poco maggiore rispetto a FSL, ma comunque entrambi (seppur di poco) inferiori al numero di voxel della

sogg n°	sensitività SPM	sensitività FSL	specificità SPM	specificità FSL
1	70.7313	60.0059	99.4343	99.6440
2	71.2597	67.0003	99.1718	99.3630
3	78.5047	66.0523	99.2412	99.7890
4	83.0747	64.0001	98.5723	99.7891
5	67.7460	67.3765	98.9283	99.5526
6	74.4376	67.4383	99.4492	99.5577
7	64.6801	62.5968	99.3231	99.2853
8	68.7826	62.7603	99.5010	99.5196
9	71.7368	63.0392	99.2029	98.9405
10	71.4983	60.4845	99.3205	98.8451
11	74.1662	63.9210	99.5339	99.2668
12	75.2620	59.1956	97.6637	99.2723
13	78.6313	62.8312	99.5122	99.7895
14	81.6758	73.4257	99.3457	99.7040
15	76.2310	72.2281	99.1047	99.5899
16	81.5390	70.0190	99.2638	99.7037
17	77.0047	67.4527	98.9120	99.6349
18	69.7523	68.8639	96.9503	99.5428
Media	70.9955	63.5031	99.3030	99.5035
SD	± 0.3737	± 4.9458	± 0.1856	± 0.1987

Tabella 6.9: Dataset 2: Sensitività e Specificità per le segmentazioni SPM e FSL per ciascun soggetto, con sotto i valori medi e standard deviation. Nota: i valori sono espressi in %.

segmentazione di riferimento (nel plot si evidenziano degli outlier in cui la differenza è più accentuata).

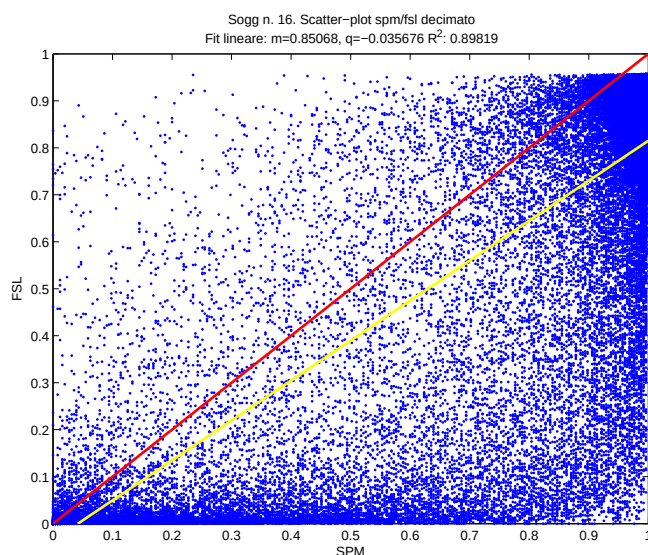


Figura 6.12: Dataset 2: Scatter-plot decimato del soggetto n. 16, migliore tra tutti i soggetti.

Gli scatter-plot ottenuti decimando i dati sembrano peggiori rispetto al data-set precedente: sebbene siano presenti le "consuete" nuvole ai due angoli, i dati sono meno allineati sulla diagonale, tant'è che su alcuni soggetti (vedi sogg 13 - 17 - 18) si ha un comportamento anomalo: si forma quasi una curva ben marcata nell'intorno di probabilità $[0.8 \ 1]$ per SPM, mentre acquistano svariati valori per FSL. Per alcuni soggetti il valore del coefficiente angolare della retta interpolante è distante dal valore 1 teorico (es. 0.4436 o 0.6724 per i sogg. n. 18 e 4) probabilmente dovuto proprio all'effetto delle nuvole spiegate precedentemente, ed anche i valori della correlazione (0.4378 e 0.7157 per i sogg. n 18 e 10), benché il valore medio di questi due ultimi parametri sia più alto rispetto al data-set precedente.

Anche in questo caso si riscontra che la probabilità di FSL non supera il valore di 0.95, mentre nelle mappe generate da SPM numerosi voxel arrivano a probabilità uguale a 1.

Come per il precedente data-set, si è provato a variare la soglia delle mappe

di probabilità di SPM e FSL tra 0.5 e 1 e si sono ottenuti gli stessi risultati spiegati precedentemente : aumentando la soglia si ha un aumento della specificità e una diminuzione della sensibilità e dei coefficienti JCM e Dice, in entrambi gli algoritmi. Si è scelto quindi un compromesso tra questi risultati, scegliendo come soglia ottima il valore di 0.5.

sogg n°	coeff angolare [m]	intercetta [q]	correlazione [R^2]
1	0.8293	-0.0084	0.8897
2	0.8816	0.0001	0.9368
3	0.7656	-0.0136	0.7972
4	0.6724	-0.0235	0.7232
5	0.7861	0.0281	0.7747
6	0.8671	-0.0006	0.9226
7	0.8897	0.0171	0.8411
8	0.8774	-0.0046	0.9094
9	0.7752	0.0383	0.8314
10	0.7223	0.0648	0.7157
11	0.7633	0.0392	0.8376
12	0.6883	-0.0311	0.6689
13	0.7800	-0.0226	0.8484
14	0.8574	-0.0208	0.9137
15	0.8604	0.0041	0.8895
16	0.8507	-0.0357	0.8982
17	0.8196	-0.0118	0.8520
18	0.4436	0.1694	0.4378
Media	0.85548	-0.0041525	0.91327
SD	± 0.03697	± 0.0059789	± 0.033277

Tabella 6.10: Dataset 2: Coefficiente angolare, intercetta e coefficiente di Correlazione relativi ai scatter-plot SPM-FSL per ogni soggetto, con valori medi e standard deviation.

Per l'algoritmo FSL, inoltre, sono state create delle mappe che visualizzano dove l'algoritmo sbaglia, generando errori di tipo FN e FP. Per ottenere queste mappe, sono stati salvati i volumi contenenti i voxel classificati come errati, per ciascun soggetto e per ciascuno dei due tipi di errori analizzati. Successivamente, utilizzando i file **_seg_sn.mat*, creati automaticamente durante il processo di segmentazione SPM, che contengono la matrice di tra-

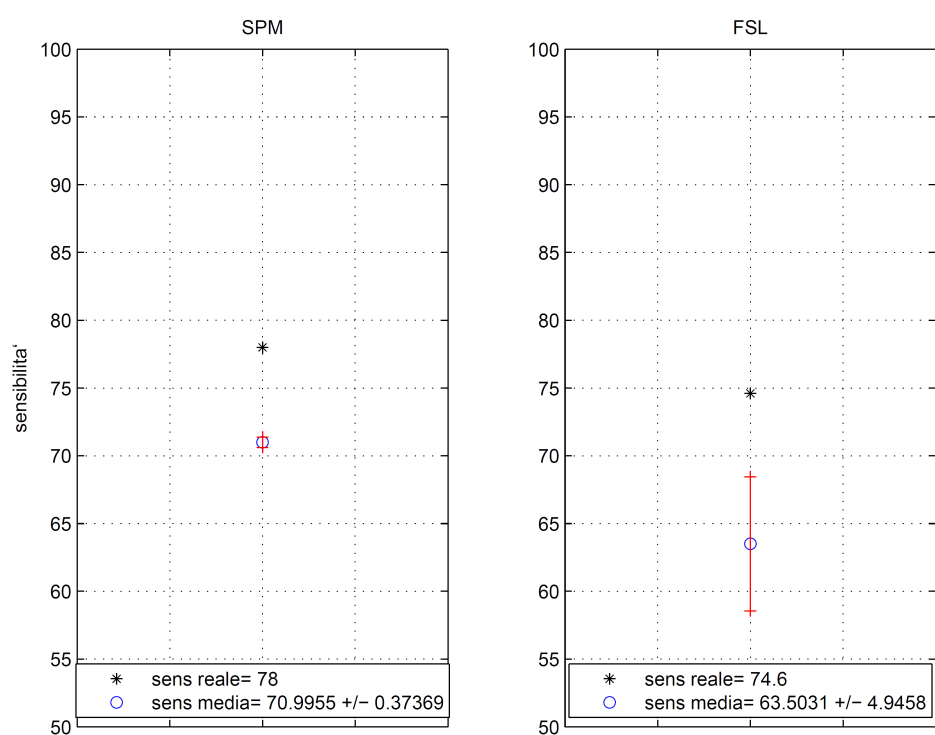


Figura 6.13: Dataset 2: sensibilità media con bande di confidenza e valore di riferimento per SPM e FSL

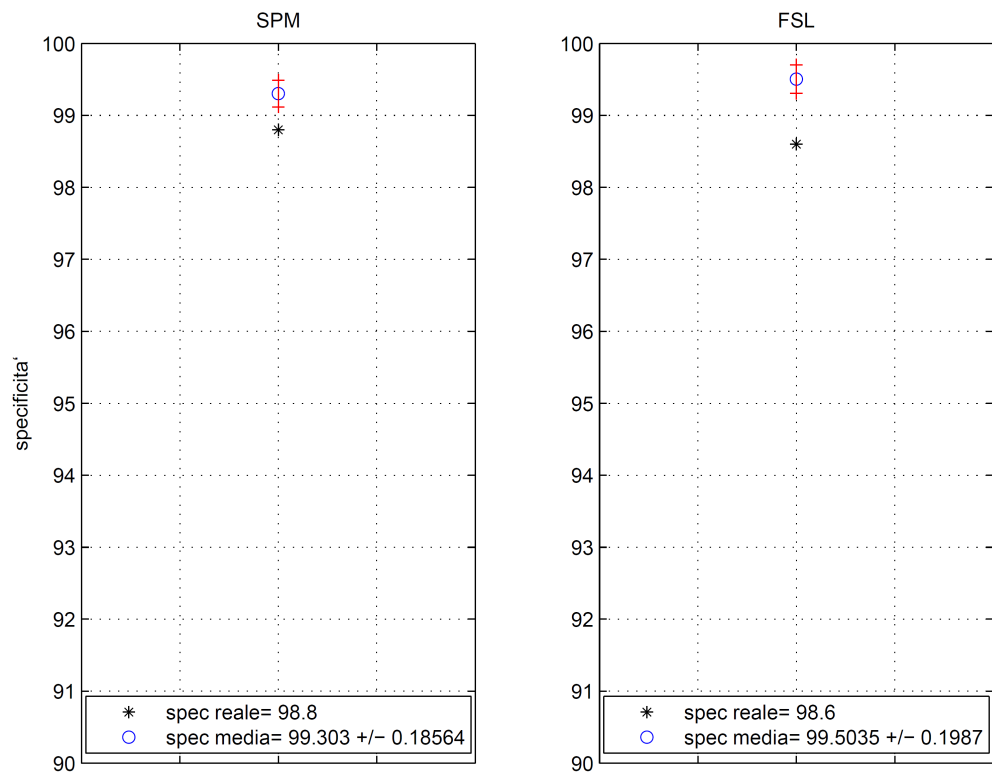


Figura 6.14: Dataset 2: specificità media con bande di confidenza e valore di riferimento per SPM e FSL

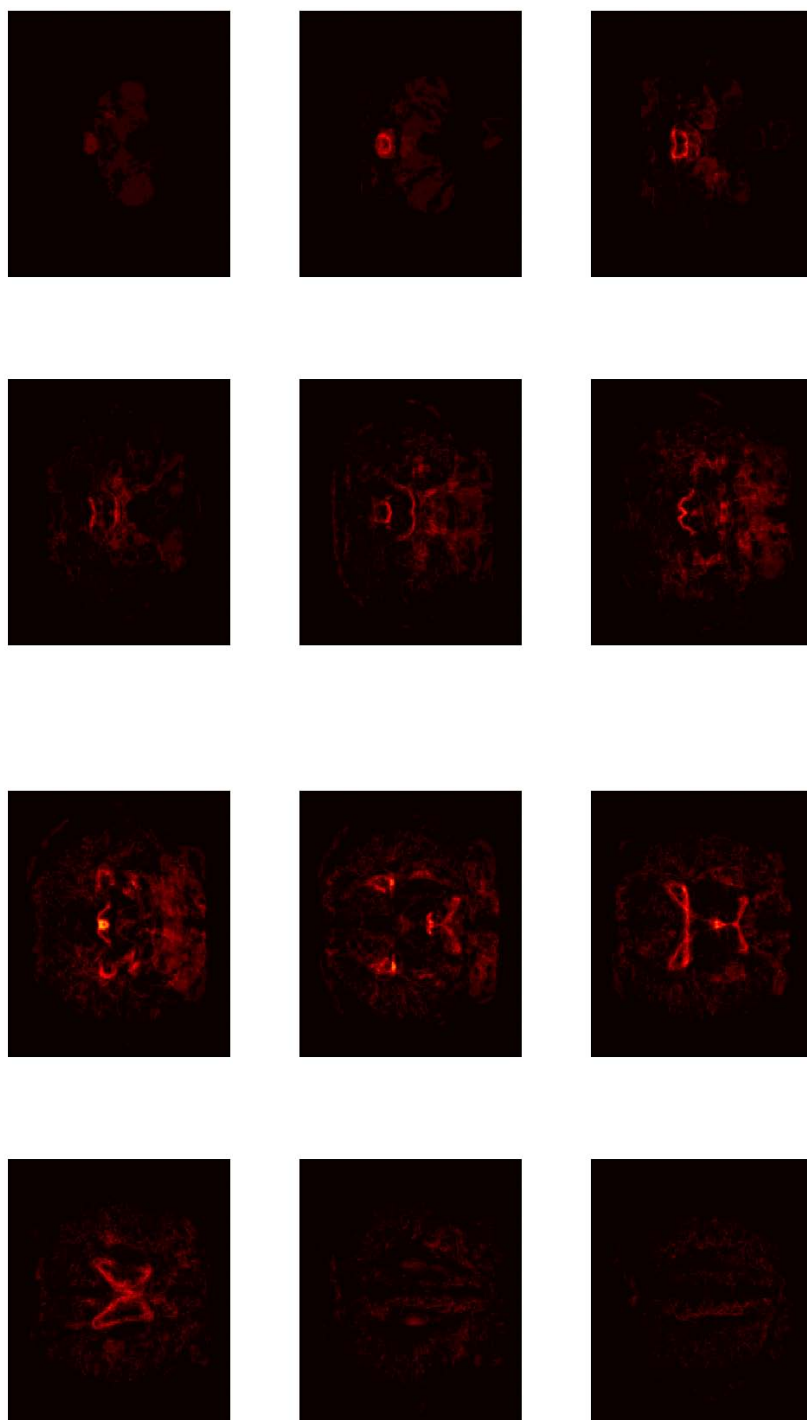


Figura 6.15: Dataset 2: 12 slice raffiguranti la somma normalizzata degli errori FP con segmentazione FSL dei 18 soggetti normalizzati all'atlante di Talairach. I valori sono compresi tra 0 (nero) e 1 (giallo).

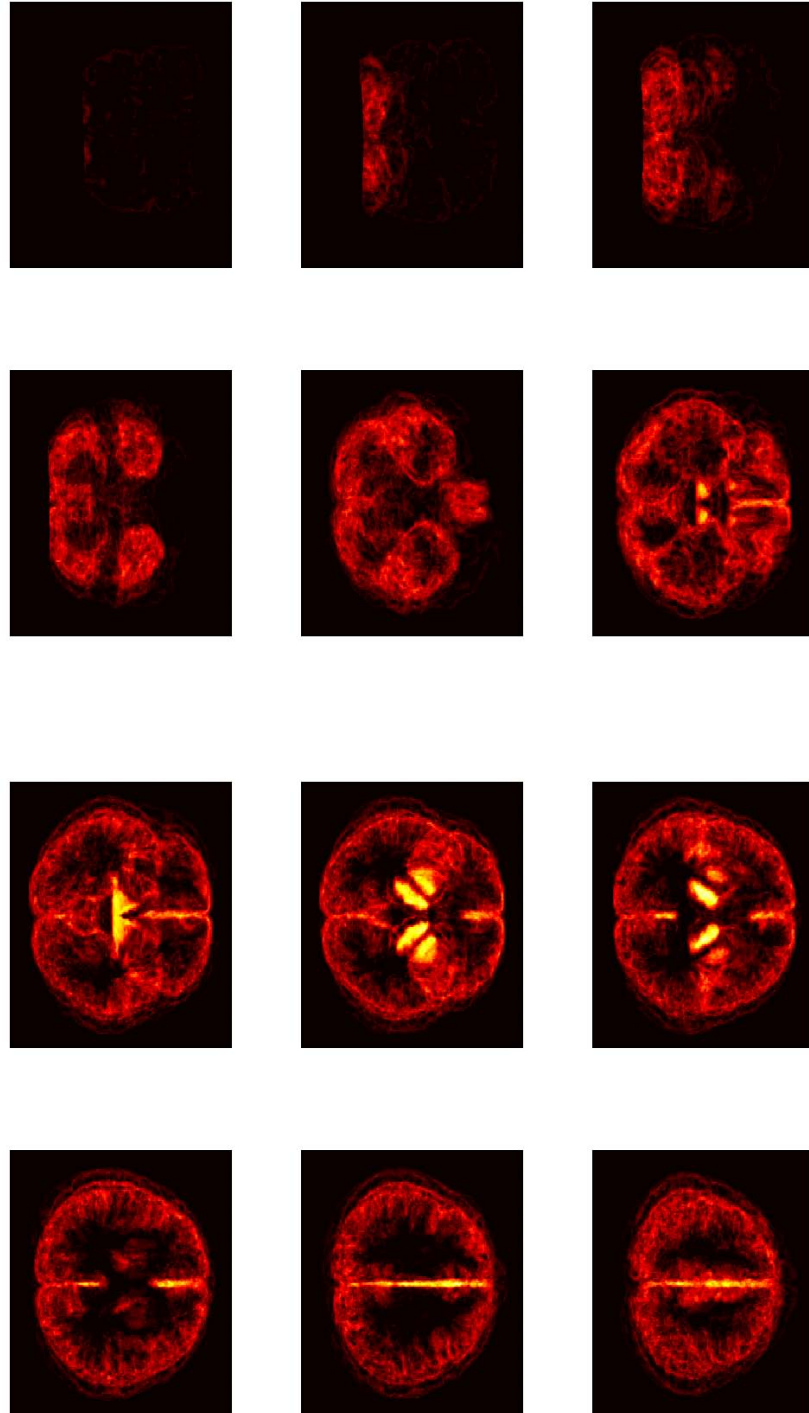


Figura 6.16: Dataset 2: 12 slice raffiguranti la somma normalizzata degli errori FN con segmentazione FSL dei 18 soggetti normalizzati all'atlante di Talairach. I valori sono compresi tra 0 (nero) e 1 (giallo).

sformazione Affine per la normalizzazione, ognuno di questi volumi è stato normalizzato all'atlante di Talairach, utilizzando la funzione di SPM *Normalize: Write*, ed inserendo il corrispondente file **_seg_sn.mat* per ciascun soggetto. Infine, i volumi sono stati sommati tra di loro e normalizzati al numero di soggetti considerati, in questo caso 18. Le mappe quindi rappresentano i voxel in cui sono stati effettuati errori di tipo FN e FP dall'algoritmo di segmentazione FSL. Appaiono evidenti zone più chiare di altre, in cui questi errori sono stati commessi per più soggetti nella medesima regione. Considerando la figura 6.8, in cui sono rappresentate solo alcune slice degli errori FP, le zone in cui l'algoritmo ha un alta frequenza di errore sono quelle attorno al corpo calloso e, in misura minore, nella zona frontale. Mentre, per quanto riguarda la figura 6.8, i colori appaiono più chiari perchè gli errori FN sono più frequenti su tutto il volume cerebrale, e in particolare risultato molto marcati nel corpo calloso e nel solco che divide i due emisferi, mentre in maniera omogenea sono presenti errori su tutto il bordo cerebrale, soprattutto per quanto riguarda le ultime slice.

6.9 Conclusione

Sono stati applicati gli algoritmi di segmentazione SPM e FSL con configurazioni di default nei due data-set IBSR e per quanto riguarda la segmentazione della GM sono state valutate le loro performance, in senso assoluto con una segmentazione di riferimento, e tra di loro.

Entrambi gli algoritmi svolgono a pieno il loro compito, si ha una piccola percentuale di errore soprattutto nella materia grigia della zona interna del cervello. Gli indici di sensibilità e specificità risultano accettabili, più alti per il secondo data-set. Il volume della segmentazione risulta leggermente inferiore, ma ad ogni modo accettabile.

Per quanto riguarda la scelta dei due algoritmi, l'algoritmo SPM presenta una migliore performance, sensibilità più alta (ma non specificità), è più accurato e di più facile ripetibilità su più soggetti. Nonostante ciò, si sono riscontrati problemi dovuti ad una difficoltà dell'algoritmo di riconoscere la posizione

iniziale del cervello nello spazio ed ad allinearlo alle mappe probabilistiche a priori utilizzate durante il suo processo, facilmente risolti normalizzando il cervello prima della segmentazione.

Nel corso di questo studio quindi, viene scelto SPM come l'algoritmo di segmentazione migliore per successive analisi, con parametri interni di default ma anche facendo le dovute variazioni su alcuni parametri di interesse.

Capitolo 7

Segmentazione di immagini DIR

Lo scopo del lavoro descritto in questo capitolo è il tentativo di segmentare le immagini MR con sequenza DIR. Come già spiegato nel capitolo 2, le immagini DIR offrono già una iniziale segmentazione, a livello hardware, della GM, annullando il segnale dei voxel appartenenti alla WM o CSF. Viene utilizzato quindi l'algoritmo di segmentazione SPM sulle immagini DIR per ottenere la segmentazione della GM oggetto di analisi e queste segmentazioni poi vengono comparate alle usuali segmentazioni utilizzando SPM con immagini T1 pesate degli stessi soggetti.

Fatto molto importante da ricordare è che l'algoritmo di segmentazione SPM viene utilizzato per la segmentazioni di immagini T1 e T2 pesate e non è stato studiato per la segmentazione delle immagini DIR; eventuali risultati negativi, quindi, devono essere interpretati anche alla luce di questo "errato utilizzo" del software.

Il motivo che porta a considerare la GM sulle immagini DIR, anziché sulle usuali immagini T1 è già stato spiegato esaurientemente: la determinazione delle lesioni nella corticale e il calcolo di ulteriori parametri, con la FA per esempio, nelle lesioni o nella GM in generale, vengono ottenute a partire da immagini DIR e la validazione di un algoritmo di segmentazione per questo

tipo di immagini risulta fondamentale.

7.1 Analisi dei dati

Grazie alla collaborazione con il dott. Calabrese e con l'Ospedale di Padova, sono stati raccolti i dati di 10 soggetti affetti da MS necessari per la realizzazione di questo lavoro. Per ciascun soggetto è stata fornita un'immagine T1 pesata, una DIR e una maschera delle lesioni generate dalla MS.

Le immagini T1 sono state ottenute con sequenza 3D-FFE, hanno una risoluzione nel piano x-y di 0.9765 mm/voxel e lungo l'asse verticale z di 1.1999 mm/voxel (spessore di ciascuna slice); ciascuna delle 120 slice del volume ha un formato di 256 x 256 pixel.

Le immagini DIR, invece, hanno la medesima risoluzione nel piano x-y delle immagini T1, mentre lungo l'asse z la risoluzione si riduce a 3.000 mm/slice, come il numero di slice (50). Le immagini DIR, pertanto, possiedono una peggior risoluzione spaziale, dovuto ad un minor numero di slice, e, attraverso un'ispezione visiva, risultano anche più rumorose.

Viene quindi descritto il procedimento adottato: utilizzando l'algoritmo SPM vengono segmentate le immagini DIR e T1, per ciascun soggetto, e successivamente vengono coregistrate le segmentazioni tra di loro. Per non introdurre errori e approssimazioni nella trasformazione, vengono coregistrate le T1 tenendo fisse le DIR, perchè le immagini T1 hanno una maggior risoluzione; se si fosse effettuata la procedura inversa, ovvero coregistrando le DIR sulle T1, durante la coregistrazione sarebbero state aggiunte delle slice alla DIR per portarla alla stessa risoluzione (più alta) della T1, introducendo errori e approssimazioni intrinseche delle interpolazioni.

7.2 Segmentazione

Per la segmentazione delle immagini T1 sono state utilizzate le impostazioni di default dell'algoritmo, come già spiegato nel paragrafo 5.3, inserendo come input *Data* le relative immagini T1 per ciascun soggetto.

Per quanto riguarda invece la segmentazione delle immagini DIR, alla luce del fatto che l'algoritmo SPM non è stato implementato per la segmentazione di questo tipo di immagini, solamente sui primi 5 soggetti sono state effettuate delle prove, oltre alla segmentazione con impostazioni di default, andando a variare il numero di Gaussiane per ciascuna classe di segmentazione (vedi teoria al paragrafo 5.3) nell'impostazione *Gaussian per class*. Il valore di default è [2 2 2 4], corrispondente a 2 Gaussiane per la GM, 2 per la WM, 2 per il CSF e 4 per tutto il resto, situate tra le varie classi o al di fuori di esse. Nelle immagini DIR, ciascuna struttura cerebrale, come la GM, per esempio, ha intensità diverse delle usuali immagini T1, pertanto si è ipotizzato che andando a variare il numero delle gaussiane, aumentando o diminuendo in modo empirico il numero per ciascuna classe, si sarebbero potute migliorare le prestazioni dell'algoritmo. I vettori delle Gaussiane utilizzati, rispettivamente per [GM WM CSF altro], sono: [2 2 2 4], [1 2 2 4], [1 1 1 4], [3 3 3 4], [1 1 1 3].

7.3 Coregistrazione

Per effettuare la coregistrazione tra la segmentazione in T1 e la segmentazione in DIR è stata utilizzata la function *Coregister: Estimate & Write* inclusa in SPM, che coregistra le immagini T1 sulle DIR e applica la stessa coregistrazione alla segmentazione della T1. Viene utilizzata con le seguenti impostazioni di default:

Parametro	Valore impostato
Reference Image	immagine che si assume stazionaria durante la coregistrazione (immagine DIR)
Image to Reslice	immagine che viene ruotata e modificata perchè corrisponda alla Reference Image (immagine T1)
Other Images	altre immagini che rimangono in allineamento alla Image to Reslice, ma che devono essere coregistrate alla Reference Image in contemporanea (segmentazione della T1)
Estimation Options	
Objective Function	Normalised Mutual Information
Separation	[4 2]
Tolerances	1x12 double
Histogram Smoothing	[7 7]
Reslice Options	
Interpolation	Trilinear
Wrapping	No wrap
Masking	Don't mask images
Filename Prefix	r

Tabella 7.1: Impostazioni della function *Coregister* per la coregistrazione delle segmentazioni T1 su DIR. I valori sono di default tranne che le immagini in input.

7.4 Analisi dei risultati

Inizialmente sono stati confrontati i risultati della segmentazione T1 e DIR in funzione del miglior set di Guassiane per la segmentazione DIR solamente nei primi 5 soggetti. Per la soglia ottima della segmentazione T1, considerata come segmentazione di riferimento per il confronto con la DIR, viene scelto un valore fisso di 0.5, mentre per la segmentazione DIR è stata utilizzata una soglia variabile tra un valore prossimo a 0, per considerare quasi tutti i voxel (0.05), e 1 con passo 0.1. Per l'analisi dei risultati sono stati calcolati gli errori FP, FN, VP, VN, il numero e la media dei voxel appartenenti alla GM, gli indici JSM e Dice, sensibilità e specificità. Innanzitutto, dall'analisi degli istogrammi delle segmentazioni (vedi esempio in fig. 7.1 e 7.2), gli andamenti variano da soggetto a soggetto, ma è possibile dire che si avvicinano molto sia al tipico istogramma di una segmentazione T1 (vedi fig. 6.8 per confronto), sia all'istogramma della segmentazione default (primo riquadro, in alto a dx), con un'alta presenza di voxel attorno ai valori 1 (certezza dell'appartenenza alla GM) e 0 (certezza della non appartenenza alla GM) e bassa presenza attorno ai valori 0.5 (soglia di incertezza della classificazione).

All'aumentare della soglia DIR, sempre meno voxel vengono inclusi come appartenenti alla GM, con un conseguente aumento della specificità e diminuzione della sensibilità, ma è stato riscontrato che l'aumento della specificità è molto esiguo rispetto all'importante diminuzione della sensibilità, per quasi tutti i set di Guassiane prese in considerazione: solamente in qualche soggetto si ha una maggior diminuzione dei valori di questi coefficienti utilizzando un numero di Guassiane pari a [1 1 1 3] e [1 1 1 4]. La soglia per cui si hanno i più alti valori di sensibilità, e valori comunque accettabili di specificità, è la soglia più bassa (0.05), in cui vengono considerati nella segmentazione praticamente tutti i voxel.

Inoltre, confrontando le differenze di sensibilità e specificità tra un soggetto e un altro, sono molto più evidenti applicando soglie alte piuttosto che basse, ovvero con soglie elevate i risultati che si ottengono sono molto più soggetto-dipendenti.

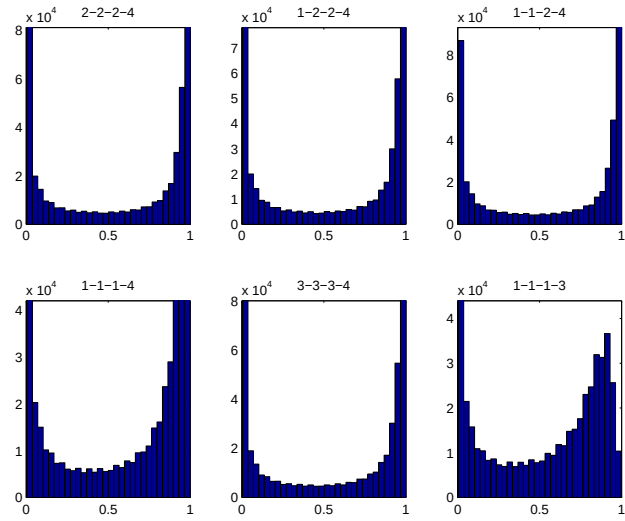


Figura 7.1: Andamento degli istogrammi al variare della probabilità dei voxel della segmentazione DIR del sogg. n° 3 con diversi set di Gaussiane. E' stato scelta un range di valori variabile per l'asse y per poter meglio visualizzare tutti i risultati.

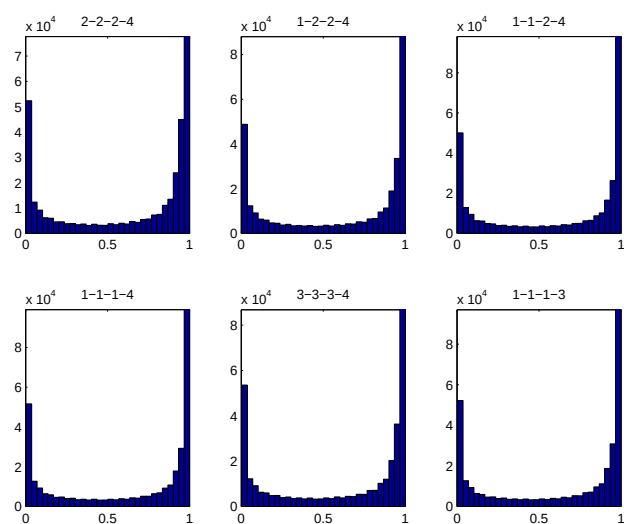


Figura 7.2: Andamento degli istogrammi al variare della probabilità dei voxel della segmentazione DIR del sogg. n° 5 con diversi set di Gaussiane. E' stato scelto un range di valori variabile per l'asse y per poter meglio visualizzare tutti i risultati.

Da notare, però, che diminuendo la soglia, vengono considerati molti più

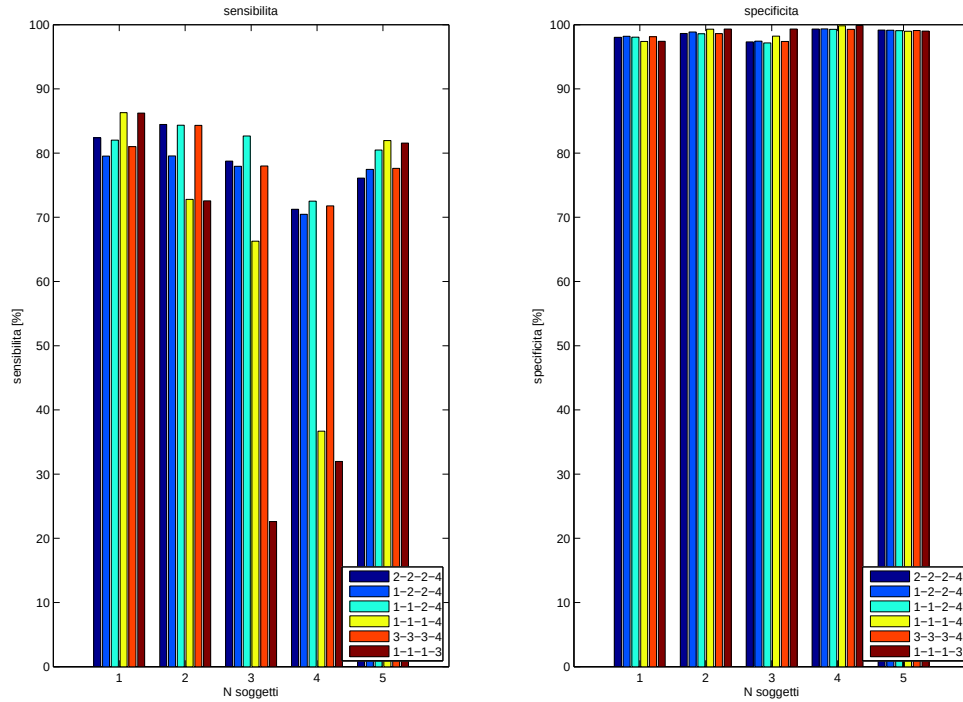


Figura 7.3: Grafico a barre della sensibilità e specificità per 5 diversi soggetti, utilizzando diversi set di Guassiane, con soglia applicata alla segmentazione DIR di 0.9

voxel rispetto alla segmentazione T1. Utilizzando come soglia 0.9, per esempio (vedi fig. 7.6), il numero dei voxel della segmentazione DIR coincide quasi esattamente con quello della segmentazione T1 e non si hanno differenze significative tra i diversi set di Gaussiane, tranne i casi con Gaussiane $[1 \ 1 \ 1 \ 3]$ e $[1 \ 1 \ 1 \ 4]$, in cui alcuni soggetti hanno un numero di voxel per la segmentazione DIR molto inferiore rispetto alla T1, mentre se si applica la soglia minima (fig. 7.5) il numero dei voxel cresce sensibilmente, diventando addirittura il doppio per qualche soggetto ($5 \cdot 10^5$ contro $2 \cdot 10^5$). Gli scatter-plot decimati non sono molto soddisfacenti (vedi fig. 7.7 per il sogg. 5), perchè sono presenti molti punti ai lati dx e sx, che corrispondono a quei voxel che nella segmentazione della DIR (asse orizzontale) sono prossimi a

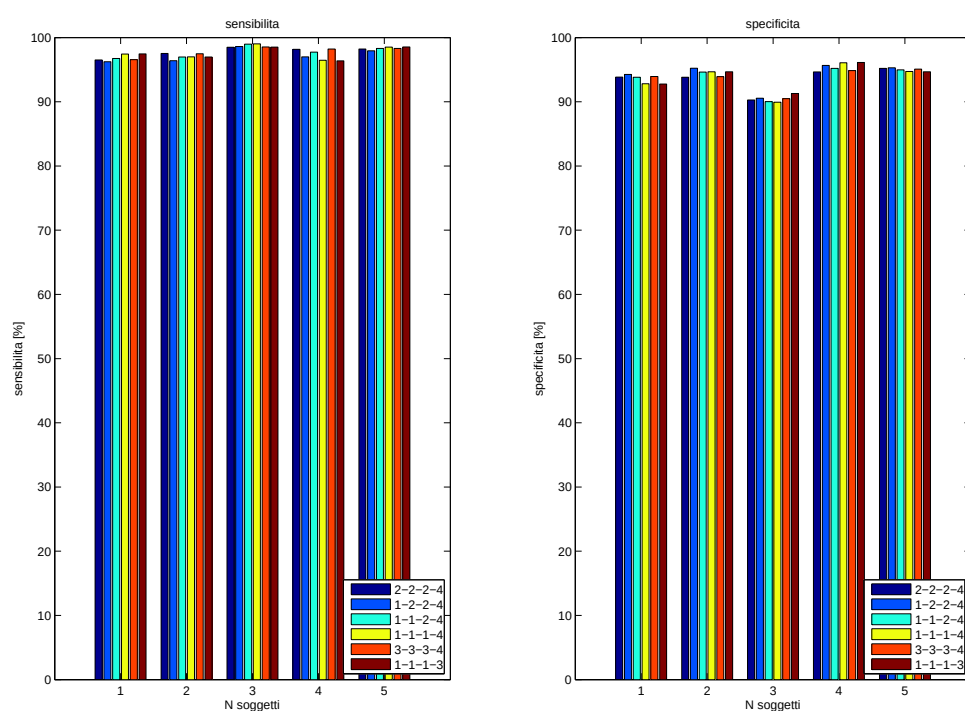


Figura 7.4: Grafico a barre della sensibilità e specificità per 5 diversi soggetti, utilizzando diversi set di Guassiane, con soglia applicata alla segmentazione DIR di 0.05.

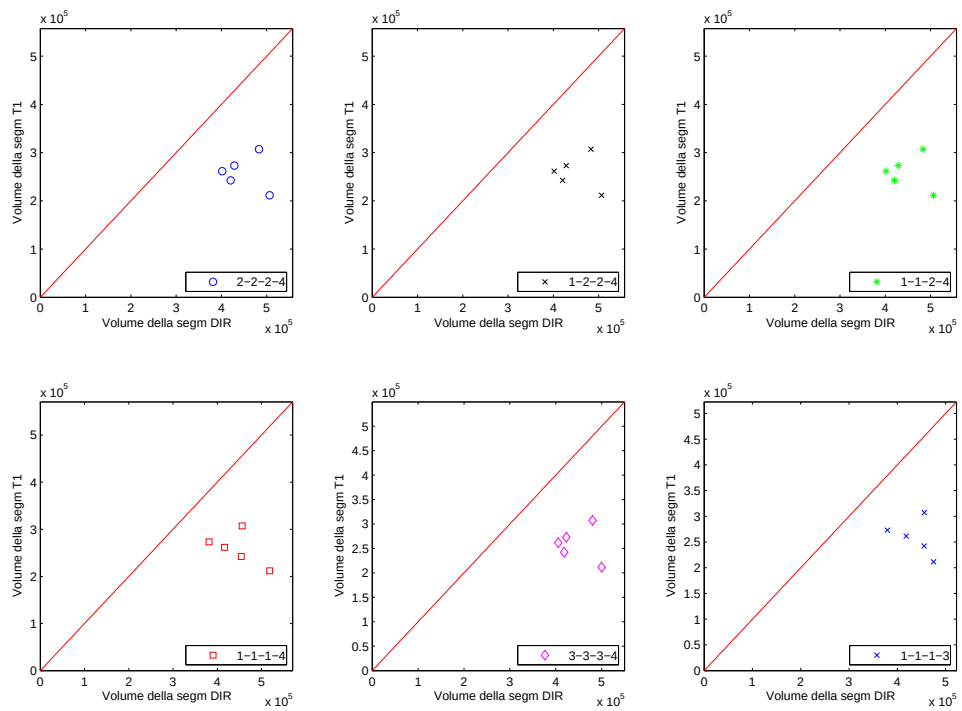


Figura 7.5: Confronto del numero di voxel inclusi nella segmentazione T1 e DIR con soglia 0.05 al variare del set di Guassiane. Ogni soggetto rappresenta un punto nei grafici.

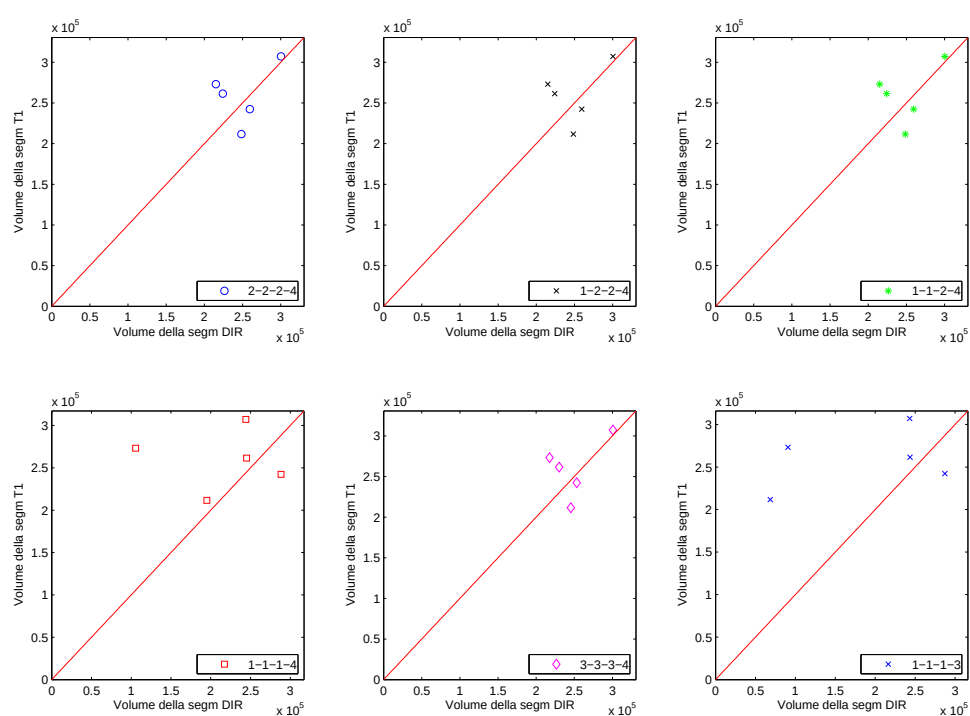


Figura 7.6: Confronto del numero di voxel inclusi nella segmentazione T1 e DIR con soglia 0.9 al variare del set di Guassiane. Ogni soggetto rappresenta un punto nei grafici.

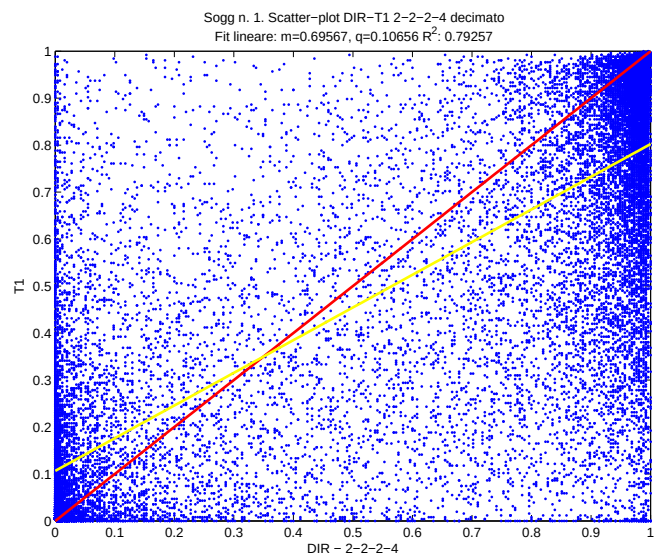


Figura 7.7: Esempio di scatter plot per il soggetto n° 5 utilizzando il numero di Gaussiane di default.

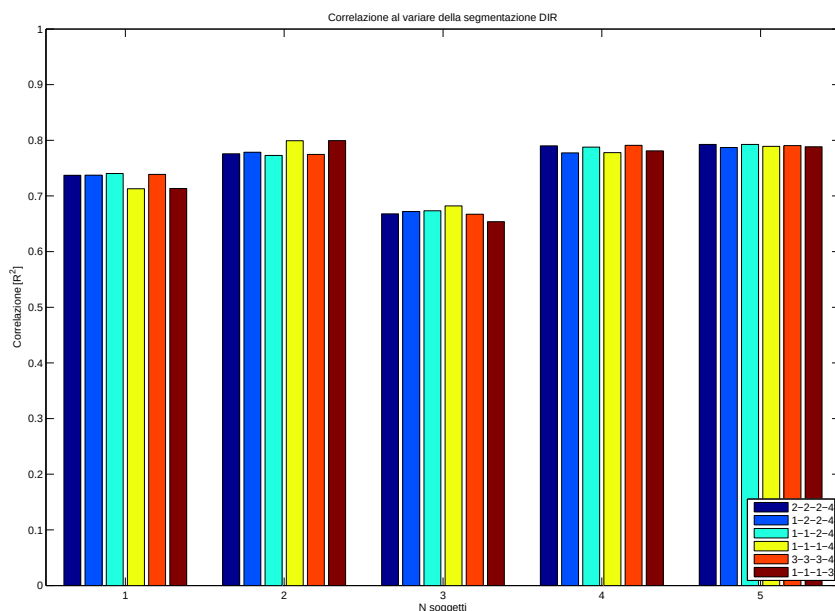


Figura 7.8: Grafico a barre della correlazione calcolata per gli scatter plot nei 5 soggetti, al variare dei set di Gaussiane.

0 o a 1, mentre nella segmentazione T1 (asse verticale) assumono svariati valori. Fatto positivo da considerare, però, è che è presente la caratteristica "nuvola" nell'angolo in alto a dx e in basso a sx e che il coefficiente di correlazione è abbastanza soddisfacente e simile per tutti i set di Gaussiane e per quasi tutti i soggetti (per il sogg. 3 è inferiore, vedi fig. 7.8). Il fatto che la correlazione per un soggetto sia significativamente diversa dagli altri soggetti, con valori tra di loro molto simili, sottolinea ulteriormente che la segmentazione delle immagini DIR è soggetto-dipendente.

Gli indici Jaccard Similarity Metric e Dice Coefficient hanno un valore abbastanza elevato e significativo se viene applicata una soglia molto elevata, per esempio 0.8, in confronto a quelli che si ottengono con la soglia minima (vedi fig. 7.6 e 7.5).

Sono presenti però dei casi anomali (per esempio nel sogg. 3 con set di Gaussiane [1 1 1 3] e [1 1 1 4]) in cui questi il valore di questi coefficienti diminuisce drasticamente.

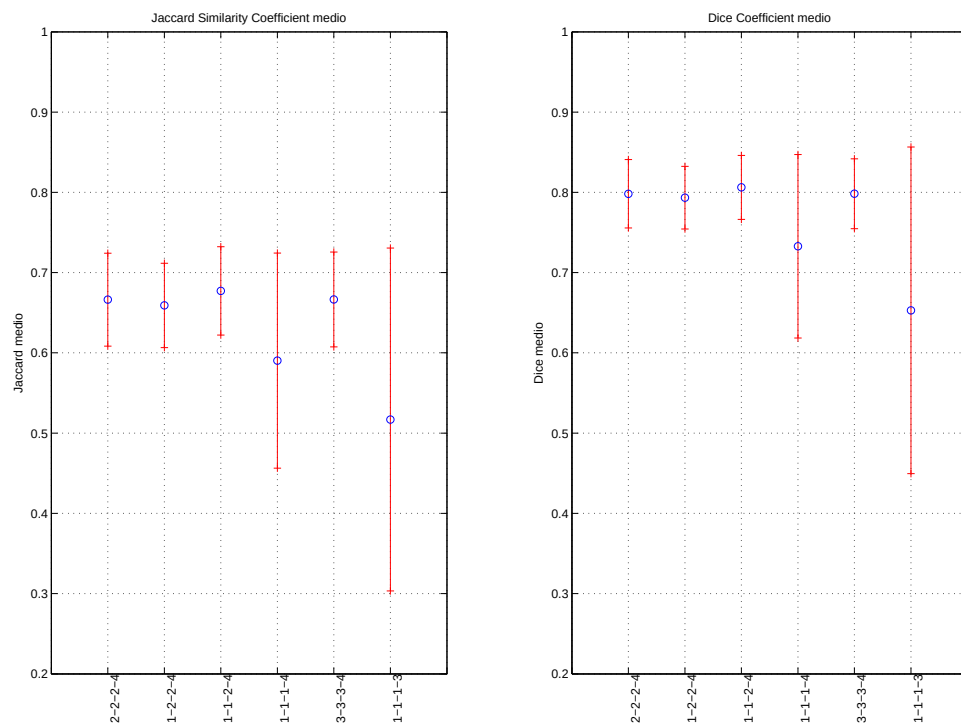


Figura 7.9: Media con bande di confidenza degli indici JCM e Dice con diversi set di Gaussiane, con soglia DIR=0.9

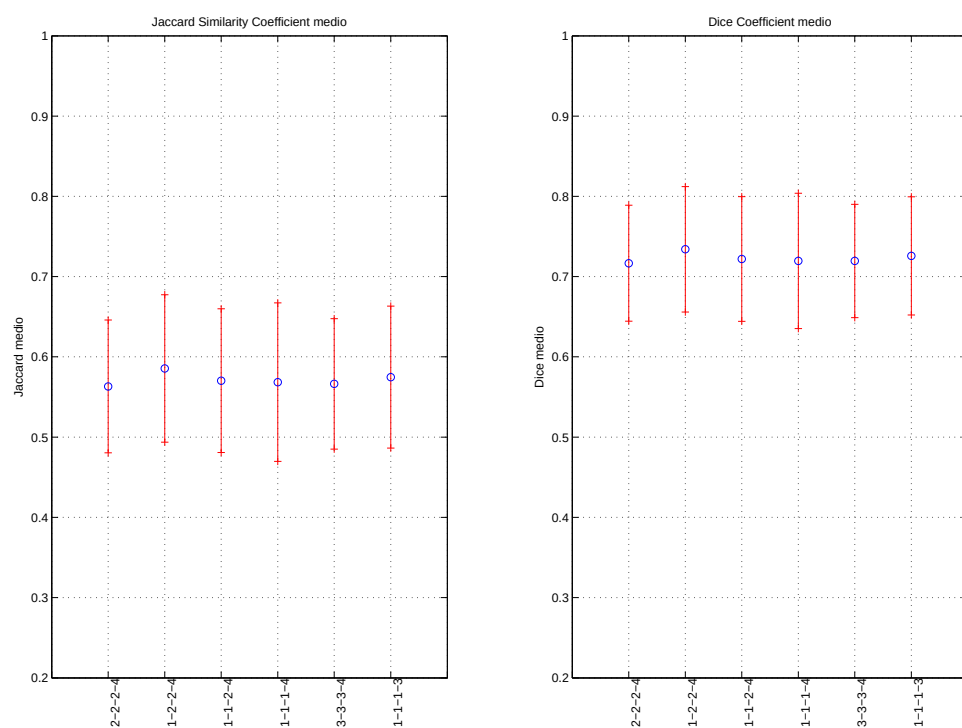


Figura 7.10: Media con bande di confidenza degli indici JCM e Dice con diversi set di Gaussiane, con soglia DIR=0.05.

Come si evince dai risultati appena mostrati, la variazione dei set di Gaussiane non influenza in modo particolarmente importante gli indici calcolati, tranne per due set: $[1 \ 1 \ 1 \ 3]$ e $[1 \ 1 \ 1 \ 4]$. La possibile spiegazione consiste nel fatto che assegnare un'unica Guassiana per GM, WM, CSF risulta non sufficiente e non adatto per la segmentazione di immagini DIR. Inoltre, al variare della soglia della segmentazione DIR si ottengono risultati molto diversi tra di loro e questi non cambiano da un soggetto ad un altro variando il numero di Gaussiane. Si assume pertanto che la segmentazione con il numero di default di Gaussiane (ovvero $[2 \ 2 \ 2 \ 4]$) risulta ad ogni modo sufficiente per le successive analisi.

A questo punto dell'analisi, è necessario determinare a che soglia la segmentazione T1 e la segmentazione DIR coincidono. Precedentemente, era stata scelta la soglia di 0.5 per la segmentazione T1 di riferimento, ma questo valore è troppo basso e includerebbe anche voxel con probabilità incerta di appartenere alla GM; pertanto verrà utilizzata la soglia di 0.8, più conservativa.

Inizialmente viene fatta una nuova analisi degli istogrammi dei valori della segmentazione DIR su tutti i 10 soggetti. L'andamento dell'istogramma della fig. 7.11 è molto simile a quello di una segmentazione T1, mentre quello di un altro soggetto (fig. 7.12) è diversa, e il picco dei valori massimi, per valori da 0.5 in poi, non è in corrispondenza di 1, ma ad un valore inferiore (tra 0.97 e 0.98).

Un altro aspetto che è stato considerato, sono quei valori di probabilità della segmentazione T1 corrispondenti ai valori per cui la segmentazione DIR è proprio uguale a 1. Se le due segmentazioni coincidono, o i loro risultati si avvicinano molto, ci si aspetta anche nella segmentazione T1 valori prossimi a 1.

Dall'analisi dei risultati (sono stati considerati gli stessi due soggetti delle fig. 7.11 e 7.12), si nota come l'istogramma per il soggetto n° 2 abbia molti valori prossimi a 1 o comunque sopra la soglia stabilita per la T1 (0.8), ed il numero complessivo di voxel è molto alto, mentre per il soggetto n°3 il numero di voxel della segmentazione T1 corrispondenti alla segmentazione DIR uguale a 1 è limitato (appena 18) e i valori sono tutti compresi tra 0.88 e 1, ma è

Gauss.	[2 2 2 4]		[1 2 2 4]		[1 1 2 4]		[1 1 1 4]		[3 3 3 4]		[1 1 1 3]	
sogg	sens	spec	sens	spec	sens	spec	sens	spec	sens	spec	sens	spec
1	96.5178	93.8531	96.2458	94.2659	96.7526	93.8307	97.4368	92.8150	96.5677	93.9302	97.4542	92.7652
2	97.5271	93.8286	96.3945	95.2181	96.9635	94.6386	96.9925	94.6691	97.4808	93.9150	96.9850	94.6737
3	98.4817	90.2731	98.6140	90.5508	98.9760	90.0338	99.0304	89.9251	98.5403	90.4965	98.5172	91.3009
4	98.1737	94.6577	96.9917	95.6599	97.7333	95.1942	96.4667	96.0767	98.2059	94.8588	96.3873	96.1235
5	98.2147	95.1992	97.9455	95.2994	98.3202	94.9790	98.5229	94.7289	98.3156	95.0771	98.5443	94.6737
Media	97.7830	93.5623	97.2383	94.1988	97.7491	93.7353	97.6899	93.6430	97.8221	93.6555	97.5776	93.9074
SD	0.7062	1.7236	0.9111	1.8813	0.8297	1.9080	0.9526	2.1290	0.7206	1.6487	0.8486	1.6843

Tabella 7.2: Risultati del confronto tra segmentazione T1 e DIR utilizzando in quest'ultima la soglia 0.05.

Gauss.	[2 2 2 4]				[1 2 2 4]				[1 1 2 4]				[1 1 1 4]				[3 3 3 4]				[1 1 1 3]			
sogg	sens		spec		sens		spec		sens		spec		sens		spec		sens		spec		sens		spec	
1	82.3859	98.0290	79.5272	98.2035	82.0161	98.0664	86.3047	97.3881	80.9972	98.1227	86.2263	97.4177	84.4612	98.6215	79.5597	98.8663	84.3460	98.5810	72.7842	99.3092	84.3294	98.5964	72.5622	99.3161
2	84.4612	98.6215	79.5597	98.8663	84.3460	98.5810	72.7842	99.3092	84.3294	98.5964	72.5622	99.3161	78.7485	97.3280	77.9377	97.4322	82.6569	97.1653	66.2811	98.2093	78.0010	97.3789	22.6010	99.3221
3	78.7485	97.3280	77.9377	97.4322	82.6569	97.1653	66.2811	98.2093	78.0010	97.3789	22.6010	99.3221	71.2420	99.3228	70.4703	99.3373	72.5038	99.2828	36.6778	99.8191	71.7878	99.2851	31.9625	99.8845
4	71.2420	99.3228	70.4703	99.3373	72.5038	99.2828	36.6778	99.8191	71.7878	99.2851	31.9625	99.8845	76.0979	99.1699	77.4531	99.1397	80.4758	99.0586	81.9391	98.9817	77.6209	99.0975	81.5575	98.9977
5	76.0979	99.1699	77.4531	99.1397	80.4758	99.0586	81.9391	98.9817	77.6209	99.0975	81.5575	98.9977												
Media	78.5871	98.4942	76.9896	98.5958	80.3997	98.4308	68.7974	98.7415	78.5473	98.4961	58.9819	98.9876												
SD	4.6714	0.7397	3.3663	0.6967	4.1384	0.7585	17.5106	0.8551	4.1541	0.6902	26.4195	0.8353												

Tabella 7.3: Risultati del confronto tra segmentazione T1 e DIR utilizzando in quest'ultima la soglia 0.9.

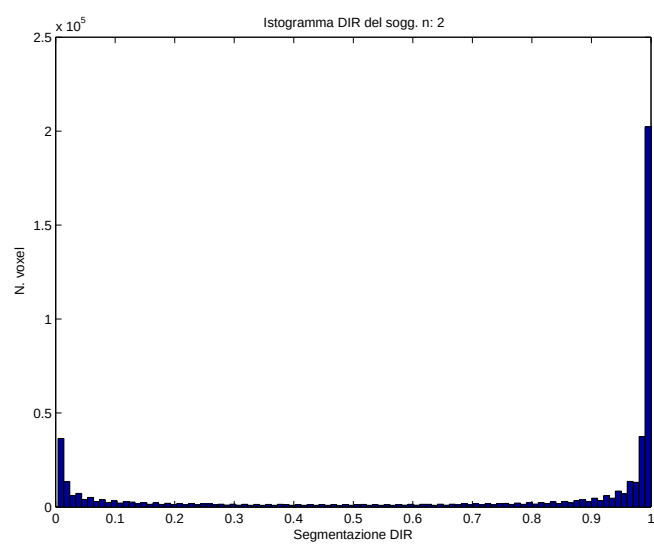


Figura 7.11: Istogramma dei valori dei voxel della segmentazione DIR del sogg n° 2.

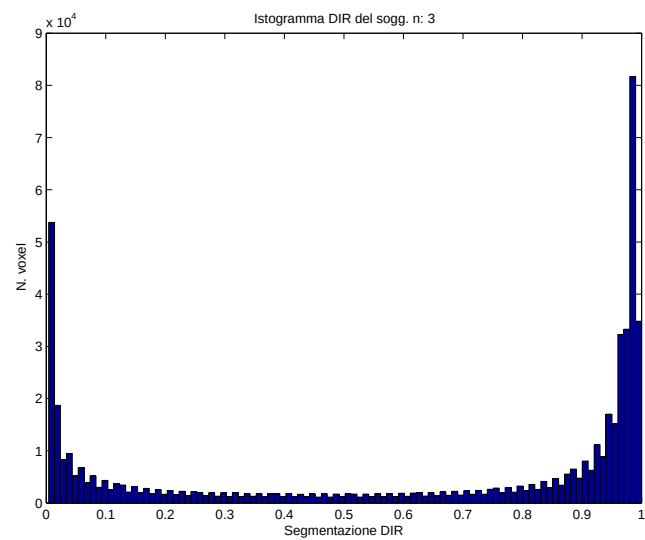


Figura 7.12: Istogramma dei valori dei voxel della segmentazione DIR del sogg n° 3.

poco significativo, visto la scarsità dei dati. Da un primo impatto, sembra che per il soggetto n° 2 ci sia una forte corrispondenza tra segmentazione effettuata su T1 e su DIR, mentre tutt'altro per il soggetto n°3. Invece, il fatto che ci siano solo pochi voxel con valore uguale a 1 per la DIR viene confermato anche dall'istogramma a fig. 7.12: come spiegato poco prima, il picco dei valori non corrisponde a 1, ma ad un valore inferiore. Quindi la corrispondenza tra le due segmentazioni andrebbe trovata proprio in quel picco. Per tutti gli altri soggetti, si ha un comportamento simile a quello trovato per il soggetto n° 2, con un numero di pixel considerati compresi in un intervallo di $3 \cdot 10^3 - 140 \cdot 10^3$.

Successivamente, sono stati calcolati i volumi complessivi delle segmentazioni. Per la segmentazione della DIR non è stata ancora fissata una soglia, e come valori esemplificativi, sono stati presi i seguenti: 0.10, 0.90, 0.93, 0.95, 0.97, 0.98, 0.99, 1. L'analisi non è stata effettuata su tutto il volume cerebrale, ma sono state eliminate le prime 20 slice del volume. Questo principalmente per due motivi: innanzitutto, all'interno delle prime 20 slice è presente la struttura del cervelletto che viene segmentata in maniera molto diversa nelle due sequenze (nella DIR si hanno valori di probabilità per la GM molto più alti); inoltre, perchè si è interessati alla segmentazione della DIR per la GM corticale e a livello delle lesioni.

A questo punto è necessario scegliere una soglia per la DIR che in linea teorica mantenga il medesimo volume della segmentazione della T1, per tutti i soggetti. Il valore di soglia che sembra soddisfare al meglio è compreso tra i valori 0.93, 0.95, 0.97, 0.98. Utilizzando la soglia 0.10, la maschera ottenuta contiene un volume molto maggiore della corrispondente segmentazione T1, mentre con soglia 0.99 e 1 il volume della segmentazione DIR si riduce eccessivamente, soprattutto per alcuni soggetti. Un'analisi complementare per la scelta della soglia ottima si può ottenere andando a studiare la performance del confronto tra le due segmentazioni, ovvero il numero di voxel, media tra tutti i soggetti, classificati in modo errato (FP,FP) e corretto (VP,VN) dalla segmentazione DIR rispetto alla T1. Vengono escluse subito le soglie 0.10, per un elevato numero di FP, e le soglie 0.99 e 1, per un elevato numero di

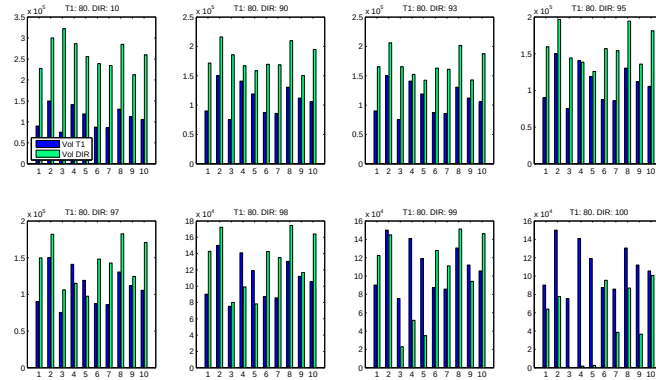


Figura 7.13: Plot del volume segmentazioni DIR (colore verde), con soglia variabile (dall'alto, a sx: 0.10, 0.90, 0.93, 0.95, 0.97, 0.98, 0.99, 1) e T1 con soglia fissa 0.8 (colore blu) per i 10 soggetti.

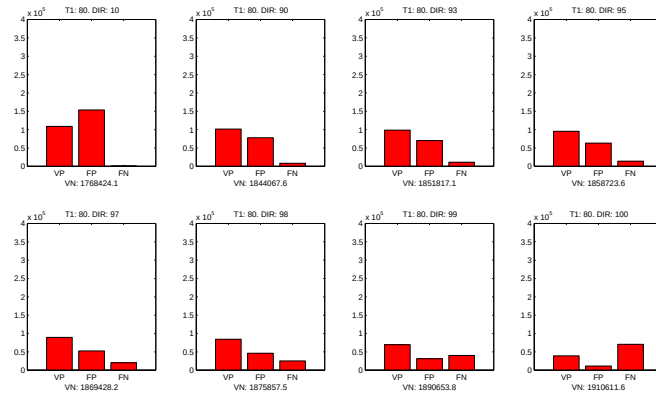


Figura 7.14: Plot degli indici VP, FP, FN, media per i 10 soggetti, confrontando la segmentazione DIR, con soglia variabile (dall'alto, a sx: 0.10, 0.90, 0.93, 0.95, 0.97, 0.98, 0.99, 1) con la T1, presa come riferimento, con soglia fissa 0.8. Per completezza, è stato ricopiato anche il valore dei VN alla base dei grafici.

FN, mentre per le soglie intermedie non si nota una grande differenza dei risultati. Utilizzando le soglie 0.93 e 0.95 si ha un alto numero di VP, ma anche di FP, e un minor numero di FN; alzando la soglia a 0.97 e 0.98, il numero di VP e FP decresce, mentre aumenta il numero di FN. Non esiste una grande variazione di questi parametri tra le soglie condidate, ne tanto meno una soglia in cui si abbia una netta differenza degli indici di performance.

Infine, è stata utilizzata un'analisi grafica per confermare la soglia ottima. Sono state comparate la segmentazione ottenuta da immagini T1 e da immagini DIR. In generale, la segmentazione della DIR appare leggermente più spessa della T1, in alcuni casi le circonvoluzioni non sono più evidenti perchè vengono fuse in un unica macchia e la zona centrale del cervello, dove sono presenti i nuclei della base, viene identificata con una zona di GM più estesa rispetto alla T1. In maniera opposta, invece, sono presenti casi in cui la segmentazione DIR contiene meno voxel, il bordo della GM attorno all'encefalo non è più continuo, è frastagliato o in certi punti completamente assente, alcune zone centrali del cervello scompaiono dalla GM, mentre sono ancora presenti nella T1, e inoltre sono presenti delle piccole zone all'interno della GM selezionata che sono state scartate dalla sogliatura, e che lasciano degli spazi vuoti all'interno della segmentazione. Questo fenomeno non è fisiologico del tessuto, infatti anche all'interno dello spessore della GM corticale sarà presente GM, e non è nemmeno attribuibile a lesioni della GM, perchè queste vengono già da subito identificate nell'immagine DIR ed il loro numero non può essere così elevato e diffuso in tutto il volume cerebrale, mentre è spiegabile attribuendo un valore di probabilità inferiore alla soglia decisionale per quei voxel all'interno di questi buchi, dovuto probabilmente ad un'errata assegnazione del software di segmentazione. I risultati variano da soggetto a soggetto, in relazione al plot del volume delle segmentazioni, in fig. 7.13: maggiore è il volume e più spessa risulta la segmentazione DIR, mentre minore è il volume, maggiore è la presenza di eventuali buchi all'interno della zona segmentata.

In quest'analisi, ma anche nelle precedenti, è evidente che i risultati sono soggetto-dipendenti, ovvero ad ogni soggetto sarebbe necessaria una soglia specifica per poter segmentare in maniera ottimale la GM come avviene nella

segmentazione T1. In ogni caso, il valore 0.98 come soglia per la segmentazione DIR sembra il valore ottimale per tutti i soggetti, perchè costituisce un compromesso tra i problemi precedentemente esposti.

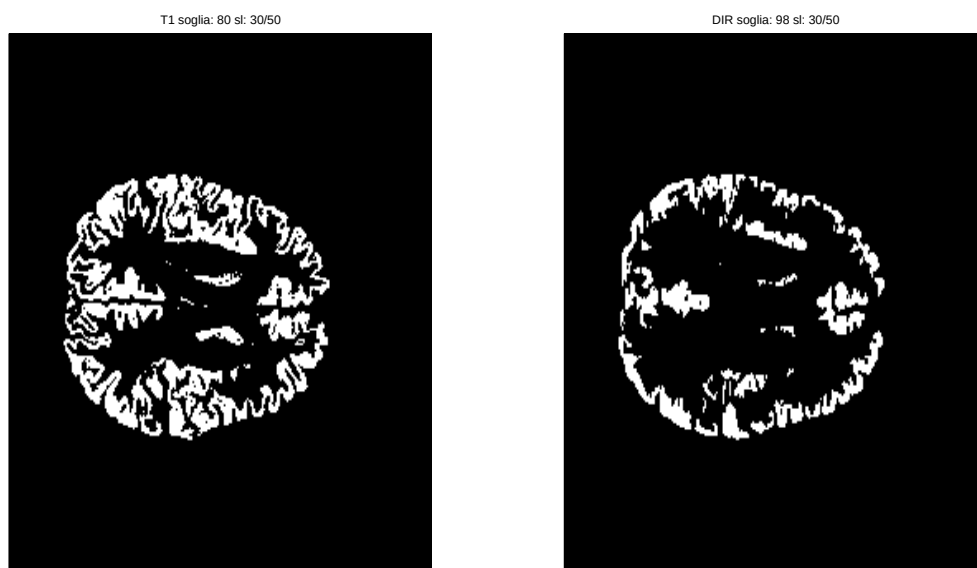


Figura 7.15: Maschera di una slice della segmentazione della GM nel soggetto n°5 a partire da un'immagine T1 e DIR. Il volume della segmentazione DIR è inferiore, infatti sono presenti zone in cui le circonvoluzioni sono state quasi completamente eliminate, creando un contorno frastagliato della GM. La soglia per la segmentazione in T1 è di 0.8, mentre per la DIR è di 0.98.

7.5 Classificazione dei voxel appartenenti alle lesioni

E' interessante conoscere come vengono classificati i voxel contenuti all'interno delle lesioni corticali provocate dalla MS. In linea teorica, questi

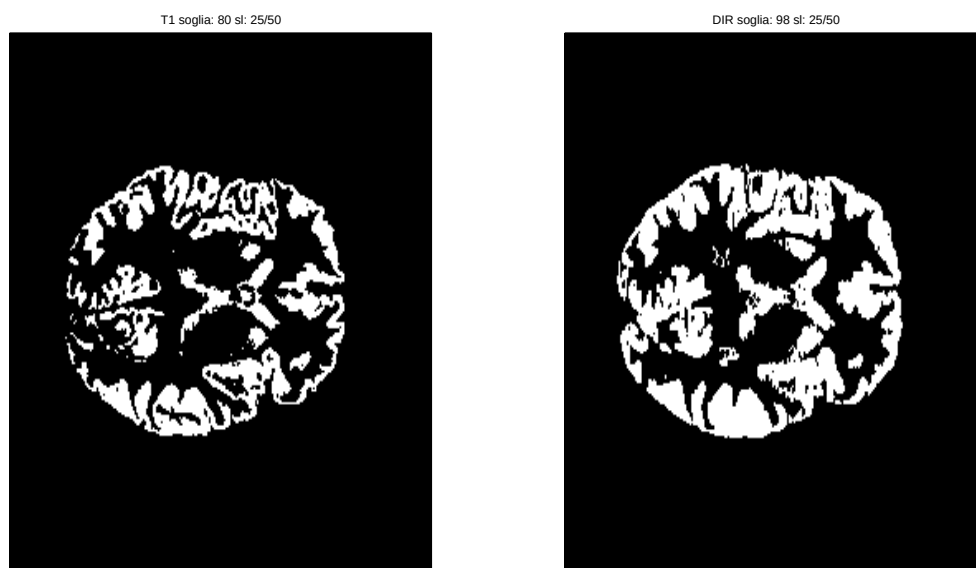


Figura 7.16: Maschera di una slice della segmentazione della GM nel soggetto n°10 a partire da un'immagine T1 (a sx) e DIR (a dx). Il volume della segmentazione DIR è maggiore e le circonvoluzioni risultano completamente riempite, con un aumento della GM nella zona centrale del cervello. La soglia per la segmentazione in T1 è di 0.8, mentre per la DIR è di 0.98.

voxel dovrebbero essere classificati come GM, dal momento che le lesioni si trovano lungo la corticale.

Quest'analisi è stata effettuata sulla segmentazione ottenuta direttamente dalle immagini DIR e poi confrontata con quella ottenuta da immagini T1 e poi coregistrate sulle DIR. Per quanto riguarda le immagini DIR, per ciascun voxel delle lesioni viene considerata l'appartenenza o meno alla GM, mentre nella segmentazione delle immagini T1, più affidabile, dal momento che l'algoritmo di segmentazione SPM è stato sviluppato appositamente per questo tipo di immagini, sono state considerate tutte le possibili classi di appartenenza: GM, WM, CSF e una quarta classe contenente *altro* (other), ovvero quei voxel che l'algoritmo non riesce ad assegnare in nessuna delle classi precedenti. Per ciascuna classe, è stata utilizzata una soglia minima di 0.8 per le T1 e 0.98 per le DIR: i voxel con probabilità uguale o superiore a tale soglia vengono inclusi come appartenenti alla classe. Se un voxel non raggiunge la soglia minima per nessuna delle tre classi, viene classificato come *altro*. Anche in questa analisi vengono eliminate le informazioni delle prime 20 slice del volume acquisito, per i motivi precedentemente esposti.

Le maschere delle lesioni sono state ottenute manualmente dal dott. Calabrese tramite un'ispezione visiva delle immagini DIR.

Per ciascun soggetto, vengono considerati quindi solamente i voxel inclusi all'interno delle lesioni e viene confrontata la segmentazione delle DIR con le T1. Inizialmente viene effettuato per ciascun soggetto un confronto diretto sul valore di probabilità di appartenenza alla GM di ogni singolo voxel assegnata dall'algoritmo SPM per i due tipi di immagini e viene poi calcolato il coefficiente di correlazione R^2 . In questo modo è possibile verificare se la classificazione della GM avviene in maniera uguale o meno nei due casi.

Questo risulta in media molto basso, diversamente da come ci si aspettava, e per alcuni soggetti risulta negativo, ovvero la probabilità dei voxel della GM su DIR sono maggiori rispetto al valore corrispondente delle T1. Sono state confrontate, poi, per ciascun soggetto, la medie delle probabilità dei voxel delle lesioni per DIR e T1: per alcuni soggetti si ha una perfetta corrispondenza, mentre per altri no. Considerando tutti i soggetti insieme il valore del coefficiente di correlazione per i voxel appartenenti alla GM è

Soggetto	R^2
1	NaN
2	0.1351
3	0.2978
4	0.3700
5	-0.2953
6	0.4247
7	0.1277
8	0.3347
9	0.1848
10	-0.2259
Media	0.1504
SD	± 0.2553

Tabella 7.4: Coefficiente di Correlazione tra i valori di probabilità delle mappe probabilistiche della GM delle T1 e DIR dei voxel appartenenti alle lesioni.

pari a -0.13, mentre per quelli esclusi dalla GM è 0.33: entrambi valori sono molto bassi e indicano una scarsa correlazione tra le due segmentazioni nelle zone delle lesioni.

Successivamente, per ogni soggetto, si è andati a vedere in maniera più precisa la classificazione dei voxel delle lesioni, in particolare l'appartenenza o meno alla GM, utilizzando degli istogrammi e dei grafici a barre per la segmentazione di immagini DIR e T1. Si ricorda che per quanto riguarda la classificazione delle immagini T1, è stato possibile utilizzare anche le mappe probabilistiche per le classi di appartenenza della WM, del CSF e la classe *altro* (other) nella quale vengono classificati i voxel che non vengono assegnati a nessuna delle tre classi precedenti.

Per quasi tutti i soggetti si osserva che i voxel all'interno delle lesioni classificati come GM nelle T1 sono in numero maggiore rispetto alle DIR, dove in alcuni casi si arriva ad un totale di zero voxel classificati come GM. Si ha un'eccezione per il soggetto n° 10 in cui si ha un aumento di voxel della GM e una diminuzione dei voxel fuori dalla GM, tra immagini T1 e DIR. In nessun soggetto si ha voxel appartenenti alla WM all'interno delle lesioni, pertanto

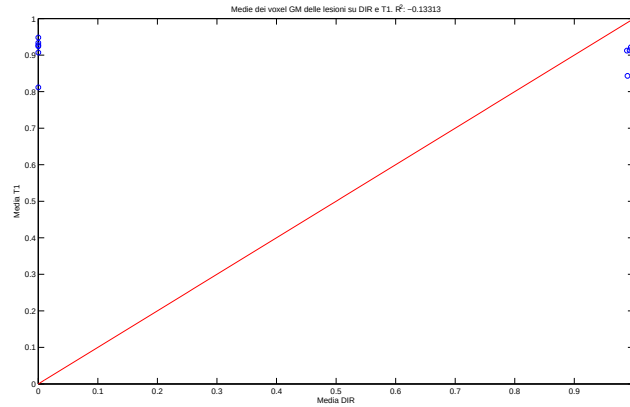


Figura 7.17: Valore medio per ciascun soggetto della probabilità dei voxel all'interno delle lesioni inclusi nella GM. Per i soggetti in alto a sx si ha un'alta probabilità per la segmentazione in T1, mentre probabilità nulla per la DIR. L'indice di correlazione è molto basso.

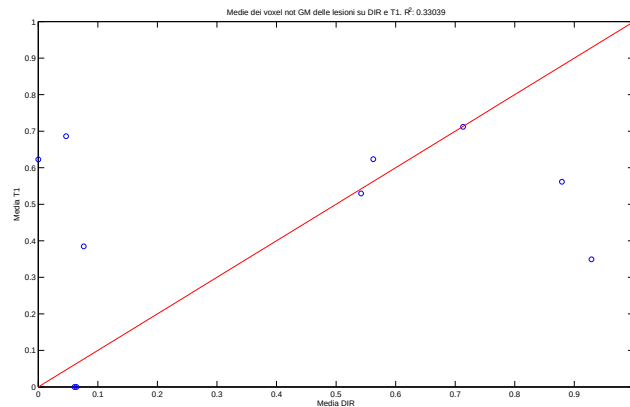


Figura 7.18: Valore medio per ciascun soggetto della probabilità dei voxel all'interno delle lesioni esclusi dalla GM. La correlazione è più forte della precedente, ma nonostante ciò si riscontrano soggetti con valori fuori dalla diagonale.

tutti i voxel non contenuti all'interno della GM, vengono assegnati alla classe CSF o altro. Per i soggetti n° 1 e 10 si ha una maggioranza dei voxel in cui non è stata assegnata una classe di appartenenza rispetto ai voxel classificati come GM e, tranne per il soggetto n°2, si ha una maggioranza di questi sui voxel classificato come CSF.

Studiando gli istogrammi relativi alla probabilità dei voxel, si possono distinguere due diverse situazioni: la prima in cui la maggior parte dei voxel (picchi negli istogrammi) sono vicini alla soglia decisionale, mentre la seconda in cui sono distanti. La distanza dalla soglia, quindi valori molto più bassi della soglia, corrisponde teoricamente ad una buona segmentazione, perchè si ha una maggior sicurezza e un minor dubbio sulla classificazione effettuata. Nei soggetti n° 2, 3, 4, 5, 8 accade questo, mentre nei soggetti rimanenti molti voxel si aggirano attorno alla soglia aumentando l'incertezza sulla decisione.

Analizzando, inoltre, la mappa della segmentazione della GM nel soggetto n° 8, slice 22, si osserva un fatto curioso. E' presente una lesione nella GM, ben visibile anche nell'immagine DIR come una zona iperintensa; confrontando la maschera della segmentazione della GM effettuata nella T1 e nella DIR, si nota come questa venga completamente esclusa utilizzando l'ultima sequenza, ovvero l'algoritmo di segmentazione presenta dei problemi nelle zone iperintense, e queste non vengono classificate come GM. La causa molto probabilmente risulta essere l'elevata intensità di questi voxel, fatto per cui le lesioni in DIR sono molto ben visibili, chiaramente diversa dagli altri voxel della GM, mentre, se venissero considerate solamente le informazioni date dalle mappe probabilistiche a priori, verrebbe assegnata un'alta probabilità di appartenere alla GM data la loro collocazione spaziale. Questo fatto risulta molto importante perchè la sequenza DIR viene utilizzata proprio per studiare le lesioni nella GM ed un simile artefatto deve essere preso in considerazione. Con questo è possibile inoltre spiegare il motivo del numero inferiore di voxel appartenenti alle lesioni classificati come GM nelle immagini DIR rispetto alle immagini T1.

Fatto importante da considerare per interpretare correttamente i risultati di quest'analisi è che il numero di voxel totali per ciascun soggetto è molto piccolo, come si può osservare dalla tabella 7.5, e per ogni lesione vengono

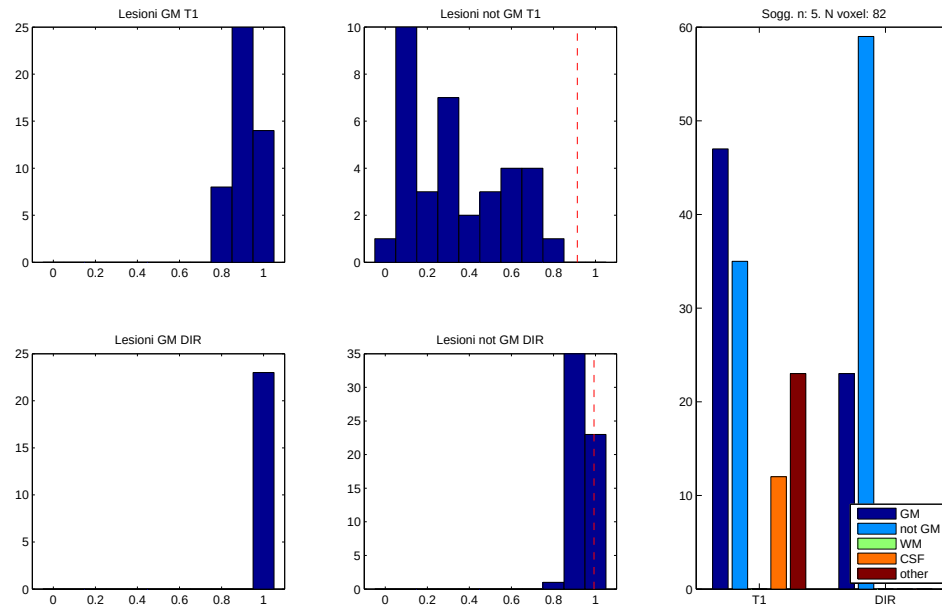


Figura 7.19: Istogrammi e grafici a barre per voxel inclusi nelle lesioni appartenenti o meno alla GM nella segmentazione di immagini T1 e DIR per il soggetto n°5. Istogrammi dei valori di probabilità per voxel inclusi (a sx) ed esclusi (a dx) per segmentazione delle T1 (in alto) e delle DIR (in basso); la linea rossa tratteggiata per gli istogrammi di dx rappresenta la media aritmetica della probabilità dei voxel, mentre le soglie per la segmentazione delle T1 e DIR sono rispettivamente di 0.8 e 0.98. A dx, grafico a barre rappresentante il numero di voxel della segmentazione per T1 e DIR. Per le T1 è stato possibile classificare i voxel esclusi dalla GM (in azzurro) in altre tre classi più specifiche: WM (in verde), CSF (in arancio) e other (in marrone). Si nota una diminuzione dei voxel della GM tra segmentazione di immagini T1 e DIR ed un conseguente aumento di quelli fuori dalla GM, e negli istogrammi dei valori di probabilità è possibile osservare una distribuzione di voxel su quasi tutti i valori nel plot centrale.

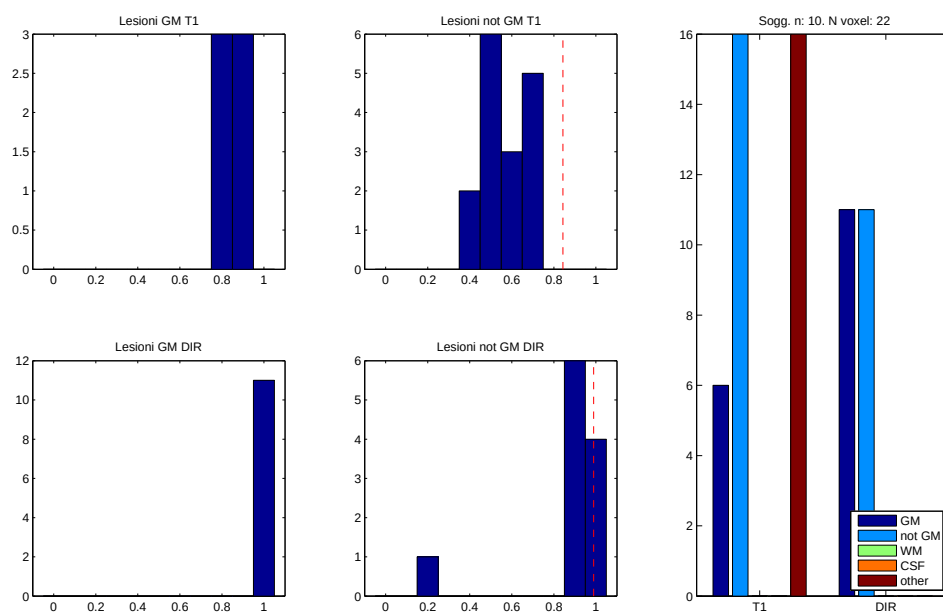


Figura 7.20: Istogrammi e grafici a barre per voxel inclusi nelle lesioni appartenenti o meno alla GM nella segmentazione di immagini T1 e DIR per il soggetto n°10. Istogrammi dei valori di probabilità per voxel inclusi (a sx) ed esclusi (a dx) per segmentazione delle T1 (in alto) e delle DIR (in basso); la linea rossa tratteggiata per gli istogrammi di dx rappresenta la media aritmetica della probabilità dei voxel, mentre le soglie per la segmentazione delle T1 e DIR sono rispettivamente di 0.8 e 0.98. A dx, grafico a barre rappresentante il numero di voxel della segmentazione per T1 e DIR. Per le T1 è stato possibile classificare i voxel esclusi dalla GM (in azzurro) in altre due classi più specifiche: WM (in verde), CSF (in arancio) e other (in marrone). Da notare come i voxel esclusi dalla GM nella DIR siano vicini alla soglia, mentre nella T1 siano distribuiti distanti da questa, ma comunque raccolti attorno al valore 0.6, e corrispondano solamente alla classe other, mentre il numero di voxel nella GM aumenta sensibilmente dalla T1 alla DIR.

Sogg	n° voxel	T1					DIR		diff GM
		GM	not GM	WM	CSF	Other	GM	not GM	
1	42	11,90	88,10	0,00	0,00	88,10	0,00	100,00	-11.90
2	13	100,00	0,00	0,00	38,46	0,00	0,00	100,00	-100.00
3	24	79,17	20,83	0,00	0,00	20,83	0,00	100,00	-79.17
4	81	61,73	38,27	0,00	14,82	23,47	0,00	100,00	-61.73
5	82	57,32	42,68	0,00	14,63	28,05	28,05	71,95	-29.27
6	44	84,09	15,91	0,00	0,00	15,91	54,55	45,45	-29.55
7	44	68,18	31,82	0,00	2,27	29,54	0,00	100,00	-68.18
8	15	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	-100.00
9	26	69,23	30,77	0,00	0,00	30,77	3,85	96,15	-65.38
10	22	27,27	72,73	0,00	0,00	72,73	50,00	50,00	+22.72
Medie	40,30	65,89	34,11	0,00	7,01	30,94	13,64	86,36	-52.25
SD	±24,06	±28,57	±28,57	±0	±12,59	±28,52	±22,15	±22,15	±39.57

Tabella 7.5: Valori in percentuale rappresentanti il numero di voxel delle lesioni classificati come appartenenti o meno alla GM per T1 e DIR e la variazione percentuale relativa alla GM. In media tra le immagini MR pesate T1 e DIR si ha una diminuzione media del numero di voxel nelle lesioni classificati come GM di circa il 50%.

inclusi solamente una decina di voxel.

La correlazione tra il numero di voxel che costituiscono le lesioni, per ciascun soggetto, e il numero di voxel classificati come GM nelle T1 è pari a -0,30, mentre per le immagini DIR è pari a 0,11; la correlazione tra il numero di voxel e la differenza tra voxel GM T1 e DIR è di 0.27. Questi valori sono piccoli e poco significativi, per cui si può affermare che non c'è correlazione tra i risultati sulla segmentazione delle lesioni e il numero complessivo di voxel da cui sono queste costituite.

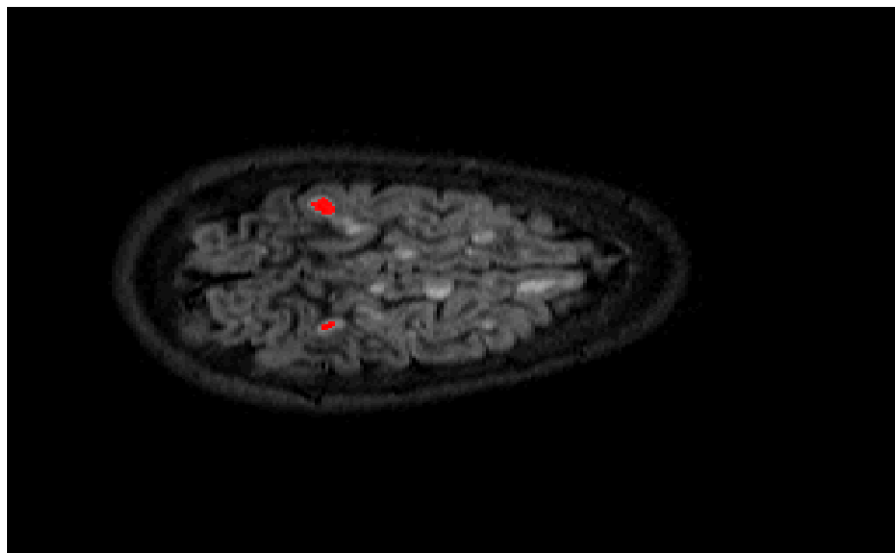


Figura 7.21: Immagine DIR con lesione evidenziata in rosso del soggetto n° 4.

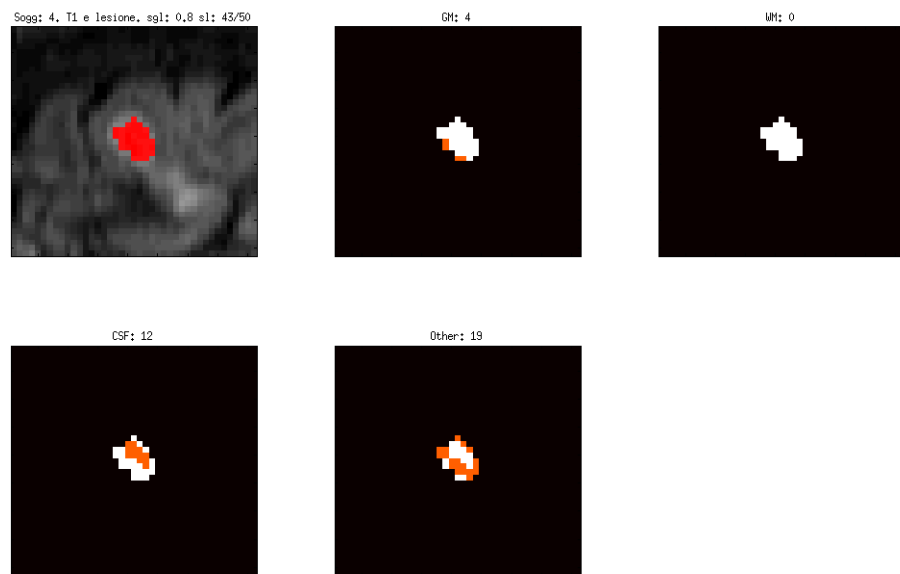


Figura 7.22: Dall'alto a dx: ingrandimento della DIR e lesione interessata di colore rosso, in bianco maschera della lesione e in giallo voxel appartenenti alla GM, WM, CSF e other relativi alla segmentazione su immagini T1 successivamente coregistrate su DIR per il soggetto n° 4.

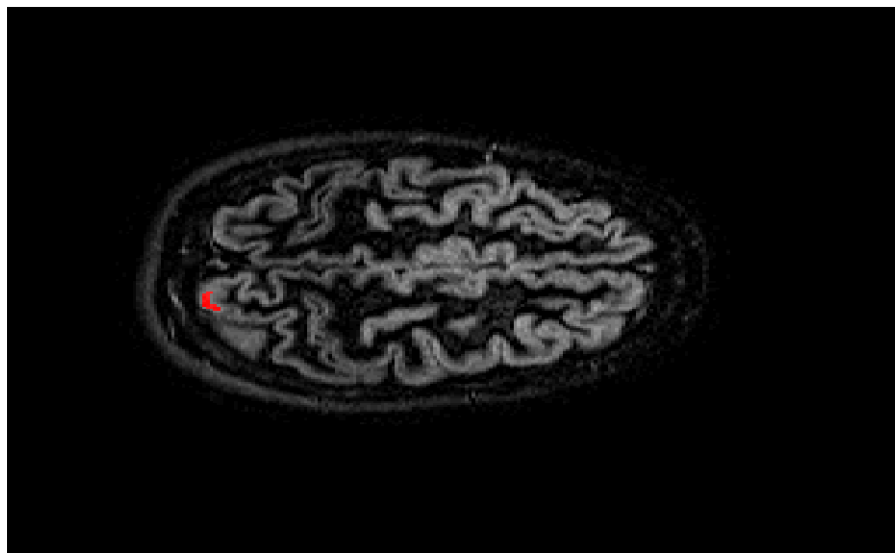


Figura 7.23: Immagine DIR con lesione evidenziata in rosso del soggetto n° 9.

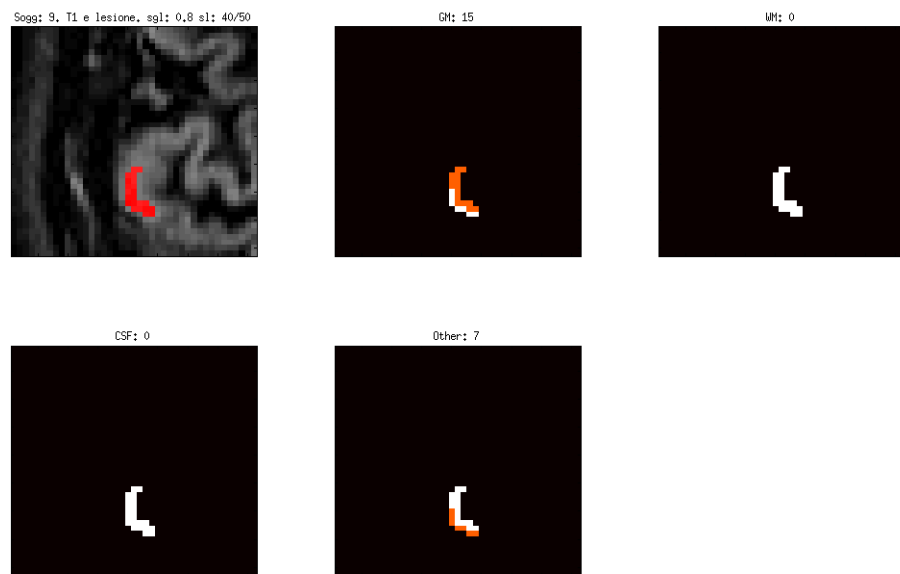


Figura 7.24: Dall'alto a dx: ingrandimento della DIR e lesione interessata di colore rosso, in bianco maschera della lesione e in giallo voxel appartenenti alla GM, WM, CSF e other relativi alla segmentazione su immagini T1 successivamente coregistrate su DIR per il soggetto n° 9.

Capitolo 8

Studio della FA all'interno delle lesioni

Vengono qui descritti i valori della FA corrispondente ai voxel contenuti nella maschera delle lesioni identificate dalle immagini DIR. I dati utilizzati si riferiscono agli stessi soggetti del capitolo precedente.

Per poter dare un giudizio sui risultati della FA all'interno delle lesioni è stata utilizzata solamente la segmentazione della GM descritta nel capitolo precedente. In questo modo è possibile stabilire se il valore di FA per quel determinato voxel sia nella media della FA per i voxel appartenente alla stessa classe, oppure abbia un valore alterato.

Per una prima analisi, sono state calcolate, per ogni soggetto, la media e la standard deviation della FA dei voxel appartenenti alle lesioni, senza considerare la segmentazione di questi. E' possibile notare che il modulo della FA è limitato nell'intervallo 0-0.5 e c'è una differenza significativa tra i vari soggetti: la media varia tra un valore minimo di 0.13 e un valore massimo di 0.28 con una SD che tendenzialmente è più grande per valori medi più elevati, ovvero c'è una maggior dispersione della FA attorno alla media.

Vengono quindi analizzati i risultati della FA raggruppando i valori relativi ai voxel appartenenti alla stessa classe di segmentazione GM. Dai risultati (vedi figura 8.2) si nota una disomogeneità del valore di FA tra soggetto a soggetto, con medie comprese tra 0.1 e 0.27, ma con standard deviation re-

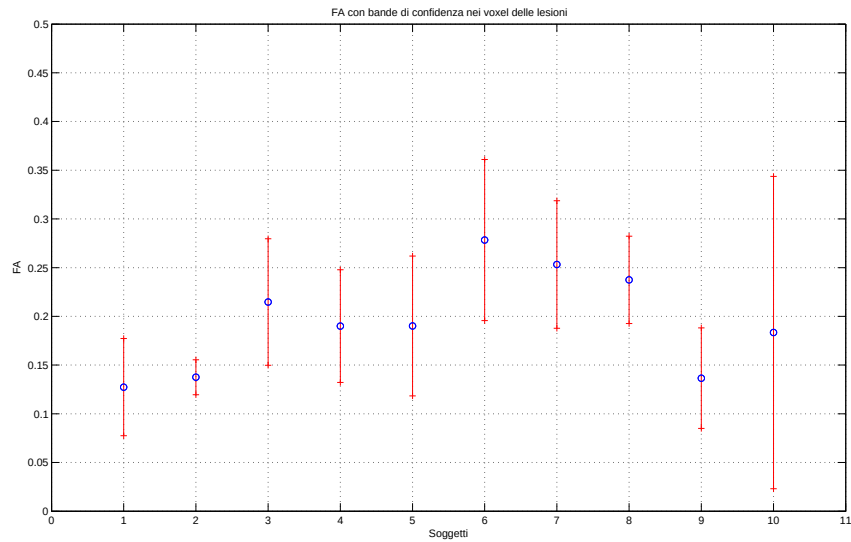


Figura 8.1: FA con media e bande di confidenza per i voxel inclusi all'interno delle lesioni per i 10 soggetti.

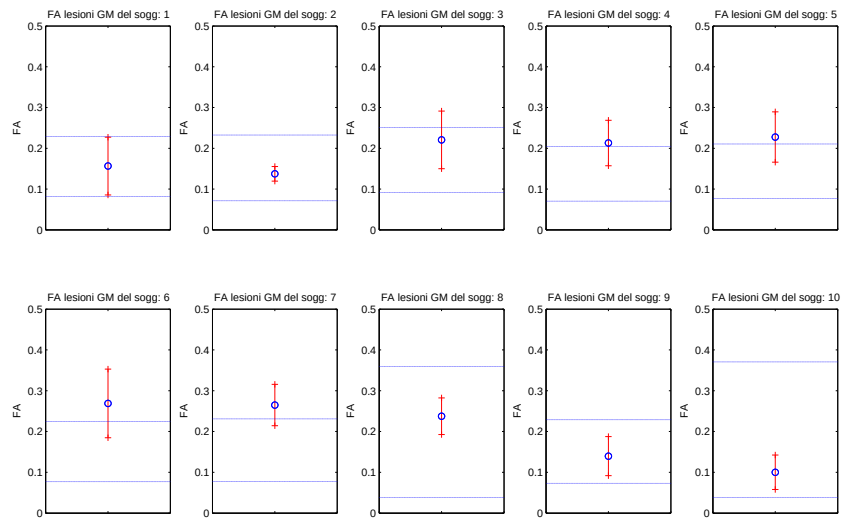


Figura 8.2: FA con media e bande di confidenza per i voxel inclusi all'interno delle lesioni e classificati come GM per i 10 soggetti. Per ogni soggetto con una linea blu sono indicate le bande di confidenza della FA dei voxel della GM di tutto l'intero volume cerebrale.

lativamente costante. Confrontando la media della FA di tutta la GM del soggetto specifico e il valore della FA nei i voxel classificati come GM all'interno delle lesioni, si nota per quest'ultimi, in 6 soggetti su 10, la media $\pm$ SD della FA cade dentro l'intervallo media $\pm$ SD di tutta la GM, mentre per solo 4 soggetti si ha un valore medio leggermente più alto e che quindi fuoriesce dalle bande di confidenza. Nel complesso, però, sembra che i valori della FA nei voxel GM delle lesioni abbiamo valori analoghi a quelli fuori dalle lesioni e appartenenti al resto della GM.

Capitolo 9

Conclusioni

La segmentazione di immagini RM è ancora oggi un argomento aperto, su cui approfondire lo studio utilizzando le migliori tecniche a disposizione. In questa tesi sono stati confrontati i risultati dei due maggiori software al giorno d'oggi utilizzati per la segmentazione, SPM e FSL, costituiti da due algoritmi con diversi presupposti matematici.

Dai risultati ottenuti utilizzando immagini di prova di due data-set online IBSR, sembra che l'algoritmo di SPM sia il più valido ed efficiente in termini di sensibilità e specificità rispetto ad FSL, sebbene ci siano alcuni problemi che devono essere risolti. Per alcuni soggetti, infatti, il software non è in grado di allineare, nelle prime iterazioni dell'algoritmo, il volume cerebrale del soggetto da segmentare con il volume cerebrale delle mappe probabilistiche a priori. Per ovviare a questo, è necessario eseguire in maniera manuale una normalizzazione precedente alla segmentazione, e successivamente una normalizzazione inversa per riportare la segmentazione allo spazio del volume cerebrale originale di partenza. Questa soluzione *home made* consente di segmentare qualsiasi cervello, ma comporta un ulteriore dispendio di tempo. Il software FSL non presenta questo tipo di problema, ma dai confronti delle mappe di segmentazione di riferimento, sono maggiori gli errori FP e FN rispetto a SPM, soprattutto in alcuni precise zone centrali del cervello. In questa tesi, inoltre, si è provato, in via sperimentale, ad applicare l'algoritmo SPM nelle immagini MR DIR. Questo tipo di immagini non presenta

le stesse caratteristiche di intensità per ciascuna classe di segmentazione rispetto alle immagini T1 e l'algoritmo SPM non è stato progettato per fare questo, ma in ogni caso, i risultati che sono scaturiti dalla segmentazione di immagini DIR di 10 soggetti affetti da MS sembrano essere positivi. Uno degli aspetti critici risulta essere la soglia decisionale da applicare alle mappe probabilistiche. Infatti, affinché ci sia una forte corrispondenza tra la segmentazione delle DIR e delle T1, la soglia da utilizzare risulta essere molto alta (0.98), ovvero è necessario considerare quasi tutti i voxel con probabilità diversa da 0, ma i risultati sono fortemente diversi da soggetto a soggetto. Un miglioramento in questa direzione potrebbe essere quello di utilizzare una soglia soggetto-dipendente, basata sull'istogramma di quel specifico soggetto. La segmentazione delle immagini T1 sembra non essere adeguata per i voxel appartenenti alle lesioni. Infatti, questi voxel, dal momento che le lesioni si trovano nella zona corticale della GM, dovrebbero esser classificati quasi tutti come appartenenti alla GM, invece dai risultati sembra che la maggior parte di questo vengano esclusi dalla GM e invece vengano classificati come appartenenti al CSF o classificati come *altro*, ovvero l'algoritmo non è in grado di assegnare una classe di appartenenza.

Nella segmentazione di questi voxel utilizzando immagini DIR si ha una drastica diminuzione dei voxel appartenenti alla GM di circa il 50 % sui 10 soggetti a disposizione, fatto che indica come la segmentazione in questi voxel sia probabilmente alterata e poco veritiera. La causa più probabile risulta essere l'aumento dell'intensità di questi voxel, caratteristica peculiare di questo tipo di immagini MR, dovuta ad una degenerazione e infiammazione del tessuto nervoso delle lesioni.

Sebbene nelle immagini DIR sia evidente un miglior contrasto della GM su tutte le altre strutture interne del cervello, la segmentazione di immagini DIR utilizzando l'algoritmo SPM così com'è stato progettato non risulta affidabile e presenta differenze abbastanza pronunciate rispetto alla segmentazione di immagini T1 degli stessi soggetti, soprattutto nei voxel appartenenti alle lesioni. Per questo scopo dovrebbero essere riviste alcune caratteristiche interne all'algoritmo, in particolare l'intensità media delle gaussiane caratteristiche dei voxel di ciascuna classe.

Infine, analizzando il valore della FA tra la GM di tutto il volume cerebrale e i voxel GM contenuti nelle lesioni, non si riscontrano variazioni significative dei valori, mentre è possibile notare una disomogeneità soggetti-dipendente per la FA di tutti i voxel interni alle lesioni.

Appendice A

Modello Hidden Markov Random Field

A.1 Modello Hidden Markov Random Field

Matematicamente, per comprendere un modello *hidden Markov random field* (HMRF) è necessario definire alcuni concetti:

Hidden Random Field (MRF) Il random field $X = \{X_i, i \in \mathcal{S}\}$ assume valore finito nello spazio $\mathcal{L}$ con la distribuzione di probabilità:

$$P(\mathbf{x}) = Z^{-1} \exp(-U(\mathbf{x})) \quad (\text{A.1})$$

dove $U(\mathbf{x})$ è la *funzione energia*. Lo stato di X non è osservabile. Questo corrisponde alla vera segmentazione che deve essere stimata.

Random field osservabile Si riferisce alla segmentazione ottenuta dall'immagine di partenza. $Y = \{Y_i, i \in \mathcal{S}\}$ è un random field con uno stato finito nello spazio $\mathcal{D}$. Data qualsiasi configurazione $\mathbf{x} \in \mathcal{X}$, ogni Y_i segue la distribuzione di probabilità condizionata $p(y_i|x_i)$ nella forma di $f(y_i; \theta_{x_i})$, dove θ_{x_i} sono i parametri coinvolti. Questa distribuzione

è chiamata *funzione di probabilità di emissione* e Y è ancora riferito al random field emesso.

Condizione di indipendenza Per ogni $\mathbf{x} \in \mathcal{X}$, le variabili random Y_i sono indipendenti fra di loro:

$$P(\mathbf{y}|x) = \prod_{i \in \mathcal{S}} P(y_i, x_i) \quad (\text{A.2})$$

pertanto possiamo scrivere la probabilità congiunta di (X, Y) come:

$$\begin{aligned} P(\mathbf{y}, x) &= P(\mathbf{x})P(\mathbf{y}|x) \\ &= P(\mathbf{x}) \prod_{i \in \mathcal{S}} P(y_i, x_i) \end{aligned} \quad (\text{A.3})$$

Considerando le caratteristiche del MRF, la probabilità congiunta di qualsiasi coppia (X_i, Y_i) , data la configurazione dei vicini $X_{\mathcal{N}_i}$ di X_i è:

$$P(y_i, x_i | x_{\mathcal{N}_i}) = P(y_i | x_i) P(x_i | x_{\mathcal{N}_i}) \quad (\text{A.4})$$

Calcolando quindi la distribuzione di probabilità marginale di Y_i dipendente dal set di parametri θ e $X_{\mathcal{N}_i}$:

$$\begin{aligned} p(y_i | x_{\mathcal{N}_i}, \theta) &= \sum_{l \in \mathcal{L}} p(y_i, l | x_{\mathcal{N}_i}, \theta) \\ &= \sum_{l \in \mathcal{L}} f(y_i; \theta_l) p(l | x_{\mathcal{N}_i}) \end{aligned} \quad (\text{A.5})$$

dove $\theta = \{\theta_l, l \in \mathcal{L}\}$.

Questo viene chiamato modello *hidden Markov random field* (HMRF).
Se la distribuzione è di probabilità è gaussiana:

$$g(y; \theta_l) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma_l^2}} \exp\left(-\frac{(y - \mu_l)^2}{2\sigma_l^2}\right) \quad \text{e} \quad \theta_l = (\mu_l, \sigma_l)^T \quad (\text{A.6})$$

il modello HMRF prende il nome di *Gaussian hidden Markov random field* (GHMRF) e la (A.5) diventa:

$$p(y_i|x_{\mathcal{N}_i}, \theta) = \sum_{l \in \mathcal{L}} g(y_i; \theta_l) p(l|x_{\mathcal{N}_i}, \theta) \quad (\text{A.7})$$

A.2 Stima MRF-MAP

Per il problema della classificazione, consideriamo un'immagine di prova ed assegniamo a ciascun pixel un'etichetta che ne indica la classe, presa dall'insieme delle classi $\mathcal{L}$. I pixel dell'immagine sono organizzati in una matrice 3D, dove la terza dimensione ha grandezza 2, una per l'intensità y_i , considerata nell'insieme D , e una per la classe di appartenenza $x_i, i \in \mathcal{S}$ del pixel i -esimo. Si denota, per tutto l'insieme S di esistenza, y per l'intensità, $\mathbf{x}^*$ per la classificazione vera, ma incognita, e $\hat{\mathbf{x}}$ per la classificazione stimata, entrambi interpretati come realizzazione di un random field X di tipo MRF con una distribuzione data da $P(\mathbf{x})$. L'immagine osservabile è indicata con $\mathbf{y}$, corrispondente a una realizzazione di un GHMRF (A.7). Il problema della classificazione consiste nell'ottenere $\mathbf{x}^*$ partendo dall'immagine osservata $\mathbf{y}$. Utilizzando il criterio MAP (Massimo a Posteriori), l'immagine stimata diventa allora

$$\hat{\mathbf{x}} = \arg \max_{\mathbf{x} \in \mathcal{X}} \{P(\mathbf{y}|\mathbf{x})P(\mathbf{x})\} \quad (\text{A.8})$$

dove $P(\mathbf{y}|\mathbf{x})$ è la funzione di verosimiglianza (*likelihood*) e $P(\mathbf{x})$ la distribuzione di probabilità a priori (*prior*) per ogni classe, realizzazione di un MRF, definita come:

$$P(\mathbf{x}) = \frac{1}{Z} \exp(-U(\mathbf{x})) \quad (\text{A.9})$$

Il prodotto tra la likelihood e il prior, quindi la $\hat{\mathbf{x}}$ stimata, è definita *posterior*.

Si assume che l'intensità di ogni pixel y_i abbia una distribuzione gaussiana

come (A.6), e utilizzando l'assunzione che la probabilità $\mathbf{y}$ sia indipendente $\forall i \in \mathcal{S}$, la likelihood congiunta diventa:

$$\begin{aligned} P(\mathbf{y}|x) &= \prod_{i \in \mathcal{S}} p(y_i|x_i) \\ &= \frac{1}{(2\pi)^{N/2}} \exp \left[\sum_{i \in \mathcal{S}} \left(-\frac{(y_i - \mu_{x_i})^2}{2\sigma_{x_i}^2} - \log(\sigma_{x_i}) \right) \right] \end{aligned} \quad (\text{A.10})$$

Anche questa può essere scritta come:

$$P(\mathbf{y}|x) = \frac{1}{Z'} \exp(-U(\mathbf{y}|x)) \quad (\text{A.11})$$

Poichè la relazione tra probabilità $\log P(\mathbf{y}|x)$ ed energia $-U(\mathbf{y}|x)$ è di proporzionalità, l'energia a posteriori diventa $U(\mathbf{x}|y) = U(\mathbf{y}|x) + U(\mathbf{x}) + \text{cost}$ e la stima MAP (A.8) diventa la minimizzazione della funzione energia a posteriori:

$$\hat{\mathbf{x}} = \arg \min_{\mathbf{x} \in \mathcal{X}} \{U(\mathbf{y}|x) + U(\mathbf{x})\} \quad (\text{A.12})$$

Nonostante la formula matematica sia abbastanza semplice, la stima MAP presenta dei problemi di calcolo computazionale. La soluzione ottima consiste nell'implementare un'ottimizzazione iterativa chiamata *Iterated conditional modes* (ICM), che utilizza una strategia "greedy" per minimizzare la funzione, consentendo la convergenza dopo poche iterazioni. In altre parole, data l'immagine di partenza $\mathbf{y}$, considerando il pixel i -esimo al passo k , avendo la classificazione di tutti gli altri voxel escluso i , $x_{\mathcal{S}-\{i\}}^{(k)}$, l'algoritmo aggiorna il valori $x_i^{(k)}$ in $x_i^{(k+1)}$ minimizzando la probabilità condizionata a posteriori rispetto a x_i , $U(x_i|\mathbf{y}, x_{\mathcal{S}-\{i\}})$.

Bibliografia

- [1] D. Chard, D. Miller, Review: Grey matter pathology in clinically early multiple sclerosis: Evidence from magnetic resonance imaging, *Journal of the Neurological Sciences*, 2009.
- [2] J. Geurts, F. Barkhof, Review: Grey matter pathology in multiple sclerosis, *Neurology*, 2008.
- [3] M. Calabrese, N. De Stefano, M. Atzori, Extensive cortical inflammation is associated with epilepsy in multiple sclerosis, *Journal of Neurology*, 2008.
- [4] A. Kutzelnigg, C.F. Lucchetti, C. Stadelmann, Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis, *Brain* 2005.
- [5] E-J Kooi, Department of Neuropathology, VU University Medical Centre, Amsterdam, Netherlands.
- [6] P.K. Stys, Axonal degeneration in multiple sclerosis: is it time for neuroprotective strategies? *Annual of Neurology*, 2004.
- [7] T.W. Redpath, F.W. Smith, Technical note: Use of a double inversion recovery pulse sequence to image selectively grey or white brain matter, *The British Journal of Radiology*, 1994.
- [8] T.W. Redpath, Calibration of the Aberdeen NMR imager for proton spin-lattice relaxation time measurements in vivo, *Physics in Medicine and Biology*, 1982.

- [9] H.W. Fisher, P.A. Rinck, Y. Van Haverbeke, Nuclear relaxation of human brain gray and white matter: analysis of field dependence and implication for MRI, *Magnetic Resonance Medical*, 1990.
- [10] K. Turetschek, P. Wunderbaldinger, A. Bankier, Double Inversion Recovery imaging of the brain: initial experience and comparison with fluid attenuated inversion recovery imaging, *Magnetic Resonance Imaging*, 1998.
- [11] J. Geurts, P. Pouwels, B. Uitdehaag, Intracortical lesions in Multiple Sclerosis: improved detection with 3D double inversion-recovery MR imaging, *Radiology*, 2005.
- [12] P. J. W. Pouwels, J. P. A. Kuijer, J. P. Mugler, C. R. G. Guttman, F. Barkhof, Human Gray Matter: Feasibility of Single-Slab 3D Double Inversion-Recovery High-Spatial-Resolution MR Imaging, *Radiology*, 2006.
- [13] P. Wattjes, G.G. Lutterbey, J. Gieseke, Double Inversion Recovery Brain Imaging at 3T: Diagnostic Value in the Detection of Multiple Sclerosis Lesions, *AJNR*, 2007.
- [14] O. Ciccarelli, M. Catani, H. Johansen-Berg, C. Clark, A. Thompson, Review. Diffusion-based tractography in neurological disorders: concepts, applications, and future developments. *Neurology*, 2008.
- [15] DK Jones, Determining and visualizing uncertainty in estimates of fiber orientation from diffusion tensor MRI. *Magn Reson Med*, 2003.
- [16] D. Le Bihan, J. Mangin, C. Poupon, C. Clark, Diffusion Tensor Imaging: Concepts and Applications, *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 2001.
- [17] DK. Jones, The effect of gradient sampling schemes on measures derived from diffusion tensor MRI; a Monte Carlo study, *Magnetic Resonance Medicine*, 2004.

-
- [18] E. Pagani, R. Bammer, M.A. Horsfield, Review: Diffusion MR Imaging in Multiple Sclerosis: Technical Aspects and Challenges, *Neuroradiology*, 2007.
- [19] Pagani E, Filippi M, Rocca MA, et al. A method for obtaining tract-specific diffusion tensor MRI measurements in the presence of disease: application to patients with clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. *Neuroimage*, 2005.
- [20] S. Mori, PC. van Zijl, Fiber tracking: principles and strategies - a technical review, *Biomed*, 2002.
- [21] S.D. Roosendaal, J.J.G. Geurts, H. Vrenken, Regional DTI differences in multiple sclerosis patients, *Neuroimage*, 2008.
- [22] A. H. Poonawalla, K. M. Hasan, R. K. Gupta, Diffusion-Tensor MR Imaging of Cortical Lesions in Multiple Sclerosis: Initial Findings, *Neuroradiology*, 2008.
- [23] Hasan KM, Gupta RK, Santos RM, Diffusion tensor fractional anisotropy of the normal-appearing seven segments of the corpus callosum in healthy adults and relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *Magnetic Resonance Imaging*, 2005.
- [24] Stephen M. Smith, BET: Brain Extraction Tool, *FMRIB Technical Report TR00SMS2b*, Oxford, UK.
- [25] M. P  chaud, M. Jenkinson, S. Smith, BET2 - MRI-Based Estimation of Brain, Skull and Scalp Surfaces, *FMRIB Technical Report TR06MP1*, 2006, Oxford, UK.
- [26] Y.Zhang, S.Smith, M.Brady, Hidden Markov Random Field Model and Segmentation of Brain MR Images, *FMRIB Technical Report TR00YZ1*, Oxford, UK.
- [27] J.Ashburner, K.Friston, Unified Segmentation, *Neuroimage* 2005.

- [28] O. Tsang, A. Gholipour, N. Kehtarnavaz, Comparison of tissue segmentation algorithms in neuroimage analysis software, *IEEE Xplore*, 2009.

Elenco delle figure

1.1	Esempio di infiammazione alle meningi	6
1.2	Schema riassuntivo dei processi coinvolti nella MS.	8
2.1	Andamento della magnetizzazione negli intervalli TI_1 e TI_2 per il CSF (F), GM (G) e WM (W).	12
2.2	Valori di TI_2 necessari per annullare la WM (curva orizzonta- le) e il CSF (curva verticale) in funzione di TI_1 in una sequenza DIR con $TR=8$ s e $\tau=10$ ms.	14
2.3	Andamento del segnale per la sequenza DIR e FLAIR all'au- mentare del tempo di rilassamento $T1$	17
2.4	Immagini di una single-slab 3D-DIR nel piano sagittale (A), coronale (B) e assiale (C) in un paziente affetto da MS.	20
3.1	Distorsione geometrica di un'immagine EPI comparata con un'immagine FSE T2 pesata.	29
3.2	Distorsione geometrica provocata dalle eddy-currents.	30
3.3	Ellissoide di diffusione costituito dai tre autovalori $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ nelle tre direzioni principali x', y', z'	32
3.4	Esempio di trattografia che utilizza colori (a sx) e vettori (a dx) per indicare la direzione della diffusività massima per ciascun voxel.	36

3.5	Rendering 3D del tratto corticospinale (azzurro), del corpo calloso (magenta) e del fascicolo superiore longitudinale (giallo) ricostruito tramite algoritmi di trattografia in un soggetto sano [19].	37
3.6	Procedimento schematico utilizzato nella trattografia.	37
4.1	Pipeline dell'algoritmo BET.	48
4.2	Esempio di vertice con vettore normale $\mathbf{n}$ e 5 superfici locali, ciascuna con vettore normale e due vettori tangenziali [24]. . .	50
4.3	Risultato finale dell'algoritmo BET.	52
4.4	In rosso, piano utilizzato per eliminare gli organi anteriori del cranio [24].	55
4.5	Tre prospettive del fit di una superficie con mesh. In loro numero è stato ridotto per ottenere una migliore lettura dell'immagine	57
4.6	Situazione possibile in cui l'algoritmo BET2 non va a buon fine. . .	57
4.7	Un'altra situazione possibile in cui l'algoritmo BET2 non va a buon fine. La causa è la discretizzazione della superficie [25]. . .	58
4.8	Risultato finale dell'algoritmo BET2 nelle sezioni trasversale, sagittale e frontale.	59
4.9	Istogramma dell'intensità dei voxel con sovrapposte le gaussiane per ciascuna classe di segmentazione	64
4.10	Risultato finale della segmentazione con l'algoritmo FAST di FSL	68
5.1	Istogramma delle intensità dei voxel sovrapposto alle gaussiane di ciascuna classe.	72
5.2	Mappe probabilistiche a priori utilizzate da SPM.	75

5.3	A sx, mappe probabilistiche a priori per la GM (in alto) e la WM (in basso). A dx, in alto immagine T1 di partenza e segmentazione della GM (al centro) e della WM (in basso). . .	80
6.1	Soggetto n° 17 eliminato: è presente una artefatto ben visibile	82
6.2	Esempio di segmentazione fallita con SPM	84
6.3	Esempio di estrazione del cervello fallita con il BET: è ancora presente il collo.	86
6.4	Pipeline utilizzata per il dataset 1	90
6.5	Insiemi per la valutazione delle performance dell'algoritmo. . .	92
6.6	Dataset 1: sensibilità media con bande di confidenza e valore di riferimento per SPM e FSL [28]	96
6.7	Dataset 1: specificità media con bande di confidenza e valore di riferimento per SPM e FSL [28]	97
6.8	Dataset 1: Istogramma della segmentazione SPM del sogg. n. 1	98
6.9	Dataset 1: Istogramma della segmentazione FSL del sogg. n. 1	99
6.10	Dataset 1: scatter-plot decimato del soggetto n.6, peggiore tra tutti i soggetti.	100
6.11	Dataset 1: scatter-plot decimato del soggetto n. 9, migliore tra tutti i soggetti.	101
6.12	Dataset 2: Scatter-plot decimato del soggetto n. 16, migliore tra tutti i soggetti.	107
6.13	Dataset 2: sensibilità media con bande di confidenza e valore di riferimento per SPM e FSL	109
6.14	Dataset 2: specificità media con bande di confidenza e valore di riferimento per SPM e FSL	110
6.15	Dataset 2: 12 slice raffiguranti la somma normalizzata degli errori FP con segmentazione FSL dei 18 soggetti normalizzati all'atlante di Talairach. I valori sono compresi tra 0 (nero) e 1 (giallo).	111

6.16	Dataset 2: 12 slice raffiguranti la somma normalizzata degli errori FN con segmentazione FSL dei 18 soggetti normalizzati all'atlante di Talairach. I valori sono compresi tra 0 (nero) e 1 (giallo).	112
7.1	Andamento degli istogrammi al variare della probabilità dei voxel della segmentazione DIR del sogg. n° 3 con diversi set di Guassiane.	120
7.2	Andamento degli istogrammi al variare della probabilità dei voxel della segmentazione DIR del sogg. n° 5 con diversi set di Guassiane.	121
7.3	Grafico a barre della sensibilità e specificità per 5 diversi soggetti, utilizzando diversi set di Guassiane, con soglia applicata alla segmentazione DIR di 0.9	122
7.4	Grafico a barre della sensibilità e specificità per 5 diversi soggetti, utilizzando diversi set di Guassiane, con soglia applicata alla segmentazione DIR di 0.05.	123
7.5	Confronto del numero di voxel inclusi nella segmentazione T1 e DIR con soglia 0.05 al variare del set di Guassiane. Ogni soggetto rappresenta un punto nei grafici.	124
7.6	Confronto del numero di voxel inclusi nella segmentazione T1 e DIR con soglia 0.9 al variare del set di Guassiane. Ogni soggetto rappresenta un punto nei grafici.	125
7.7	Esempio di scatter plot per il soggetto n° 5 utilizzando il numero di Guassiane di default.	126
7.8	Grafico a barre della correlazione calcolata per gli scatter plot nei 5 soggetti, al variare dei set di Guassiane.	127
7.9	Media con bande di confidenza degli indici JCM e Dice con diversi set di Guassiane, con soglia DIR=0.9	128
7.10	Media con bande di confidenza degli indici JCM e Dice con diversi set di Guassiane, con soglia DIR=0.05.	129

7.11 Istogramma dei valori dei voxel della segmentazione DIR del sogg n° 2.	133
7.12 Istogramma dei valori dei voxel della segmentazione DIR del sogg n° 3.	134
7.13 Plot del volume segmentazioni DIR (colore verde), con soglia variabile (dall'alto, a sx: 0.10, 0.90, 0.93, 0.95, 0.97, 0.98, 0.99, 1) e T1 con soglia fissa 0.8 (colore blu) per i 10 soggetti. . . .	136
7.14 Plot degli indici VP, FP, FN, media per i 10 soggetti, confron- tando la segmentazione DIR, con soglia variabile, con la T1, presa come riferimento.	136
7.15 Maschera di una slice della segmentazione della GM nel sog- getto n°5 a partire da un'immagine T1 e DIR.	138
7.16 Maschera di una slice della segmentazione della GM nel sog- getto n°10 a partire da un'immagine T1 e DIR.	139
7.17 Valore medio per ciascun soggetto della probabilità dei voxel all'interno delle lesioni inclusi nella GM.	142
7.18 Valore medio per ciascun soggetto della probabilità dei voxel all'interno delle lesioni esclusi dalla GM.	142
7.19 Istogrammi e grafici a barre per voxel inclusi nelle lesioni ap- partenenti o meno alla GM nella segmentazione di immagini T1 e DIR per il soggetto n°5.	144
7.20 Istogrammi e grafici a barre per voxel inclusi nelle lesioni ap- partenenti o meno alla GM nella segmentazione di immagini T1 e DIR per il soggetto n°10.	145
7.21 Immagine DIR con lesione evidenziata in rosso del soggetto n° 4.	147
7.22 Ingrandimento della DIR e lesione interessata di colore rosso,in bianco maschera della lesione e in giallo voxel appartenenti alla GM, WM, CSF e other relativi alla segmentazione su immagini T1 per il soggetto n° 4.	148

7.23	Immagine DIR con lesione evidenziata in rosso del soggetto n° 9.	149
7.24	Ingrandimento della DIR e lesione interessata di colore rosso, in bianco maschera della lesione e in giallo voxel appartenenti alla GM, WM, CSF e other relativi alla segmentazione su immagini T1 per il soggetto n° 9.	150
8.1	FA con media e bande di confidenza per i voxel inclusi all'interno delle lesioni per i 10 soggetti.	152
8.2	FA con media e bande di confidenza per i voxel inclusi all'interno delle lesioni e classificati come GM per i 10 soggetti. . .	152

Elenco delle tabelle

1	Tabella delle abbreviazioni utilizzate.	iii
6.1	Età e Sesso dei 20 soggetti analizzati	83
6.2	Impostazioni della function <i>Normalise: Estimate & Write</i> per la normalizzazione in SPM	85
6.3	Impostazioni della function <i>Segment</i> per la normalizzazione in SPM	87
6.4	Impostazioni della function <i>Deformation</i> per la normalizzazione inversa in SPM	91
6.5	Tabelle della valutazione delle performance dell'algoritmo di segmentazione.	92
6.6	Sensitività e Specificità per le segmentazioni SPM e FSL per ciascun soggetto, con sotto i valori medi e standard deviation.	94
6.7	Dataset 1: coefficiente angolare, intercetta e coefficiente di Correlazione relativi ai scatter-plot SPM-FSL per ogni soggetto, con valori medi e standard deviation.	103
6.8	Dataset 2: Risoluzione delle immagini MR T1 di partenza lungo le tre dimensioni.	104
6.9	Dataset 2: Sensitività e Specificità per le segmentazioni SPM e FSL per ciascun soggetto, con sotto i valori medi e standard deviation. Nota: i valori sono espressi in %.	106

6.10	Dataset 2: Coefficiente angolare, intercetta e coefficiente di Correlazione relativi ai scatter-plot SPM-FSL per ogni soggetto, con valori medi e standard deviation.	108
7.1	Impostazioni della function <i>Coregister</i> per la coregistrazione delle segmentazioni T1 su DIR. I valori sono di default tranne che le immagini in input.	118
7.2	Risultati del confronto tra segmentazione T1 e DIR utilizzando in quest'ultima la soglia 0.05.	131
7.3	Risultati del confronto tra segmentazione T1 e DIR utilizzando in quest'ultima la soglia 0.9.	132
7.4	Coefficiente di Correlazione tra i valori di probabilità delle mappe probabilistiche della GM delle T1 e DIR dei voxel appartenenti alle lesioni.	141
7.5	Valori in percentuale rappresentanti il numero di voxel delle lesioni classificati come appartenenti o meno alla GM per T1 e DIR e la variazione percentuale relativa alla GM.	146