

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

FACOLTÀ DI MEDICINA VETERINARIA

**Corso di laurea specialistica in Medicina Veterinaria
Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie**

Tesi di laurea

*TECNICHE DI SEGMENTAZIONE TRIDIMENSIONALE MEDIANTE
SOFTWARE OPEN SOURCE APPLICATE A SEQUENZE DI IMMAGINI
TOMOGRAFICHE*

Relatore: Prof. Alessandro Zotti
Correlatore: Dott. Calogero Vaccaro

Laureando: Carozzi Gregorio

ANNO ACCADEMICO 2010/2011

INDICE

1. <u>Introduzione</u>	
1.1 Breve storia dell'imaging digitale e della radiologia moderna	5
1.2 Tomografia computerizzata	10
1.3 Risonanza magnetica	17
1.4 Lo standard DICOM	21
1.5 Tecniche di post processing di immagini tomografiche	24
1.6 Applicazioni attuali delle elaborazioni tridimensionali	26
1.7 Considerazioni sulle possibili applicazioni in medicina veterinaria	29
2. <u>Contributo Sperimentale</u>	31
2.1 Introduzione	31
2.2 Materiali e metodi	32
2.2.1 Supporto Macintosh	32
2.2.2 Sistemi di acquisizione	33
2.2.2.1 Tomografia Assiale Computerizzata (TAC)	33
2.2.2.2 Risonanza Magnetica (MR)	34
2.2.3 Software utilizzati	35
2.2.3.1 ImageJ	36
2.2.3.2 ITK-Snap	42
2.2.3.3 Osirix	47
3. <u>Risultati</u>	53
3.1 Ricostruzioni di tessuto osseo	53
3.1.1 Cane, cranio	53
3.1.2 Cane, mandibola	57
3.1.3 Gatto, gomito	61
3.1.4 Cane, articolazione coxo-femorale e sacro-iliaca	64
3.1.5 Cane, articolazione femoro-tibio-rotulea	66
3.1.6 Cane, colonna vertebrale	67

3.1.7 Tartaruga marina (<i>Caretta caretta</i>)	70
3.2 Ricostruzioni di tessuti molli	73
3.3 Ricostruzioni da risonanza magnetica (RM)	77
4. <u>Discussione</u>	84
<u>Bibliografia</u>	89
<u>Ringraziamenti</u>	97

1. INTRODUZIONE

La ricostruzione tridimensionale è oggi pratica comune in medicina, grazie alle applicazioni informatiche in continua evoluzione e alla ormai ampia diffusione delle tecnologie di imaging digitale. Termini come rendering e segmentazione, sono quindi entrati nell'uso quotidiano per chi si occupa di grafica digitale in ambito medico "umano".

Non si può dire lo stesso per la medicina veterinaria, i cui limiti, rappresentati in primo luogo dall'onere delle spese totalmente a carico del proprietario, non consentono allo stato attuale una diffusione altrettanto rapida di tali tecniche.

La maggior parte dei medici veterinari non dispone di mezzi sufficientemente avanzati, dal punto di vista tecnologico, da poter sfruttare tali tecniche in modo pratico. È possibile però, grazie alla creazione e diffusione di software open source come ImageJ, ITK-SNAP o Osirix, elaborare delle immagini bidimensionali, ottenute anche con apparecchi datati e realizzare delle segmentazioni tridimensionali di notevole impatto visivo che potrebbero trovare diverse applicazioni.

Le ricostruzioni così ottenute possono essere utili a confermare una diagnosi, a dimostrarla visivamente in una forma molto più comprensibile a chi non ha familiarità con le immagini medicali, che può essere il proprietario dell'animale-paziente o anche l'allievo veterinario.

Lo scopo di questo lavoro è quindi sfruttare la capacità di calcolo di un personal computer e di software ben concepiti, per supplire a carenze di mezzi diagnostici caratteristiche dell'ambiente dei medici veterinari.

1.1 Breve storia dell'imaging digitale e della radiologia moderna

L'imaging digitale ha una storia relativamente recente. L'utilizzo dei primi calcolatori elettronici in grado di elaborare immagini generate da macchine radiogene, e quindi delle prime immagini radiologiche computerizzate, risale agli inizi degli anni '60. Questo evento segnò il passaggio da una radiologia divenuta di tipo convenzionale, cioè analogica, alla nuova radiologia digitale.

Fondamentalmente i due differenti approcci radiologici si basano, per quanto riguarda l'acquisizione dell'immagine, sul medesimo principio di attenuazione dei raggi X uscenti da un tubo radiogeno.

Ciò che cambia è il tipo di rilevatore che invia le informazioni per la costruzione dell'immagine.

Nella radiologia tradizionale i raggi x impressionano una pellicola fotografica dopo essere stati convertiti in luce dall'interazione con cristalli di ossisolfuro di Gadolinio, le cosiddette "terre rare", con caratteristiche di fluorescenza. I cristalli emettono fotoni luminosi che vanno a impressionare l'emulsione, composta di grani di gelatina con cristalli di alogenuro d'argento, presente sulla pellicola. A questo punto l'immagine è ancora latente, rinchiusa nella cassetta radiografica e, prima di divenire apprezzabile, deve essere inserita in una sviluppatrice all'interno di una camera oscura, in cui, sotto l'effetto di composti chimici allo stato liquido, l'immagine si forma. Il radiogramma così ottenuto viene poi visionato tramite un diafanoscopio.

Nell'ambito della radiologia digitale è fondamentale la conversione dell'informazione dal formato analogico a quello digitale, cioè il segnale deve essere convertito in numeri, nel sistema binario, in modo da essere compreso da un computer. Il passaggio avviene grazie all'analog to digital converter (ADC) (Thrall, 2007).

Uno dei primi vantaggi che possiamo citare è che i sensori digitali consentono di ottenere immagini molto più apprezzabili dall'occhio umano, che ha dei limiti oggettivi di risoluzione.

I sistemi di radiologia digitale richiedono da parte loro una divisione in due gruppi: i sistemi CR (radiologia computerizzata) e i sistemi DR (radiografia digitale diretta).

I sistemi CR sono stati introdotti nel mercato medico nei primi anni '80, dalla Fuji Medical Corporation (Thrall, 2007). L'apparecchiatura consente di ottenere immagini mediche digitali da raggi X, pronte per la diagnosi, utilizzando appositi fosfori "a memoria", che vengono cancellati e riutilizzati per un grande numero di volte.

All'assorbimento di un fotone x, il fosforo passa a uno stato eccitato nel quale rimane, mantenendo così la memoria del fotone e della sua

localizzazione. Tale informazione viene letta illuminando il fosforo con un raggio laser rosso/infrarosso (630-680 nm): tramite il meccanismo dell'emissione stimolata, il cristallo viene portato su uno stato instabile, dal quale decade istantaneamente allo stato fondamentale, emettendo luce a una lunghezza d'onda attorno ai 400 nm. Data la differenza di lunghezza d'onda, è possibile raccogliere solo la luce in uscita dal fosforo, che quindi ripete lo schema di arrivo dei raggi x. Un fotomoltiplicatore raccoglie tale luce, collegandola alla posizione spaziale da cui è uscita; un computer raccoglie le informazioni di posizione e intensità e mostra sul monitor un'immagine dei raggi x che hanno generato il segnale. Da questo momento è possibile mandare in stampa l'immagine, scrivere il referto su un monitor diagnostico, spedire l'immagine all'archivio (PACS), il tutto anche dopo averla elaborata.

I sistemi DR sono stati introdotti dopo i sistemi CR e sono oggi commercializzati per la radiologia sia umana che veterinaria (Thrall, 2007). Sono basati su di un sensore che fornisce in uscita direttamente i dati digitali, senza bisogno di procedimenti intermedi. Questi sensori sono utilizzati nella stessa posizione in cui vengono messi i sistemi analogici basati sul film radiografico o quelli CR, cioè dalla parte opposta al tubo a raggi x in modo da raccogliere il fascio X emergente dal paziente.

Entro breve tempo dall'esposizione (da 5 a 30 secondi), i dati digitali dell'immagine sono spediti lungo un cavo, normalmente una fibra ottica, fino al computer di controllo, che mostra l'immagine appena acquisita. Questa viene poi spedita per l'archiviazione e la refertazione.

Nella radiologia digitale dobbiamo altresì distinguere un tipo di acquisizione diretta e indiretta.

Nel metodo diretto (DR), tramite dei fotoconduttori (ad esempio selenio amorfo), i raggi x vengono trasformati in cariche elettriche (coppie elettrone-buca); il campo elettrico applicato tra le superfici di selenio trasporta gli elettroni verso una matrice di transistor, dove vengono condensati; il metodo indiretto (CR) prevede due passaggi per la rilevazione dei raggi x: prima i fotoni colpiscono uno scintillatore, un materiale capace di emettere impulsi di luce, in genere nello spettro del visibile, quando viene attraversato da fotoni ad alta energia, la luce

emessa viene convertita solo in un secondo momento in cariche elettriche, tramite dei fotodiodi.

In entrambi i casi, le cariche sono raccolte e lette da meccanismi elettronici di lettura (readout) che ne mantengono la loro disposizione spaziale, permettendo la conversione in immagine. Questi meccanismi possono essere rappresentati da diversi tipi di detettori: detettori con pannelli ai fosfori, i CCD (charged coupled devices) ossia rilevatori composti di chip al silicene contenenti pixel sensibili alla luce o ai raggi x, oppure i più recenti TFT (Thin-Film Transistor) che manifestano un'accuratezza maggiore rispetto agli altri. Per darne un'idea dei vantaggi in termini di qualità, basta notare che il Detective Quantum Efficiency (DQE, un indice della qualità del rilevatore basato sulla quantità di rumore che esso introduce nell'immagine) di un sistema di radiologia digitale può anche arrivare al 67%, rispetto ad un sistema tradizionale a fosfori, dove si raggiunge a malapena il 20-25% (Chotas, 1999).

Le principali caratteristiche che differenziano i vari tipi di detettori sono: l'*efficienza*, ovvero la loro capacità di rilevare i fotoni e convertirli in segnali elettrici; la *stabilità*, ovvero la capacità di rispondere in maniera costante a una stessa densità di fotoni che raggiungono il detettore; il *tempo di risposta*, che esprime la velocità con cui il detettore può registrare un fotone e rendersi nuovamente disponibile per la ricezione successiva (Faggioni, 2010).

Le informazioni raccolte riguardanti i valori di carica rilevati vengono convertite in pixel, a cui, in base all'intensità rilevata, viene attribuita una tonalità all'interno di una scala di grigi che va dal nero (minima intensità) al bianco (massima intensità). I dati sono poi inviati via fibra ottica al computer che ricostruisce l'immagine.

La radiologia digitale presenta in sé numerosi vantaggi rispetto al sistema tradizionale. Primo tra tutti il vantaggio di archiviare, recuperare e spedire le immagini radiologiche in modo sicuro, risparmiando spazio, tempo e minimizzando i rischi di smarrimento. I sistemi digitali possiedono una caratteristica fondamentale che è la loro dinamicità, con un'elevata possibilità di manipolazione, per cui eventuali errori di esposizione, sempre possibili in radiologia, portano comunque a un'immagine

utilizzabile per la diagnosi, mentre per i sistemi convenzionali un errore significa sottoporre il paziente a un'ulteriore esposizione. La manipolazione dell'immagine permette di ricavare da una stessa immagine diverse informazioni.

Le caratteristiche della radiologia digitale sono però a scapito della risoluzione spaziale, poiché l'unità d'immagine rappresentata dal pixel, è un quadrato che può andare da 30 μm a 200 μm . Nella radiografia tradizionale l'unità d'immagine, il punto, è il cristallo di bromuro d'argento della pellicola radiografica che ha un diametro di 2 μm , nettamente inferiore e quindi conferisce all'immagine una risoluzione maggiore. Questo comporta che nella radiologia digitale ci sia una certa perdita d'informazioni spaziali, anche se l'occhio umano non è in grado di apprezzare tale differenza in condizioni normali di osservazione, rendendo i due metodi confrontabili.

Vantaggi e svantaggi della radiologia digitale

I rilevatori elettronici hanno vari vantaggi rispetto alle pellicole in termini di riduzione delle esposizioni, eliminazione dei processi chimici, fruibilità istantanea e immagini in tempo reale, elaborazione dell'immagine, comodità d'immagazzinamento, possibilità di creare gruppi di consultazione e discussione tra esperti a distanza (telemedicina) tramite la trasmissione via internet dei casi.

I principali svantaggi includono la rigidità e lo spessore dei sensori, la diminuzione della risoluzione, l'elevato costo iniziale, la durata imprecisa dei rilevatori e la potenziale perdita d'informazioni, in quanto se l'immagine viene riconvertita in analogico si otterrà un'immagine simile ma non identica a quella analogica di partenza perché è stata campionata e quantizzata, in poche parole diventa un'approssimazione anche se molto fedele all'originale (Thrall, 2007). Il controllo delle infezioni rappresenta un altro inconveniente per i clinici che usano l'imaging digitale, in quanto i sensori non possono essere sterilizzati, quindi devono essere coperti, protetti e ci si deve assicurare che la protezione non venga danneggiata durante le procedure di acquisizione.

1.2 Tomografia Computerizzata

L'evoluzione della diagnostica radiologica, cioè mediante impiego di raggi X, portò nel tempo alla realizzazione di apparecchiature sempre più complesse come i tomografi.

Le prime tomografie assiali computerizzate, le cosiddette TAC, si basano sui principi tracciati da Godfrey Newbold Hounsfield e Allan MacLeod Cormack, che risalgono al secolo scorso; entrambi ricevettero il Premio Nobel alla Medicina per le loro scoperte. Da allora l'impiego delle immagini digitali ha guadagnato sempre più spazio coinvolgendo i più diversi ambiti della diagnostica.

Anno	Evento *
1917	Radon formula i principi matematici per la ricostruzione delle immagini CT
1963	Cormack descrive una metodica per il calcolo della distribuzione dell'attenuazione dei tessuti del corpo umano
1972	Hounsfield effettua i primi esami CT su encefalo
1975	Prima CT total body
1979	Hounsfield e Cormack ricevono il premio Nobel per la scoperta della CT
1989	Tecnologia di acquisizione spirale
1998	Primi scanner CT multistrato (4 strati)
2001	CT a 16 strati
2004	CT a 64 strati
2007/2008	CT a 128-256 strati
2009	CT a 320 strati

*(Faggioni *et al.*, 2010)

Per la formazione dell'immagine la tecnica tomografica (dal greco tomos: taglio) richiede l'uso di un computer per acquisire i dati dei rilevatori e utilizzarli per ricostruire l'immagine in 2D secondo una scala di grigi nei diversi piani dello spazio (trasversale, sagittale, coronale). Le immagini che si ricavano sono una serie di sottili sezioni trasversali (slices) della regione del corpo analizzata lungo l'asse desiderato. La tomografia è divisa in due campi d'indagine in base al tipo di radiazione impiegata: tomografia a trasmissione, che utilizza raggi X (CT) e la tomografia a emissione, nel campo della medicina nucleare (PET e SPECT) che sfruttano l'emissione di positroni.

In medicina veterinaria la più utilizzata tra le due è la tecnica a trasmissione. La tomografia computerizzata (CT) inizia a essere impiegata

in medicina veterinaria da metà degli anni '70 inizialmente per la diagnosi di patologie intracraniche (Gavin e Bagley, 2009).

La macchina per la rilevazione è composta di una sorgente di raggi X che ruota attorno al paziente; le radiazioni emesse vengono misurate da un sistema di detettori (piccole camere di ionizzazione) ad ogni grado di rotazione, in modo da ottenere una serie di profili di attenuazione dei raggi della sezione esaminata. I dati sono poi trasmessi a un calcolatore che, tramite complesse formule matematiche, rielabora i dati in pixel di diversa intensità e dimensione che insieme formano un'immagine composta da diversi toni di grigio in base alla densità relativa dei vari organi.

Il principio è simile a quello della radiografia, raggi emessi dal tubo radiogeno passano attraverso il paziente o vengono attenuati, il risultato è un'immagine del paziente secondo dei profili di attenuazione delle radiazioni, ma con il vantaggio di non avere sovrapposizioni tra le diverse strutture. Le varie sezioni vengono poi unificate in modo tale da poter essere visualizzate in modo scorrevole. Sta poi al medico che le osserva ricostruire mentalmente l'organo nella sua interezza, in quanto si sta parlando comunque di immagini in due dimensioni. La tecnica di ricostruzione tridimensionale mette in atto questo passaggio, fornendo una rappresentazione concreta ed esplorabile del corpo del paziente.

In linea generale possiamo ricordare quelle che sono le componenti principali di un'apparecchiatura CT:

- il complesso di scansione rappresentato da un tubo radiogeno e dai detettori, posizionati all'interno del gantry;
- il lettino porta-paziente, che si muove consensualmente alla rotazione del gantry durante la fase di acquisizione;
- il sistema di iniezione del mezzo di contrasto;
- la console di comando, dove vengono impostati i parametri di acquisizione e visualizzate le immagini ricostruite;
- la stazione di elaborazione dove vengono eseguite le ricostruzioni bidimensionali e tridimensionali della immagini acquisite (Neri *et al.*, 2008).

Insieme allo sviluppo di nuove tecniche si è accresciuto il progresso delle macchine e degli strumenti che, in modo diretto o indiretto, hanno permesso di ottenere immagini sempre più dettagliate e in tempi rapidi (le

prime TAC avevano tempi di scansione di diverse ore).

Oggi i tomografi sono classificati per “generazioni” in base alla geometria del complesso tubo-detettori:

1. Tomografo di I generazione: emissione di un fascio a raggi x a geometria lineare; il tubo radiogeno e il detettore si muovevano in modo solidale secondo movimenti di traslazione e di rotazione. Il tempo di esecuzione dello studio era nell'ordine dei minuti.

2. Tomografo di II generazione: il fascio a raggi x ha una geometria a ventaglio di $20 - 30^\circ$, connesso con un gruppo di 20- 30 detettori, che acquisivano con movimenti di traslazione e rotazione. Il tempo di esecuzione era ridotto a 15-30 secondi.

3. Tomografo di III generazione impiega un fascio di raggi x a ventaglio di $30-50^\circ$ che possono comprendere tutta la sezione corporea in esame, eliminando il movimento di traslazione, i detettori sono nell'ordine di 300-800, disposti ad arco, contrapposti al tubo radiogeno e solidali con esso, che compiono una rotazione completa attorno al paziente in 1-4 secondi. Nei primi modelli, a una rotazione ne seguiva un'altra nel senso inverso, in modo che i cavi di alimentazione ritornassero nella posizione di partenza, senza attorcigliarsi. Tale metodica obbligava all'acquisizione di un solo strato alla volta.

4. Tomografi di IV generazione: stazionari, formati da un grande numero di detettori fissi (600-1200), disposti a corona intorno al paziente, il tubo radiogeno ruota mentre i detettori rimangono fissi. Avevano costi molto elevati che ne limitavano la diffusione.

I tomografi moderni sono evoluzioni di quelli di terza generazione. La loro caratteristica fondamentale risiede nel fatto che l'acquisizione non è più assiale ma spirale.

Come suggerisce il vecchio acronimo, l'acquisizione della TAC è di tipo assiale, cioè l'avanzamento del lettino dove si trova il paziente avviene tra una scansione e l'altra. Nella TAC spirale e multistrato, il movimento del lettino, del tubo radiogeno e dei detettori è continuo, questo è possibile grazie al fatto che il complesso tubo detettori sono montati su un anello rotante che si alimenta a “contatti striscianti”, senza più il problema dei cavi che si attorcigliano. Questa metodica consente l'acquisizione delle

immagini in modo continuo: mentre il tavolo che porta il paziente si muove su un piano di scorrimento, i piani di scansione descrivono un'elica attorno al paziente, ottenendo una scansione a spirale. I tomografi spiroidei più comuni compiono una rotazione in circa un secondo e consentono un'acquisizione completa (total body) in 40 secondi/ un minuto: questa avviene in un'unica apnea, riducendo gli artefatti di movimento del paziente. I moderni tomografi multistrato possono impiegare anche solo pochi secondi, ottenendo decine di scansioni per ogni singola rotazione. Tomografi super veloci possono consentire lo studio del cuore, permettendo di esaminare anche il fattore tempo, la cosiddetta quarta dimensione. Quindi il termine TAC, nell'odierna diagnostica per immagini è ormai superato perché le moderne metodiche permettono scansioni trasversali e ricostruzioni delle immagini su ogni piano e non solo su quello assiale. L'acronimo TAC deve essere sostituito con il più moderno CT (Computed Tomography).

L'immagine che si ottiene da uno studio tomografico contiene un'informazione in più rispetto a quella ottenuta da un semplice radiogramma a due dimensioni. Infatti l'unità fondamentale di un set di dati TAC non è più il pixel (picture element), ma il voxel (volume element) che descrive anche la caratteristica di profondità dei singoli elementi e corrisponde alla profondità della slice, il valore S che viene indicato nei protocolli visualizzati. Le dimensioni di questo voxel dipendono dalla matrice, dal campo di vista (FOV) e dallo spessore della sezione. Queste informazioni sono contenute nel file DICOM che contiene le informazioni relative all'immagine e molte altre informazioni che riguardano le modalità di acquisizione, il medico che le acquisisce e l'identità del paziente.

Nella maggior parte delle indagini CT il voxel ha una forma allungata a parallelepipedo, in cui lo spessore misurato lungo l'asse z del piano cartesiano è 10- 20 volte maggiore rispetto alla sezione del piano x-y. In questo caso si parla di voxel anisotropi, cioè a morfologia non uniforme. Per diminuirli si dovrebbe ridurre lo spessore dello strato così da ottenere voxel isotropici cioè a morfologia cubica, possibile con le moderne CT multistrato (Prokop e Galanski, 2006).

A un voxel possono essere attribuiti diversi valori a cui corrispondono

svariate proprietà. Negli studi CT i valori di un voxel corrispondono alle unità Hounsfield (o numeri CT) le quali indicano il grado di attenuazione del fascio di raggi X. Questa scala fu elaborata dallo stesso Hounsfield adattando i coefficienti di attenuazione lineare (μ) dei fasci che attraversavano il corpo del paziente al proprio scanner, per ridurre la dipendenza dall'energia della radiazione e per ottenere valori numerici di grandezza più adeguata. Il numero CT è definito come segue (Prokop e Galanski, 2006):

$$CT = 1000 \times (\mu - \mu_{\text{acqua}}) / \mu_{\text{acqua}}$$

In questa scala il valore 0 corrisponde all'unità Hounsfield (H) dell'attenuazione dell'acqua distillata, mentre -1000 H è quello dell'aria. Si noti che non è prestabilito un valore massimo della scala, poiché dipende dall'apparecchio in base al numero di bit per pixel (Prokop e Galanski, 2006). Nella tabella sono riportati i numeri di Hounsfield di elementi anatomici e di materiali costituenti un fantoccio di prova.

Osso	200/1000 o maggiore*
Teflon	950
Delrin	365
Bakelite	264
Perspex	125
Lexan	105
Nylon	89
Tessuto denso tumorale	50/90
Sangue coagulato	55/75
Materia grigia	36/46
Materia bianca	22/32
Sangue	12
Acqua	0
Polystyrene	-28
Grasso	-100
Aria	-1000

*strutture ossee di mammiferi marini possono arrivare a valori ben superiori a 1000 H. (Zotti et al., 2009).

L'occhio umano può distinguere solo un numero limitato di livelli di grigio (circa da 20 a 40 a seconda delle condizioni ambientali). Di conseguenza

se venisse rappresentata tutta la scala completa (oltre 2000 tonalità di grigio) le piccole variazioni di densità non sarebbero apprezzabili. Pertanto la scala di valori CT percepita viene raccolta in un intervallo più ristretto, la cosiddetta *finestra elettronica*. Essa è correlata al contrasto e luminosità dell'immagine. È determinata stabilendo una sua ampiezza (*Window width*) e un suo centro (*Window level*) che corrisponde alla tonalità di grigio media.

La conoscenza della scala Hounsfield è molto importante, non solo per la diagnosi di condizioni patologiche, ma anche da un punto di vista tecnico per la generazione di modelli tridimensionali (Neri, 2008). Le elaborazioni d'immagini più complesse si basano infatti sulla diversa densità dei tessuti e il loro diverso valore di unità Hounsfield, che permettono di isolare selettivamente e ricostruire una certa struttura anatomica escludendo quelle non desiderate.

Le strumentazioni CT sono prodotte da diverse case produttrici, ognuna delle quali fornisce in dotazione software proprietari per la gestione delle immagini e la loro ricostruzione. Con la diffusione, negli anni '80, dei sistemi digitali in campo ospedaliero, vennero messi a punto i primi sistemi informativi per la gestione delle immagini medicali, Imaging Management System (IMS), in grado di connettere le strumentazioni di una stessa struttura ospedaliera. Purtroppo i software forniti dalle case produttrici non erano compatibili con quelli di altre case, limitando la circolazione e la fruibilità dei dati da parte di altre strutture. Le potenzialità mostrate dai primi sistemi, però, in concomitanza con la crescente diffusione delle tecnologie digitali, fecero emergere la necessità di codificare (standardizzare) il formato delle immagini mediche in modo da realizzare sistemi aperti senza dover necessariamente adottare gli standard specifici previsti dalle diverse case produttrici. In quest'ambito si inseriscono le proposte di varie software-house di introdurre programmi open-source in grado di connettere sistemi di produttori differenti funzionanti su hardware commerciali (Pontiggia, 1997) e la rivoluzionaria introduzione dello standard DICOM, che verrà spiegato nel capitolo successivo.

Quindi il concetto fondamentale è che una buona strumentazione non deve avere solo delle buone caratteristiche fisiche e un efficace impiego

clinico ma che si deve iniziare a prendere in considerazione anche le caratteristiche informatiche d'interoperabilità, semplicità d'uso e connettività (Channin, 2003), che rendono possibile l'applicazione di una medicina informatizzata (Electronical medical record-EMR).

Fino ad ora questo percorso è stato frenato da tre ostacoli, rappresentati da: i costi eccessivi di sviluppo, licenze e software; la transitorietà delle case produttrici; la mancanza d'interoperabilità e di dati standardizzati (Kantor *et al.*, 2003). I sistemi open-source permettono di ridurre questi ostacoli abbattendo i costi di sviluppo, annullando i costi delle licenze e favorendo un aggiornamento più rapido dei software. È pensiero comune che se le stesse case produttrici adottassero questo paradigma, si verrebbero a creare nuove risorse che potrebbero essere ridirette verso i servizi al consumatore, la formazione degli utenti e verso un progresso più rapido dei programmi.

Eliminare la transitorietà delle case produttrici significa evitare quel fenomeno di lock-in, cioè di dipendenza dell'utente dal fornitore del prodotto che in caso di chiusura dell'azienda costringerebbe il consumatore ad abbandonare quel prodotto e rivolgersi ad un'altra azienda e a un altro prodotto. L'open-source evita che si crei questa dipendenza da un unico distributore, permettendo al cliente di mantenere il proprio sistema EMR appoggiandosi a un'altra compagnia (Kantor *et al.*, 2003).

L'impatto dell'open-source in medicina è molto importante perchè il progresso tecnologico non si trova più a essere legato alle logiche di mercato. Una casa produttrice indirizza la sua produzione dove vi sono una domanda e un'utenza maggiori. Nel campo medico, in un settore specializzato come quello della diagnostica per immagini, le case produttrici attingono da un bacino d'utenza di dimensioni non elevate ma con precise aspettative dal punto di vista delle performance e della fruibilità del prodotto. Questo ha guidato il mercato verso lo sviluppo di prodotti di fascia economica piuttosto elevata che pochi centri possono permettersi. Oltretutto la rapida evoluzione della tecnologia informatica rende obsoleti molti prodotti in breve tempo riducendo il ritorno degli investimenti.

La ricerca è ovviamente finalizzata all'impiego e studio di nuove tecniche in campo umano, così che in ambito veterinario l'utilizzo di queste viene recepito e sfruttato in modo differito, soprattutto a causa dell'onere finanziario che l'acquisto e la manutenzione di certi macchinari, come una macchina per la tomografia computerizzata, comportano e che pochi, se non pochissimi, riescono a sostenere. Questo porta come conseguenza che i costi di una prestazione specialistica, come uno studio CT, arrivano a livelli che possono mettere in difficoltà molti proprietari di animali. Ora non si ritiene questa la sede per approfondire un argomento molto spinoso che divide le associazioni di veterinari libero professionisti, come la possibilità o meno di rendere mutuabili anche le prestazioni veterinarie, ma si prende semplicemente atto che, al momento, molti cittadini che si recano dal veterinario devono limitare le possibilità d'indagine e terapia in base alle proprie disponibilità economiche. Purtroppo, al momento, è improbabile, che il servizio sanitario nazionale possa farsi carico di una mutua per gli animali da compagnia, anche se in un disegno di legge del 2008 è prevista una convenzione con le strutture private e un'esenzione per proprietari già esentati per motivi di reddito.

1.3 Risonanza Magnetica (MR)

1.3.1 Introduzione

Questa tecnica d'indagine rientra nell'ambito della medicina nucleare, l'aggettivo si riferisce al fatto che mentre nelle tecniche di imaging radiologico la densità radiografica è data dall'interazione dei raggi x con gli orbitali dell'atomo, nella risonanza magnetica la densità è legata alle caratteristiche del nucleo, in particolare alla presenza in alcuni elementi di protoni dispari (H, C, Na e F).

Non usando radiazioni ionizzanti (raggi X), la MR è considerata, attualmente, meno dannosa. Le informazioni che se ne ricavano sono di natura diversa rispetto alle altre tecniche d'imaging, perché distingue i diversi tessuti in base alla loro natura biochimica. È infatti possibile distinguere il tessuto epatico dallo splenico (in una CT hanno la stessa radio densità), o i tessuti sani dai patologici, per questo la risonanza permette di indagare anche la presenza di processi patologici in atto al

momento dell'acquisizione. Le immagini che a prima vista appaiono simili a quelle ricavate con la CT, si differenziano, a grandi linee, per il fatto che i tessuti molto radiodensi, come il tessuto osseo, nella CT appaiono “bianchi” mentre nella MR appaiono “neri”. L'indagine MR, grazie a queste sue caratteristiche è utilizzata, principalmente, per lo studio di tessuti molli. Riassumendo i principali vantaggi di questa tecnica sono (Rummeny *et al.*, 2008):

- assenza di radiazioni ionizzanti, che garantisce una maggior sicurezza per il paziente e per l'operatore;
- orientamento libero degli strati o vera tecnica tridimensionale con la possibilità di eseguire scansioni nei tre piani dello spazio (sagittale, trasversale e dorsale);
- informazioni morfologiche, metaboliche e funzionali dei tessuti, in particolare dei tessuti molli.

1.3.2 Storia

Il fenomeno della risonanza fu scoperto da Felix Bloch e Edward Purcell durante i loro studi sui protoni, nel 1946. Per questa scoperta nel 1952 ricevettero il premio Nobel per la fisica. Tra gli anni '50 e '70 venne utilizzata soprattutto per l'analisi chimica molecolare dei materiali. Negli anni 50 Hermann Carr dichiarò di essere riuscito ad ottenere una proiezione monodimensionale con una tecnica di risonanza magnetica. Nel 1971 Raymond Vahan Damadian descrisse come i tumori e tessuti sani rispondano in modo diverso se analizzati con la MR, da qui il suggerimento per l'utilizzo nella diagnosi dei tumori. Anche la sua teoria dimostrò diverse pecche e una scarsa applicabilità in campo pratico, la sua idea stimolò il chimico statunitense Paul Lauterbur, che, nel 1973, migliorò la tecnica di Carr e sviluppò un metodo per generare le prime immagini di risonanza 2D e 3D (htt7). L'idea venne perfezionata da Peter Mansfield che permise di effettuare le scansioni in pochi secondi e di ottenere immagini più dettagliate. Sia Lauterbur che Mansfield nel 2003 ricevettero il premio Nobel per la medicina grazie ai loro studi sugli effetti biologici dei campi magnetici che hanno reso possibile lo sviluppo delle MRI (magnetic resonance imaging) (Rummeny *et al.*, 2008).

1.3.3 Principi Fisici

Un nucleo è composto da protoni e neutroni (nucleoni), entrambi hanno una loro rotazione o spin. I protoni ruotando su sé stessi, avendo carica positiva, si comportano come dei piccoli magneti diventando un dipolo magnetico e di conseguenza creano un campo magnetico. La grandezza di questo campo dipende dalla velocità di rotazione e grandezza della carica.

La MRI visualizza i nuclei degli atomi di Idrogeno che entrano in risonanza. L'idrogeno ha una carica molto piccola ma uno spin molto veloce. Essendo un elemento molto presente negli organismi viventi la somma di questi movimenti magnetici genera un campo magnetico rilevabile (Gavin e Bagley, 2009).

La forza del campo magnetico è misurata in Tesla (T) o Gauss (G). Un T è uguale a 10.000 G.

Quando gli atomi di Idrogeno, che hanno spin orientati in diverse direzioni vengono, immersi in un campo magnetico abbastanza potente, orientano il proprio asse di rotazione, parallelamente alla direzione del campo magnetico secondo due direzioni preferenziali: concorde, cioè secondo la direzione del campo esterno, o discorde, nel senso opposto. Quelli concordi sono lievemente in numero maggiore rispetto a quelli discordi e hanno energia minore. All'interno del campo magnetico gli atomi oltre al movimento di spin assumono un movimento di precessione attorno al loro asse, cioè è come se l'asse principale si muovesse sulla superficie di due coni i cui vertici si toccano. La frequenza di precessione (la frequenza con cui il vettore gira attorno al proprio asse) è definita come frequenza di Larmor.

Quando il campo magnetico viene perturbato da una radiofrequenza, variabile nel tempo, i protoni assorbono energia e passano ad un livello energetico maggiore. Il vettore dello spin si sposta di una distanza proporzionale all'onda della radiofrequenza (Gavin e Bagley, 2009). Dopo un certo periodo di tempo il vettore di magnetizzazione può ruotare di 90° e trovarsi quindi trasversalmente al campo magnetico. In questa posizione non è rilevata nessuna magnetizzazione. Quando si sospende la trasmissione della radio frequenza, si ha il ritorno allo stato energetico

iniziale, definito come rilassamento T1. Quando gli spin che si trovano a un livello energetico elevato e quelli a un livello energetico più basso scambiano energia, si parla invece di rilassamento T2, o rilassamento spin-spin. Quando i protoni ritornano allo stato non eccitato, emettono energia così da poterne ricavare informazioni utili su quantità e qualità (http8). Le immagini pesate in T1 sono valide per lo studio dei dettagli anatomici, in associazione con mezzi di contrasto paramagnetici che si distribuiscono maggiormente nei tessuti più vascolarizzati, sia per natura che per cause patologiche. Le immagini pesate in T2 fanno risaltare particolarmente bene siero, acqua e liquido cefalorachidiano, mostrandoli come iperintensi (nelle immagini in T1, sono al contrario ipointensi) e vengono utilizzate prevalentemente per la ricerca di edemi associati a particolari lesioni.

L'immagine computerizzata, risultato dell'applicazione di formule molto complesse, è in sostanza una mappa della densità protonica dei diversi tessuti corporei. Per ogni scansione si possono ottenere immagini diverse. Le più usate sono quelle pesate in T1, per lo studio dei dettagli anatomici, pesate in T2, per lo studio dei processi patologici in atto, e le immagini in T1 dopo l'iniezione di un mezzo di contrasto paramagnetico (Gadolinio), che supera la barriera emato-encefalica se non è integra.

Un'apparecchiatura MR è in sostanza costituita da (Campurra, 2008):

- Un magnete permanente con campo magnetico statico o, nelle macchine più moderne, da un superconduttore, che genera il campo magnetico;
- Sistemi di schermatura per isolare il magnete da fonti esterne di onde elettromagnetiche che potrebbero perturbare l'esame. Il magnete deve essere inserito all'interno di quella che viene definita gabbia di Faraday, realizzata in materiale elettricamente conduttore;
- Sistemi di guida del campo magnetico sul substrato da esaminare;
- Un generatore di radiofrequenza;
- Sistemi di rilevazione del segnale;
- Strumenti hardware e software per l'elaborazione dei segnali e la loro traduzione in immagini interpretabili.

I confini della gabbia di Faraday coincidono di solito con quelli della sala

magnete. In questo senso acquista ancora maggiore importanza la preparazione degli ambienti per accogliere l'apparecchiatura.

Nel nostro paese in medicina veterinaria, all'oggi sono impiegati solamente magneti permanenti, con macchine di tipo aperto, cioè, in luogo del tradizionale tunnel, il paziente è sdraiato su un lettino tra due piastre metalliche, oppure, in alternativa, nel caso di animali di grosse dimensioni (es. cavalli) su di una barella amagnetica con l'estremità da indagare (arti o testa) posta sotto il magnete (Campanella *et al.*, 2011).

Finora l'impiego della risonanza magnetica non era mai stato disciplinato a causa della scarsa diffusione di queste apparecchiature nel settore veterinario. Negli ultimi anni si è comunque assistito a un lento progredire della loro diffusione, tant'è che un gruppo di ricerca ha definito le criticità di questa tecnica ed elaborato una strategia e un approccio metodologico improntati a ragionevoli criteri di sicurezza cui le cliniche veterinarie, che ospitano queste macchine, dovrebbe attenersi (Campanella *et al.*, 2011).

1.4 Standard DICOM

Lo standard DICOM (Digital Imaging and Communication in Medicine - Immagini e comunicazione digitali in medicina) definisce i criteri per la comunicazione, la visualizzazione, l'archiviazione e la stampa di immagini medicali ed altre informazioni di tipo biomedico. Il formato DICOM nasce ufficialmente nel 1993 dalla collaborazione tra ACR (American College of Radiology), responsabile dello sviluppo tecnico-medico del sistema, e il NEMA (National Electrical Manufacturers Association), collaborazione spinta dalla necessità di fornire uno standard (cioè un insieme di regole) per la comunicazione tra apparecchiature diverse (macchine per acquisizione, stampanti, archivi digitali, etc.), le quali utilizzavano hardware e software dedicati alla gestione dell'immagine medica incompatibili tra loro, problema, come abbiamo visto, legato alle diverse scelte aziendali delle varie case costruttrici. Lo standard si basa sul protocollo di rete TCP/IP (Transfert Control Protocol/Internet protocol) per comunicare tra i vari sistemi, che rappresenta uno standard ormai molto diffuso che consente il trasferimento d'immagini e dati a prescindere dal mezzo fisico di trasmissione in modo efficiente e coordinato, sia a livello

locale, che su rete metropolitana (MAN) o geografica (WAN). A livello di applicazione utilizza il modello ISO/OSI, comune a tutte le architetture di rete.

L'innovazione di questo nuovo formato consisteva per l'appunto nel rendere accessibili e trasmissibili informazioni diverse a diversi operatori, sfruttando la tecnologia della rete internet.

Questo ha fatto sì che il DICOM sia oggi tra i formati più utilizzati in numerosi campi della medicina e diagnostica per immagini.

Ma che cos'è in realtà "un DICOM"?

Un file DICOM nel suo complesso può essere visto come un contenitore che racchiude non solo un'immagine rappresentata da pixel e colori, ma anche un insieme di dati che classificano ed identificano l'immagine e il modo in cui la si è ottenuta. In sostanza un DICOM è composto da un'intestazione (header) e da un corpo dati proprio dell'immagine (image data). L'header contiene tutte le informazioni riguardanti il caso in esame, che comprendono l'anagrafica del paziente (nome, razza, età, sesso,...), il nome del medico referente, la tecnica di acquisizione, l'orientamento del paziente, la dimensione dell'immagine e molti altri dati; tutti questi attributi sono organizzati in gruppi e vanno a formare l'*Informative Objects*. Ciascun gruppo risulta quindi essere la rappresentazione virtuale di un'entità fisica, corredato di informazioni specifiche, ad esempio, come accennato in precedenza, possiamo avere il gruppo relativo al paziente, allo studio (medico referente, tipo di acquisizione, data, ora, etc.) o all'immagine.

L'image data contiene tutti gli attributi relativi all'immagine (numero di pixel, profondità, formato bitmap, jpeg, gif, etc.) e può contenere una o più immagini. Ogni attributo è come un mattone ed è identificato da un insieme di campi: un nome univoco, un tag univoco, una descrizione semantica, una *Rappresentazione del valore* e una *Molteplicità del valore*.

Il *nome* identifica l'attributo; il *tag* serve per rendere riconoscibile nel linguaggio informatico l'attributo assegnandogli 2 numeri di 4 cifre ciascuno, separati da una virgola e racchiusi tra parentesi tonde (ad es. (0010,0020) identifica l'ID Paziente), questi vengono nominati come *numero di gruppo* e *numero di elemento*; la *descrizione* è una frase che

definisce il contenuto dell'attributo. Il campo *rappresentazione del valore* (costituito da due caratteri) specifica il tipo di dato e il formato del valore rappresentato nell'attributo. Il campo *molteplicità del valore* indica il numero di valori contenuti nell'attributo, può indicare anche una quantità variabile, ad esempio "1-10" indica che nell'attributo ci possono essere valori da 1 a 10.

I dati grezzi che compongono l'immagine (*raw data*) rappresentano le informazioni proprie dell'immagine acquisita, espresse in codice binario e racchiuse in un file. Sono definiti dati grezzi perché non sono ancora stati processati. Normalmente i dati sono elaborati tramite un raw converter che li converte in formato TIFF, JPEG o altri formati convenzionali. Questo processo di conversione può essere considerato, in un certo senso, simile al processo di sviluppo di una pellicola. Quando si sviluppa una pellicola un processo chimico trasforma la luce catturata dai cristalli in un'immagine, quando si elaborano dei raw data il processo di sviluppo avviene in modalità digitale. Il raw data può essere mantenuto come dato non processato all'interno degli hard disk del sistema di acquisizione, come raw data a cui viene applicato un filtro che rende l'immagine valutabile nella workstation o come dato processato.

La differenza tra i raw data e il DICOM è sostanziale. Il grosso limite dei raw data è che possono essere visualizzati solamente tramite il software fornito dalla casa produttrice. Lo standard DICOM è servito proprio per evitare questo e rendere fruibili le immagini anche in contesti differenti.

Nel nostro caso le immagini di partenza rispettano lo standard DICOM, ma contengono dati incompleti e questo ha rappresentato uno degli ostacoli maggiori da superare per approdare a delle ricostruzioni soddisfacenti.

L'età dell'apparecchiatura utilizzata in questo studio e le caratteristiche dei supporti magnetici che essa utilizza impediscono di fatto il recupero dei dati grezzi (raw data) e il software utilizzato dalla console Philips non prevede la possibilità di convertire direttamente i raw data in formato DICOM. Per questa ragione è necessario utilizzare un software esterno (Microprint) che acquisisce via cavo delle istantanee (screenshot) dalla scheda video della console e crea dei file DICOM da ogni singola scansione. I file ottenuti, tuttavia, mancano di alcune informazioni

fondamentali, come la profondità delle sezioni (slices) e la dimensione del campo di scansione (field of view-FOV). Queste informazioni possono, fortunatamente, essere ricavate dalle sovrimpressioni presenti negli screenshot.

Un altro grosso limite è rappresentato dal fatto che le impostazioni di window level rimangono quelle scelte in console prima dell'acquisizione e non possono più essere modificate in seguito. A parte questo, l'acquisizione con Microprint risolve comunque l'esigenza primaria, che rimane quella di esportare efficacemente le immagini in formato DICOM, leggibile con i comuni software di visualizzazione.

1.5 Tecniche di post processing d'immagini tomografiche

Per meglio orientarsi e comprendere quanto verrà in seguito trattato è bene fare una breve introduzione sulle diverse tecniche di elaborazione delle immagini acquisite da uno studio tomografico. Queste tecniche offrono la possibilità di ottenere dalle immagini informazioni utili ed evidenti e ne propongono un utilizzo alternativo oltre a quello diagnostico, come possono essere gli studi anatomici o funzionali condotti su apparati o strutture poco esplorabili.

Le tecniche di ricostruzione sono il risultato dell'applicazione di algoritmi matematici a dati ottenuti da studi di diagnostica per immagini (CT, MRI, PET/CT, ecografie). Si passa dalle tecniche più semplici, quelle bidimensionali, fino ad arrivare alle ricostruzioni più avanzate e complesse di tipo tridimensionale.

Le tecniche bidimensionali sono: la Multiplanar reconstruction (MPR), la Maximum intensity projection (MIP) e la Minimum intensity projection (MinIP).

La MPR è la tecnica più semplice, ancora oggi molto usata, che da un insieme di immagini (stack) assiali ricava le altre proiezioni, ortogonali alla precedente, in modo tale che il volume esaminato può essere indagato non solo nelle sezioni trasversali ma anche in quelle sagittale e coronale. Poiché alcuni organi non sono apprezzabili in modo completo nelle sezioni ortogonali i moderni software permettono delle visualizzazioni oblique molto utili nell'imaging cardiaco, epatico e pancreatico dove sono

necessarie la visualizzazione di vasi e dotti ad andamento tortuoso. Oltre a questa variante della MPR esiste anche il *Curved Reformats*, in cui il piano dell'immagine segue l'andamento di un organo nella sua interezza, utile per strutture curve, come una mandibola, o strutture tubulari tortuose, dotti o vasi. Di solito è definita manualmente ma alcune workstation possiedono software proprietari che riproducono il percorso dell'arteria tracciando una linea centrale al vaso e mostrando la deformazione attorno a questo asse. La MIP è simile alla MPR ma mostra solamente i voxel di strutture ad elevato coefficiente d'attenuazione, poste lungo un fascio, ideale, diretto dal punto di osservazione al piano di proiezione, quindi è come se alcune parti dell'oggetto diventassero trasparenti ponendo in primo piano gli elementi iperdensi all'interno di un volume indipendentemente dalla loro posizione (Perandini *et al.*, 2010). Le sue applicazioni riguardano principalmente gli studi angiografici da CT e MR. Questa tecnica è molto utile anche nella pratica quotidiana per individuare piccoli noduli polmonari (Perandini *et al.*, 2010). È stato dimostrato, però, che diverse versioni dell'algoritmo danno risultati diversi, quindi selezionando i voxel più radiodensi si possono creare degli artefatti, oppure può accadere che materiali iperdensi, come calcificazioni o ossa, possano ostacolare la visualizzazione dei vasi (Schreiner *et al.*, 1996). Lo svantaggio principale di questa tecnica, la mancanza di profondità, è stato migliorato sovrapponendo le diverse slice in MIP, in questo modo si ricostruisce il volume e si dà l'idea della profondità. I software possono poi creare un animazione in cui prima vengono calcolati i possibili punti di vista, che sono praticamente infiniti, poi vengono sommati insieme per dare un effetto tridimensionale all'immagine. Una sua variante la MinIP mostra invece i voxel con il minimo grado di attenuazione. È molto sfruttata nell'ambito degli studi anatomici e preoperatori dei dotti pancreatici e dell'albero biliare, nonché per lo studio dell'albero bronchiale per capire l'estensione di alcune strutture come bronchi, vasi, dotti ed enfisemi.

Le tecniche tridimensionali comprendono: il volume rendering (VR) e lo shaded surface display (SSD).

Il VR dà una visualizzazione diretta senza bisogno di processazione

dell'immagine: ad ogni voxel, dell'insieme dei dati, viene attribuita una caratteristica (ad esempio colore e opacità), in base al suo valore di unità Hounsfield. Per questo motivo il VR contiene molte più informazioni rispetto al surface rendering perchè considera la totalità dei voxel di un'immagine e permette una visualizzazione rapida di un grosso volume di dati, ma aumenta anche la complessità di calcolo quindi richiede software e hardware più potenti. Le immagini ottenute sono però molto dettagliate e mostrano l'orientamento anatomico delle lesioni o delle strutture d'interesse e i rapporti tra loro. Si prestano a diverse applicazioni, le più note sono quelle in campo ortopedico, maxillofacciale e nelle endoscopie virtuali. L'intero data set viene considerato come se fosse contenuto all'interno di una sfera virtuale che rappresenta il numero infinito di punti vista. Questo permette di ruotare l'immagine e osservarla da qualsiasi prospettiva (Choplin *et al.*, 2004). La SSD (o surface rendering) è stata la prima tecnica di rendering applicata in campo medico. Consiste nello stabilire a priori un range di attenuazione (thresholding) cui vengono attribuite caratteristiche di ombreggiatura, colore, texture, illuminazione, etc., i voxel che sono fuori da questa soglia vengono esclusi dalla rappresentazione. La superficie rappresentata, è costituita da un insieme di poligoni a tre o più vertici, costruiti a partire dal contorno dell'oggetto nelle slices adiacenti o possono semplicemente rappresentare la faccia di un voxel. Lo svantaggio di questa tecnica è che viene rappresentata solo una minima parte dei dati, circa il 10%, rispetto alla totalità dei dati acquisiti. Per questo motivo è di solito utilizzata quando si vuole osservare l'estensione 3D di un unico tessuto.

1.6 Applicazioni attuali delle elaborazioni tridimensionali in medicina umana.

Il progresso informatico, con l'introduzione di software e processori sempre più potenti, ha permesso di diffondere e applicare le tecniche di elaborazione tridimensionali a molti settori. Inizialmente nacquero più come una forma d'arte legata all'intrattenimento per la creazione di effetti cinematografici, infatti, queste tecniche trovarono tra i loro primi sperimentatori due note case produttrici cinematografiche, la Lucasfilm e

la Pixar (Calhoun, 1999). L'interesse verso una possibile applicazione in campo medico di queste tecniche non tardò a manifestarsi e, di fatto, oggi fanno parte della comune pratica medica, dove hanno raggiunto traguardi elevatissimi. Il loro utilizzo spazia nei diversi campi delle indagini mediche e chirurgiche, dalle più semplici immagini per indagini anatomiche, al planning pre e intra-operatorio in chirurgia e neurochirurgia.

Di seguito elenchiamo alcuni dei campi in cui vengono applicate le diverse tecniche di ricostruzione tri e bi-dimensionale.

Nei protocolli d'indagine della cavità addominale il 3D viene oramai utilizzato di routine per studi che vanno dall'angiografia alla chirurgia degli organi addominali. Nei trapianti di *fegato* permette una valutazione pre-operatoria e post-operatoria dell'anatomia vascolare del fegato e di eventuali anomalie di arterie epatiche, vene epatiche e vena porta, in egual misura, se non migliore, delle angiografie tradizionali, riducendo i costi e i potenziali danni all'organo del donatore. Nei casi di resezioni epatiche permette al chirurgo di decidere quale e quanto volume di fegato asportare prima dell'operazione (Maher, 2004). Lo stesso vale per le indagini che riguardano il *pancreas* fornendo immagini accurate delle strutture vascolari e dei dotti in prossimità di lesioni o i loro rapporti all'interno di una massa tumorale, o per l'identificazione di piccoli tumori pancreatici (Maher, 2004). Nell'*apparato urinario* fornisce immagini simili a quelle ottenute tramite urografie con mezzo di contrasto, particolarmente utile nelle indagini dei calici e papille renali, o di anomalie anatomiche del tratto urinario. Utile, anche se meno impiegata è la citoscopia virtuale (Maher, 2004). Nell'*intestino* permette una valutazione e una localizzazione dettagliate delle lesioni tramite colonscopie operate virtualmente, permettendo di superare anche ostacoli come possono essere quelli rappresentati da stenosi o intussuscezioni che una normale sonda non potrebbe superare consentendo così di valutare il tratto d'intestino al di là della stenosi. Tra gli ultimi progressi di questa tecnica vi è la dissezione virtuale dell'intestino che permette di aprire e appiattare la sezione circolare dell'intestino, eliminando i punti ciechi presenti nella normale endoscopia. La possibilità di distorcere le lesioni a causa dello stiramento delle pareti, rappresenta lo svantaggio maggiore di questa tecnica, eventualità che

comunque il radiologo sa già di dover prendere in considerazione e che può essere ridotta con il confronto con le immagini CT 2D e le immagini dell'endoscopia 3D (Silva *et al.*, 2006).

Nelle valutazioni delle patologie che interessano le vie respiratorie, i rendering possono fornire informazioni precise su lunghezza, morfologia e grado delle stenosi (Salvolini *et al.*, 2000). Possono mostrare una maggiore accuratezza nella localizzazione e l'estensione di tumori e il loro rapporto con le interfacce broncovascolari circostanti. Aiutano nel localizzare le collezioni d'aria o l'estensione di bronchiectasie. Un rendering accurato può aiutare nella scelta della procedura più adeguata per il prelievo di campioni di tessuto, come può essere l'ago aspirato transbronchiale, che permette al medico di scegliere il tragitto più efficace per svolgere questa procedura (Boiselle e Ernst, 2002). Nel pianificare la radioterapia, per un piano d'intervento più mirato. Anche nelle vie aeree superiori, per le strutture contenute nel collo e nella testa, i rendering 3D e 2D permettono di costruire simulazioni di possibili interventi e studiarne le diverse vie d'accesso. L'endoscopia virtuale, oggi diventata un'applicazione di routine, si può applicare allo studio di seni paranasali, nella valutazioni di gravi stenosi, o per stenosi subdole non visibili dall'esterno. Questa tecnica ha il vantaggio di non essere invasiva e di consentire l'esplorazione di regioni inarrivabili per le normali sonde.

Il volume rendering trova una larga applicazione anche in ambito muscolo scheletrico grazie alla facoltà di riuscire a mostrare più tessuti contemporaneamente come muscoli, ossa e tendini. È impiegato per evidenziare traumi, deformità e artriti (Choplin *et al.*, 2004). Da ultimo il campo di ricerca, che forse è stato tra i primi settori d'ispirazione e utilizzo di queste tecniche e che ha ispirato la nascita di alcuni programmi come ITK-SNAP, è la neurologia. Il loro impiego è finalizzato allo studio anatomico dell'encefalo, mirato alla forma e dimensione delle strutture che lo compongono, allo studio delle alterazioni patologiche, come quelle di natura neoplastica, o al planning pre-operatorio in sede chirurgica (Yushkevich *et al.*, 2006).

1.7 Considerazioni sulle possibili applicazioni in medicina veterinaria

In ambito veterinario la diffusione di queste metodiche subisce una battuta di arresto a causa dei costi d'acquisto e gestione delle strumentazioni. In Italia i sistemi CT e MR sono distribuiti per lo più presso grosse cliniche o facoltà universitarie che possono caricarsi dei costi. Oltre all'ostacolo economico, un altro fattore che incide molto sull'applicazione pratica di queste tecniche è il tipo di apparecchiatura di cui si dispone, spesso superata, che, in teoria, non permette di arrivare a dei risultati accettabili e utilizzabili nella pratica quotidiana. Dove possibile, però, le tecniche di rendering, pur non arrivando ai risultati eccellenti della medicina umana, vengono impiegate con successo in numerosi settori, sia nell'ambito clinico che nella ricerca.

In veterinaria l'uso principale delle tecniche 3D trova spazio soprattutto in ambito chirurgico per il planning pre-operatorio o la valutazione di fratture comminute, in particolare in situazioni complesse come le fratture pelviche. Nel campo oncologico aiuta una valutazione pre operatoria di un tumore e dei suoi rapporti con le strutture circostanti. La possibilità di intraprendere studi angiografici è meno sfruttata, anche per una minor diffusione delle malattie vascolari negli animali da compagnia, però è stato dimostrato che assume un ruolo importante nella valutazione di shunt portosistemici, migliorando il dialogo tra radiologo e chirurgo (Bertolini *et al.*, 2006).

Queste tecniche sono molto apprezzate in ortopedia, dove forniscono immagini molto utili nello studio delle fratture, facilitando notevolmente la scelta della strategia chirurgica da adottare.

L'utilizzo di questo tipo di ricostruzioni non ha dimostrato la sua utilità solamente nel settore clinico o chirurgico ma anche negli studi anatomici di strutture poco indagabili, come possono essere le cavità nasali e i seni paranasali del cane (Craven *et al.*, 2007), strutture articolari come il ginocchio o ghiandolari come le ghiandole salivari (Kneissl *et al.*, 2011). Molto spesso questi studi, sono rivolti alle strutture extra-cerebrali, alle loro caratteristiche anatomiche, fratture e deformazioni del cranio, poco indagabili con le altre tecniche di diagnostica per immagini.

Un'altra possibile utilità delle ricostruzioni 3D è quella proposta da uno studio giapponese, nel quale è evidenziato come l'uso di rendering 3D favorisca il rapporto medico-proprietario. In particolare, nell'ambito del consenso informato l'impiego d'immagini esplicative, rende più facile al proprietario la comprensione dello stato di salute e dell'anatomia del proprio animale, così che possa prendere, con maggiore consapevolezza, la decisione o meno di eseguire un eventuale intervento (Kishimoto *et al.*, 2009).

Le ragioni per cui la CT non entra a far parte della quotidiana pratica veterinaria sono molteplici, qui riassumiamo alcuni dei motivi principali comunemente riconosciuti (htt5):

1. Le indicazioni di impiego di una CT in medicina veterinaria sono limitate dal fatto che il paziente deve essere anestetizzato, per cui per individui malati, dove possibile, è preferibile utilizzare un approccio meno invasivo come ad esempio un esame ecografico. L'uso in neurologia è secondo a quello della MR, poiché un risultato negativo o dubbio con una CT difficilmente, per una questione di costi, può essere accertato con uno studio MR.
2. La strumentazione CT è relativamente economica, ciò che frena l'acquirente sono i costi delle manutenzioni e di riparazioni di eventuali guasti.
3. Si deve considerare che un risultato negativo con uno studio CT non viene accolto con lo stesso entusiasmo che può implicare un'analoga situazione in campo umano, sempre a causa dei costi che il proprietario deve affrontare.
4. L'utilizzo di una CT richiede personale tecnico specializzato per far funzionare la macchina; si devono valutare i rischi anestesiolgici o essere preparati a fronteggiare emergenze durante l'anestesia, occorre poi una preparazione specialistica per interpretare i risultati e refertarli.
5. L'installazione di un'apparecchiatura CT richiede un ambiente dedicato all'interno della struttura, che deve avere specifici requisiti tecnici e di sicurezza che vengono imposti e verificati dall'ASL competente.

2. CONTRIBUTO SPERIMENTALE:

2.1 Introduzione

In questo studio si è voluto testare l'effettiva possibilità di produrre ricostruzioni tridimensionali, elaborando le immagini acquisite attraverso una strumentazione CT, o meglio TAC (Philips Tomoscan LX), di produzione datata non predisposta per la ricostruzione tridimensionale e immagini acquisite da una strumentazione per MR a basso campo da 0,22 Tesla (Paramed-MrV). Le immagini ottenute sono state poi valutate allo scopo di verificarne la possibile applicazione clinica.

Per l'elaborazione tridimensionale abbiamo scelto d'impiegare software che seguano il paradigma open-source, la nuova frontiera dell'imaging medico, che garantisce qualità del prodotto, facile reperibilità e costo zero. È possibile recuperare una lista aggiornata di software open source impiegati per l'imaging medico presso l'indirizzo <http://www.idoimaging.com/> (Ratib, Rosset; 2006). I software scelti sono: Image J, ITK-SNAP e OsiriX. Quest'ultimo è un programma molto noto e premiato, spesso impiegato quale software di prima scelta per la ricostruzione e il trattamento d'immagini DICOM, ma è disponibile solamente per piattaforme Macintosh, a differenza di ImageJ e ITK-SNAP che sono compatibili anche con piattaforme Microsoft e Linux. Questa differenza ha suggerito la possibilità di inserire in questo studio un confronto tra i risultati ottenuti con OsiriX e gli altri due software. OsiriX è un programma molto versatile, come ImageJ, realizzato per essere diffuso al maggior numero di utenti possibile, anche con poca esperienza nel campo informatico. Infatti la sua interfaccia grafica è molto semplice e intuitiva almeno per le funzioni principali per cui viene maggiormente utilizzato: volume rendering, ricostruzioni multiplanari e MIP. ImageJ dal canto suo è un software altrettanto versatile, per la lettura d'immagini medicali e da microscopia, anche se probabilmente è più conosciuto per questo secondo impiego.

Questi due programmi sono stati messi a confronto per verificare la loro effettiva affidabilità nella ricostruzione tridimensionale facendoli utilizzare da non-radiologi (Dello *et al.*, 2011), con risultati ottimali. OsiriX è

considerato più efficiente, più pratico, perché possiede un'interfaccia più semplice (user-friendly) e più veloce, perché svolge alcune operazioni in modo semiautomatico. Inoltre ha il vantaggio di essere abilitato a ricevere e spedire immagini del protocollo PACS (Picture archiving and communication system) in cui vengono archiviati automaticamente tutti i dati dei pazienti esaminati. ImageJ è comunque considerato una valida alternativa per chiunque non possieda un computer Macintosh (Dello *et al.*, 2011). Inoltre, grazie alla piattaforma Java, al suo attivissimo bacino di utenza e al suo staff di sviluppatori, ha una flessibilità e una possibilità di ampliamento delle applicazioni praticamente senza limiti, specialmente nei settori sperimentali e di laboratorio, in cui è considerato un supporto inestimabile (Collins, 2007), anche per le elaborazioni statistiche. Rappresenta quindi l'avanguardia in questo genere di software.

ITK-Snap è un programma completamente diverso, nato per un unico scopo preciso ed estremamente specifico, la segmentazione snake-based di parti anatomiche ben individuate e delineate. L'algoritmo ITK, permette di elaborare una sequenza d'immagini in modo manuale o semi-automatico, mostrando anche più segmentazioni contemporaneamente. Le strutture d'interesse vengono ricostruite partendo dall'interno e via via prendono forma fino a riprodurre fedelmente la superficie esterna dell'organo oggetto dello studio. ITK permette un'interazione e un controllo maggiori sull'elaborazione dell'immagine, perché a differenza di Image J e OsiriX l'operatore segue direttamente il work-in-progress e può intervenire sui parametri dell'algoritmo con un metodo di lavoro che va dal totalmente manuale al semi-automatico. L'interfaccia grafica è molto semplice ma il funzionamento, non proprio intuitivo, richiede una certa pratica. È comunque presente un ottimo tutorial sul sito web dedicato.

2.2 MATERIALI E METODI

2.2.1 Supporto Macintosh

Per avere la possibilità di confrontare il software Osirix con Image J e ITK-SNAP, approfittando della compatibilità di questi ultimi anche con il sistema operativo MacOS, è stato utilizzato un Mac Book con sistema operativo Mac OS X 10.5.8, con processore da 2,1 GHz e memoria RAM

da 4GB 667 MHz DDR2 SDRAM.

2.2.2 Sistemi di acquisizione

2.2.2.1 Tomografia Assiale Computerizzata

Per le ricostruzioni tridimensionali sono state utilizzate le sequenze d'immagini acquisite con la TAC in uso presso il Dipartimento di scienze cliniche veterinarie di questa facoltà. Si tratta di una TAC Philips Tomoscan LX monostrato di cui di seguito riportiamo alcune caratteristiche principali utili per inquadrare il tipo di macchina utilizzata:

General:

- Scan speed: 1.2 secondi (228°), 1.9, 2.9, 3.8 e 7.6 secondi (360°).
- Slice thickness: 1.5, 3.5, 10 mm.
- Reconstruction time: standard mode < 3 s (320 x 320), <4.5 s (512 x 512), hi res mode < 10 s (prospective), < 16.5 s (retrospective).
- Field of view: 160, 200, 250, 300, 350, 420 e 480 mm.
- Pixel size range: da 0.03 a 1.5 mm.
- CT number range: da -2000 a +4000 Hounsfield scale.
- Reconstruction matrix: 320 x 320 e 512 x 512.

Gantry:

- Detector: Xenon gas ionization chamber: 768 detector elements.
- Gantry tilt: da -25° a +25°.
- Patient aperture: 70 cm diameter.

Image Viewing and Analysis:

- Window level: da -2000 a +4000 H, continuously variable.
- Window width: da 1 a 6000 H, continuously variable.

Computer:

- Processor: dual 68020 micro-processor with distributed logic controllers.
- Memory: 4.0 Mbyte processor, 16.0 Mbyte array processor, 0.64 Mbyte video display (per processor).
- Data acquisition: high-speed peripheral computer.
- Image processing unit: dedicated for fast reconstruction, data manipulation and image enhancement.

Image storage:

- Large capacity disk: two Mbyte disks for data storage of more than

1400 (320 x 320) or more than 560 (512 x 512) images, as well as up to 200 raw data scans.

- Floppy disk: 1.0 Mbyte for up to 20 (320 x 320) images or 8 (512 x 512) images per floppy disk.



Philips Tomoscan LX: gantry (a sinistra) e pannello di controllo (a destra).

2.2.2.2 Risonanza Magnetica

La risonanza magnetica impiegata per l'acquisizione è una Paramed (S.r.l, Genova) MrV con un campo magnetico da 0,22 Tesla ([http9](http://)), con magnete permanente aperto, presente presso l'Ospedale Veterinario "I Portoni Rossi" (Zola Pedrosa, Bologna). Questo tipo di apparecchiatura non richiede un impianto di raffreddamento, di cui necessitano invece macchine a potenza maggiore.



Paramed MrV, da <http://www.paramed.it>.

In medicina umana, alcune macchine per la risonanza magnetica arrivano a generare campi da 7 Tesla (ne esistono anche da 8 e 9 Tesla), ma il loro costo è inarrivabile per strutture veterinarie, per lo più private, che oltre agli enormi costi di acquisto (circa 7 milioni di euro), dovrebbero far fronte a costi di manutenzione eccessivi, infatti il magnete di queste macchine, del peso di circa 35 tonnellate, richiede l'immersione in elio liquido per il

raffreddamento.

Quella utilizzata in medicina veterinaria ha costi, relativamente, più contenuti e, nonostante il basso campo, comunque permette di ottenere immagini diagnostiche. Il settore d'impiego di questa tecnica è principalmente quello neurologico, in cui il suo utilizzo fornisce informazioni che permettono la diagnosi di diverse patologie, che con la TAC richiedono invece particolari metodiche o sono più complesse da diagnosticare.

2.2.3 I software: Image J, ITK SNAP e OsiriX

Abbiamo già accennato al fatto che il passaggio dalle tecniche radiologiche tradizionali a quelle digitali ha fornito un nuovo tipo d'informazioni, non più statiche e bidimensionali, ma dinamiche e potenzialmente elaborabili. La naturale conseguenza di questo è stata la necessità di realizzare algoritmi e metodologie d'interpretazione che consentano di sfruttare ed esaminare queste informazioni da parte del radiologo o del clinico.

Prima di iniziare la presentazione dei software e delle metodiche usate nell'elaborazione delle immagini di questo progetto, per una maggiore chiarezza, è bene introdurre prima due termini che ricorreranno spesso durante questa trattazione: volume rendering e segmentazione tridimensionale.

Rendering: letteralmente significa "resa", ma nel campo della computer grafica ha assunto il significato di elaborazione di un'immagine, che deriva da una descrizione matematica di una scena tridimensionale, attraverso l'uso di algoritmi che ne definiscono colori, superfici, geometria, luci, ombreggiature, texture, secondo un determinato punto di vista.

Segmentazione: è il processo con il quale si classificano i pixel dell'immagine che hanno caratteristiche comuni, arrivando a dividere la stessa immagine in regioni diverse in base alla caratteristica desiderata, come ad esempio l'intensità. Il risultato è un insieme di segmenti che coprono l'intera immagine.

Di seguito vengono illustrati alcuni software che usano questi algoritmi e che sono il fulcro di questa tesi.

2.2.3.1 IMAGE J

Image J è un programma per l'elaborazione d'immagini realizzato dalla National Institutes of Health e sviluppato dalla Macintosh per l'omonimo sistema operativo. La prima versione si chiamava "NIH Image." È totalmente open source ([htt10](http://10)), cioè un software i cui autori favoriscono il libero studio e l'apporto di modifiche da parte di altri programmatori indipendenti, in questo modo il gruppo di lavoro diventa enormemente più esteso, ampliando i margini di miglioramento del programma.

Image j può essere eseguito su qualsiasi computer con sistemi operativi quali Mac OS, Windows, Linux; si basa sul linguaggio di programmazione Sun-Java, espandibile tramite sottoprogrammi plugin java (ne sono stati pubblicati oltre 400) e molte macro registrabili. Consente di visualizzare, modificare, analizzare, processare, salvare e stampare immagini di diversi formati: TIFF, GIF, JPEG, BMP, DICOM, FITS e RAW. Supporta, inoltre, le immagini "Stack" (letteralmente "pila"), una serie di immagini visualizzate in un'unica finestra che permettono una visualizzazione scorrevole di una sequenza di sezioni (slices) che compongono un corpo tridimensionale.

In questa tesi Image J è stato utilizzato per la preparazione delle sequenze di immagini tomografiche (slices) da sottoporre successivamente alla segmentazione con Itk Snap ed anche per il volume rendering delle sequenze stesse mediante uno dei predisposti plug-in.

La pre-elaborazione delle sequenze serve a:

- a) eliminare dalle immagini gli elementi indesiderati nella ricostruzione, ritagliando la r.o.i. (region of interest)
- b) accertare le dimensioni e le proporzioni delle immagini, in particolar modo la profondità, vale a dire lo spessore delle slice
- c) visualizzare un rendering di anteprima, utile per verificare le proporzioni e vedere quali strutture anatomiche si andrà a segmentare
- d) ottimizzare il livello di contrasto delle immagini, esaltando la banda di grigio più adatta
- e) effettuare una interpolazione, o campionamento delle immagini, che ci permette di ottenere un effetto finale di "smoothing"
- f) salvare la sequenza elaborata in un formato compatibile con Itk snap.

Image J è indispensabile per i punti a), b), c) ed f) mentre gli step d) ed e) possono essere assolti da Itk snap, con alcune limitazioni che illustreremo più avanti.

Una delle prime difficoltà riscontrate, come spiegato in precedenza, risiedeva nel fatto che le proiezioni ortogonali derivate non mantenevano la proporzionalità nelle tre direzioni dello spazio, perchè le immagini mancavano di alcune informazioni. In altre parole, l'header dei DICOM generati attraverso l'interfaccia di acquisizione e il software Microprint mancava di informazioni che nella codifica DICOM si definiscono "slice thickness" e "space between slice", rendendo quindi impossibile visualizzare la profondità reale nelle tre proiezioni.

Grazie a Image J si può intervenire impostando il valore della profondità, conoscendo la risoluzione in pixel della matrice (quella usata è di 512x512) e, naturalmente, il protocollo originale utilizzato per l'esame tomografico. Il tutto può essere poi verificato attraverso una precisa calibrazione pixel-unità di lunghezza, che ci permetterà, alla fine della segmentazione, anche di dare un valore in cm cubici ai volumi segmentati. Un altro problema era rappresentato dalla difficoltà di trovare un formato di file che contenesse la sequenza elaborata e fosse compatibile con Itk Snap; a questo scopo è stato individuato il formato Analyze. Questo formato è impiegato dal software Analyze, sviluppato dalla Biomedical Imaging Resource (BIR) per la visualizzazione, la processazione e la misurazione di immagini medicali provenienti da scansioni tomografiche quali MRI (magnetic resonance imaging), CT (computed tomography) e PET (positron emission tomography). Il formato grafico da noi sfruttato è Analyze 7.5, largamente impiegato nell'ambito delle indagini neurologiche. Nel database di questo formato sono contenuti due file: uno contenente l'immagine nei diversi formati possibili (con estensione .img) e un altro file, header (con estensione .hdr), con le informazioni riguardanti dimensione, profondità e numero di voxel.

Nonostante le proporzioni fossero verificate, le immagini delle proiezioni derivate avevano una risoluzione nettamente più bassa rispetto alle immagini principali, e questo si rifletteva su una ricostruzione 3D caratterizzata da vistosi "scalini" più o meno evidenti a seconda della

profondità delle slice impostata.

Per ovviare a questo problema si è sfruttata la funzione di scaling per applicare un'interpolazione di tipo bicubico, aumentando così il numero di slice e ottenendo un effetto di smoothing, cioè un "arrotondamento" dei bordi.

Questa procedura ammorbidisce i contorni e permette una ricostruzione qualitativamente più valida, ma ha un limite legato al protocollo dell'esame, principalmente allo spessore delle slice: tanto più aumenta lo spessore delle slice, tanto più è alta la possibilità di falsare le immagini nella segmentazione, creando degli artefatti digitali, o saltando particolari troppo piccoli per essere inclusi.

Del resto anche l'ottimizzazione dei contrasti può escludere particolari, e nessuno potrà mai sostenere in questa sede che segmentazioni ottenute con tecniche indirette possano servire alla diagnostica in prima istanza. Piuttosto, come già sostenuto fin dall'inizio della trattazione, possono servire a dimostrare e rafforzare una diagnosi e a renderla ben visibile in tre dimensioni.

Di seguito viene mostrato il protocollo definitivo che è stato adottato nella pre-elaborazione delle sequenze TAC acquisite:

Acquisizione:

- dal menù selezionare File > Import > Image Sequence e aprire la sequenza d'immagini;
- una volta che le immagini appariranno sotto forma di stack, in un'unica finestra selezionare dal menù Analyze > Set Scale; nella finestra che comparirà vengono riportati diverse voci con i corrispettivi valori numerici o unità di misura.
 - Nella voce *Distance in Pixel* indichiamo il valore della nostra matrice 512x512 digitando 512, mentre alla voce *Know distance* va indicato il FOV (field of view) che rappresenta la dimensione della finestra utilizzata, in millimetri, ed è indicato in sovrimpressione dalla lettera B o H assieme alle altre indicazioni del protocollo adottato per lo studio, cioè nella porzione in alto a sinistra dell'immagine. Da ultimo indichiamo l'unità di misura (in mm) in cui dev'essere espresso il

rapporto tra matrice e Fov, sotto la voce *Unit of length*.

- Dal menù *Image > Properties* vengono mostrate le dimensioni della nostra immagine lungo gli assi x,y,z attraverso le voci *Pixel Width* (larghezza), *Pixel Height* (altezza) e *Voxel Depth* (profondità), che grazie alla precedente operazione vengono ora indicati in mm. A questo punto possiamo inserire nella voce *Voxel Depth* lo spessore di ogni singola slice che è riportato dal valore *S* nel protocollo dello studio, che può assumere i valori 1.5 mm, 3 mm, 5 mm o 10 mm. Questo passaggio fondamentale permette di reintegrare la proporzionalità nelle tre direzioni dello spazio.
- Prima di eseguire il rendering occorre ridurre la ROI ritagliando lo spazio che ci interessa tramite la funzione *Crop* che selezioniamo dal menu *Image > Crop*. Tramite la barra degli strumenti possiamo decidere il tipo di selezione da usare (rettangolare, ovale, poligonale, a mano libera). Una volta dato il comando di crop, la funzione sarà applicata a tutte le immagini nello stack.

Terminata questa prima fase si ottiene una nuova immagine delle dimensioni desiderate, su cui, se non è già stato fatto, si può intervenire modificando le caratteristiche di luminosità e contrasto per mettere in risalto determinate parti o nascondere altre, selezionando dal menù *Image: Adjust: Brightness/ Contrast*.

Per migliorare la resa dell'immagine tridimensionale, com'è stato accennato in precedenza, è possibile interpolare l'immagine facendo in modo che lo spazio tra le slice sia riempito in modo probabilistico, in questo modo si ottiene un ammorbidimento dei contorni dell'immagine ma si aumenta anche il rischio di artefatti. Oltretutto l'interpolazione dell'immagine moltiplica il numero di slice per il numero di volte che noi stabiliamo, questo però comporta un aumento del "peso" dell'immagine che rallenta poi le procedure di elaborazione e soprattutto quelle successive di segmentazione.

In generale per interpolazione si intende quel processo che partendo da dati conosciuti stima e riproduce quelli non conosciuti.

Ad ogni modo qualora si ritenga utile per eseguire l'interpolazione basta seguire un semplice passaggio: dal menù selezionare *Image: Scale*, comparirà una finestra, nello spazio *Z scale* inserite il valore desiderato

d'interpolazione (maggiore di 1), dopo di che dal menù a tendina *Interpolation* (sempre nella stessa finestra) selezionate il tipo di interpolazione *Bilineare* o *Bicubica*. L'interpolazione bilineare utilizza i quattro pixel più vicini per stimare quelli non conosciuti; quella bicubica utilizza i sedici pixel più vicini, quindi preserva meglio i dettagli rispetto alla bilineare ma incrementa notevolmente la complessità di calcolo.

L'ultimo step, prima di passare alla fase di rendering è la conversione dell'immagine dal formato RGB al formato 8-bit semplicemente selezionando dal menù *Image: Type: 8-bit*. Le informazioni relative ai tre canali del colore (Red, Green, Blue), ai fini del volume rendering con Image J o Osirix, così come della segmentazione tridimensionale con algoritmo Itk sono inutili e rallentano l'elaborazione, quindi vanno eliminate.

3D-Volume Rendering

A questo punto si possono dire completate le fasi di preparazione dell'immagine. Per l'elaborazione tridimensionale è sufficiente applicare uno dei plugins introdotti dagli utilizzatori di ImageJ. In particolare ci si riferisce al plugin *3D volume viewer* sviluppato per ImageJ da Kai Uwe Barthel nella sua prima versione nel 2005 (Barthel). Questo plugin unisce le stack formando un volume orientato in uno spazio 3D (xyz), l'angolo di visuale può essere cambiato con i movimenti del mouse.

Per accedere a tale funzione è sufficiente selezionare dal menù *Plugins> 3D> Volume Viewer*. Con questo comando si aprirà una finestra che elabora con diverse modalità il volume della stack. Queste modalità sono:

- *Slice Nearest Neighbor*: il volume viene tagliato in un punto desiderato e presentato come una slice. Non c'è interpolazione.
- *Slice trilinear*: come la precedente ma viene applicata un'interpolazione di tipo trilineare.
- *Slice and Borders*: utilizza la stessa modalità di *Slice trilinear* ma in aggiunta mostra i confini del volume della stack.
- *Slice and Volume Dots*: il tipo di visualizzazione è come una slice, a parte il fatto che sono mostrati solamente i voxel con un valore maggiore a quello di *Threshold* (soglia). I voxel che si trovano sotto a questo valore

sono rappresentati come punti (dots).

➤ *Volume Dots*: è il tipo di rappresentazione di qualità più scarsa, i voxel vengono rappresentati singolarmente in base alla loro distanza, non viene applicata nessuna interpolazione.

➤ *Volume*: questa voce mostra il rendering vero e proprio visualizzando una scena 3D di alta qualità. I voxel che vengono visualizzati sono regolati dal valore di Threshold (quindi in base alla loro intensità) che ne regola l'opacità: quelli sotto a questo valore vengono considerati trasparenti. Si possono scegliere due tipi di rappresentazione Volume: *Volume I* più realistica senza illuminazione; *Volume II* applica una fonte di illuminazione artificiale (htt6).

Fondamentali nell'indagare il volume renderizzato sono i valori Depth, Distance e Threshold presenti nella porzione destra della finestra e dotati di cursori che permettono di variarli modificando così l'immagine visualizzata.

➤ *Distance*: permette di esplorare il volume più o meno in profondità isolando o togliendo strutture che possono ostacolare la vista tramite una superficie di taglio (slice) la cui distanza dall'osservatore è regolata dal cursore. Solo i voxel che si allontanano dalla slice sono visualizzati. Le linee che sono presenti sulla sinistra indicano l'intersezione della slice con i 3 piani ortogonali della stack.

➤ *Depth*: controlla il numero di voxel che vengono impiegati per il rendering.

➤ *Threshold*: indica quali voxel vengono mostrati in base alla loro intensità (htt6).

Come in altri programmi di rendering è possibile impostare dei filtri particolari (LUT-Look up table) che attribuiscono all'intensità di ogni voxel un codice colore creando così una maggior gamma di sfumature ed evidenziano meglio alcune parti dell'immagine.

Un'utile funzione di Image J è quella di poter modificare e creare a piacimento il proprio filtro attribuendo ad un determinato valore di intensità un colore in modo da evidenziare una particolare struttura d'interesse.

2.2.3.2 ITK- SNAP

È un software interattivo che ci permette di fare una ricostruzione 3D di immagini medicali acquisite, più frequentemente, da CT o MRI.

Il progetto nasce all'interno di un team d'ingegneri informatici del Computer Science Department dell'Università del North Carolina, sotto la guida di Guido Gerig. Il progetto iniziale fu poi migliorato dal gruppo guidato da Paul Yushkevich presso il Penn Image Computing and Science Laboratory del Dipartimento di Radiologia dell'Università della Pennsylvania, con l'integrazione all'Image Navigation Tool (IRIS) e all'Active Contour Segmentation Module (SNAP) con l'Insight Segmentation and Registration Toolkit (ITK).

Il software è totalmente open source, allo stesso modo di ImageJ, al fine di renderlo migliorabile attraverso il diretto utilizzo da parte degli utenti.

Il programma è semplice da usare, anche grazie al tutorial fornito nel suo sito ufficiale ([http](http://www.itk.org)), inoltre non richiede una conoscenza approfondita di nozioni matematiche o informatiche per essere utilizzato.

Il concetto su cui si basa è la segmentazione dell'immagine, cioè la sua divisione in regioni sulla base di determinati parametri che identificano un gruppo di voxel specifici, ai quali viene attribuita un'etichetta (*label*) e un codice colore, che serviranno per identificare le diverse regioni nell'immagine 3D che si verrà a creare.

Le sue applicazioni, seppur diverse rispetto a quelle figurate per ImageJ, sono specifiche per l'applicazione clinica e chirurgica. Il campo fondamentale in cui è impiegato (in medicina umana) è la neurochirurgia, per misurare la dimensione e la forma delle strutture cerebrali, per indagini anatomiche e per pianificare interventi chirurgici. In medicina veterinaria queste applicazioni sono più ridotte e le applicazioni in campo neurologico risultano meno efficaci, almeno per quanto riguarda le segmentazioni ottenute da studi di MRI, in quanto le immagini di partenza hanno una qualità molto ridotta rispetto a quelle CT; questo per il costo oneroso necessario all'acquisto di una strumentazione che possa fornire immagini di adeguata risoluzione.

SNAP può essere usato in due diverse modalità: segmentazione manuale

e segmentazione semi- automatica. Quella di tipo manuale è utilizzata per tracciare manualmente, slice per slice, la regione dell'immagine che rientri nella segmentazione, o per rifinire il risultato di una segmentazione semi-automatica. Nella versione semi-automatica si utilizza un algoritmo più complesso, che richiede alcune indicazioni da parte dell'utilizzatore e che saranno spiegate in seguito.

Il software è in grado di leggere diversi formati d'immagine, compresi DICOM, RAW, NIfTI, Analyze (il formato scelto per le nostre segmentazioni), GIPL e Metaimage.

Per la descrizione dell'interfaccia del programma rimandiamo al tutorial nominato in precedenza, preferendo descrivere solamente il protocollo usato in questa tesi.

Segmentazione semi-automatica

1- Acquisizione:

Per aprire l'immagine preparata con ImageJ selezionare dal menù *File > Open greyscale image*, dalla finestra che comparirà si potranno sfogliare le cartelle per ricercare il file che ci interessa tramite il pulsante *Browse*. Trovata la sequenza si dovrà scegliere il file in formato Analyze riconoscibile con estensione *.hdr*.

2- Pre-elaborazione:

Per rendere migliore il lavoro della segmentazione è consigliato, soprattutto nel caso di ricostruzioni di tessuto osseo, preparare l'immagine modificando le caratteristiche di luminosità e contrasto tramite uno degli strumenti di ITK-SNAP. Per fare questo selezionate dal menù *Tools > Image Contrast*, comparirà una finestra di dialogo che permetterà di modificare l'intensità nelle slice. All'inizio questa finestra mostra un istogramma con la mappatura delle diverse intensità delle slice, il rapporto tra queste e le intensità che vengono mostrate è espresso dalla linea rossa che attraversa il grafico su cui si trovano dei rombi di colore giallo chiamati *Control Point*. Il loro numero può essere modificato tramite i pulsanti +/- che si trovano sotto il grafico a destra. Cliccando sul pulsante *Più (+)* ne vengono aggiunti, questo permette di modificare l'intensità dell'immagine in modo più accurato, spostando i control point lungo la

linea o in altre parti del grafico ci si accorgerà che le immagini mostrate nelle tre proiezioni ortogonali si modificheranno in tempo reale, tutto questo ci permette di far risaltare alcune strutture piuttosto che altre o accentuarne il contrasto e quindi la definizione dei bordi. Una volta terminata questa fase basta premere il pulsante *Close* per chiudere la finestra di dialogo e proseguire con il procedimento di segmentazione.

3- Segmentazione:

La chiave di questo processo è lo *Snake Evolution*, un procedimento che fonda la sua realizzazione su tre “step” fondamentali:

1. Pre-processazione dell'immagine;
2. Posizionamento di uno o più snake;
3. Impostazione dei parametri di sviluppo dello snake.

Completati questi punti, si dà inizio alla segmentazione che porterà alla formazione dell'immagine 3D della regione desiderata.

Il termine Snake si riferisce a una curva chiusa (o superficie in 3D) che rappresenta la segmentazione. Espandendosi lo snake assumerà la forma della struttura anatomica d'interesse da noi delimitata. Lo snake si espande secondo due tipi di velocità quelle che dipendono dalla forma dello snake e quelle che dipendono dai gradi d'intensità dei pixel adiacenti. Nel primo caso le velocità di espansione sarà maggiore dove la curvatura dello snake è maggiore, nel secondo caso la velocità di espansione sarà maggiore dove invece i pixel saranno d'intensità omogenea rispetto a quelli che si trovano in prossimità di un bordo che segna una discontinuità. Il menù della segmentazione è accessibile attraverso il pulsante *Snake ROI Tool* che si trova nella colonna di sinistra nel *Main Tool Box*.

Una volta selezionata lo *Snake tool* nella colonna di sinistra sotto il main tool box compaiono, tra le *Tool options*, due voci: *Reset ROI* e *Segment 3D*. Attorno alle tre proiezioni compare invece una linea tratteggiata di colore rosso che rappresenta la ROI (Region of interest), cioè la nostra area di lavoro, che può essere modificata a piacere. Scegliamo il nome e colore per l'etichetta (*label*) che vogliamo attribuire alla nostra segmentazione e procediamo con il primo step. Cliccando su *Segment 3D* inizia il vero e proprio processo di segmentazione organizzato secondo un workflow prestabilito che guida l'utente nel suo lavoro.

Step 1: si tratta di scegliere il tipo di informazioni che saranno utilizzate per guidare lo Snake durante la sua evoluzione: *Intensity regions* o *Image edges*. Come accennato prima alcune velocità di espansione dello snake si muovono guidate dai livelli di intensità dell'immagine. Questa dipendenza è rappresentata dalla Feature image, che graficamente corrisponde all'immagine preprocessata secondo uno dei due metodi indicati e a cui sono attribuiti dei valori che verranno spiegati più avanti.

È molto importante capire la differenza tra i metodi *Intensity regions* e *Image edges* per capire quando e come utilizzarle.

Il primo (definita anche come *Region competition*) distingue i voxel in base alla loro intensità e limita la struttura d'interesse in base al range d'intensità scelto dall'operatore. I valori che si trovano al di fuori di questo range sono considerati come immagine di fondo. L'intensità dei singoli voxel è apprezzabile nella colonna di sinistra sotto la voce *Grey*, questo ci dà modo di stimare un range d'intensità dei voxel presenti nell'area d'interesse. Questa informazione è molto importante perché permette di impostare i limiti di espansione dello snake. La *Feature Image* di questo metodo è costruita attribuendo ai gradi d'intensità che rientrano nel range deciso dall'operatore valori prossimi a 1 e vengono considerati come in primo piano; valori fino a -1, alle intensità che si trovano fuori da questo range e che vengono poste sullo sfondo e valori prossimi allo 0 per intensità che sono border line tra l'immagine in primo piano e lo sfondo. In questo modo, saranno compresi sia i valori positivi che quelli negativi; questo comporta che le velocità che agiscono sullo snake sono immagine-dipendenti e saranno dirette esternamente dove l'immagine è positiva ed internamente dove è negativa. L'uso di questo metodo è più appropriato quando la struttura d'interesse ha un range d'intensità ben definito rispetto all'immagine di fondo (Yushkevich *et al.*, 2006), ad esempio per il tessuto osseo.

L'altro metodo corrisponde all'*Image edges*, dove non vengono considerati i valori d'intensità dei singoli voxel ma il gradiente che c'è tra voxel vicini. I valori della Feature image sono compresi tra 0 e 1. Se il gradiente è elevato si formerà un "contorno" (edge) marcato con valori prossimi allo 0, mentre le regioni d'intensità uniforme avranno valori prossimi a 1.

La differenza con il metodo precedente sta nel fatto che nel primo metodo l'immagine assume valori sia negativi che positivi e dipende dall'intensità dei singoli voxel, nel secondo metodo si attribuiscono solo valori positivi e l'immagine che ne risulta dipende solo dai gradienti d'intensità tra voxel vicini.

Step 2: inizializzazione della segmentazione.

L'utente colloca una o più "bubble", aree sferiche del colore dell'etichetta scelta, nella struttura d'interesse. Queste rappresentano la base di partenza dello snake.

Per andare all'ultima fase, premere il pulsante *Next* nella colonna di sinistra.

Step 3: l'ultimo passaggio consiste nel calibrare lo sviluppo dello snake in modo da dargli delle indicazioni su dove espandersi. Nella colonna di sinistra selezionare *Set Parameters*, comparirà una finestra di dialogo, dove a sinistra si trova un pannello di controllo su cui si possono impostare i parametri che rappresentano le forze che agiscono sullo snake indicate come: *Balloon Force*, *Curvature Force* e *Advection Force*, quest'ultima presente solo se usiamo il metodo *Edge Image*.

La *Balloon force*, o propagation velocity, indica le forze che agiscono esternamente, è proporzionale ai valori di feature image, quindi se è impostata su valori positivi otterrò una forza di espansione, se su valori negativi otterrò invece una contrazione dello snake.

La *Curvature force* rappresenta la forza interna, serve per controllare la forma dello snake durante l'evoluzione e previene che lo snake invada campi adiacenti. Agisce internamente ed è proporzionale alla curvatura dello snake (un angolo acuto equivale a un elevato grado di curvatura). L'effetto di questa forza è di rallentare l'evoluzione dello snake dove ci sono angoli acuti in modo da arrotondare gli spigoli che si potrebbero formare.

Da ultima, l'*Advection force*, si usa solamente con il metodo *Edge Image* ed è molto importante per la qualità della segmentazione. Il suo ruolo è quello di rallentare o fermare lo snake quando si avvicina a un bordo. La velocità è definita da un punto prodotto dall'unità vettore perpendicolare allo snake e il vettore del gradiente della Feature Image, quindi quando lo

snake è parallelo a un bordo, in prossimità di questo l'advection force è maggiore e agisce con maggior forza verso l'interno.

Dopo aver impostato le diverse velocità si può dare inizio alla segmentazione premendo il pulsante *Play*. Si può osservare in tempo reale lo sviluppo dello snake, con la possibilità di poterlo arrestare qualora si espanda in aree non volute.

Una volta terminata la segmentazione, si aggiorna l'immagine cliccando *Update mesh* nel riquadro in basso a sinistra, per ottenere l'immagine tridimensionale della segmentazione. Al termine premere *Finish* per uscire dal processo di segmentazione per tornare alla pagina iniziale, dove, con gli strumenti di segmentazione manuale, *Paint brush tool* e *Polygon tool*, è possibile rifinire l'immagine ottenuta lavorando su ogni singola slice, oppure tagliare parti che non ci servono o ci nascondono dei particolari. Da qui è possibile orientare l'immagine secondo il punto di vista più adatto e "scattare" degli screenshot, denominati Snapshot, dell'immagine.

2.2.3.3 OSIRIX

Osirix è un programma open source ([http11](http://www.osirix-viewer.com/)) dedicato alla visualizzazione, elaborazione, stoccaggio e diffusione di immagini medicali prodotte da diversi tipi di apparecchiature mediche (MRI, CT, PET, PET-CT) e microscopia confocale. È distribuito sotto la GNU General Public License per cui il codice sorgente è a disposizione di qualunque utente.

Anche Osirix, come i precedenti programmi, può leggere documenti di diversi formati: TIFF, JPEG, PDF, AVI, MPEG, Quicktime ed è totalmente compatibile con il formato DICOM, il vero obiettivo di questo programma, ed è abilitato a ricevere le immagini trasferite con il protocollo di comunicazione PACS.

Il progetto Osirix è abbastanza recente, nasce nel 2004 dalla collaborazione alla University of California in Los Angeles (UCLA) tra il Dott. Antoine Rosset e il Professor Osman Ratib. Il Dott. Rosset ha sviluppato poi il programma lavorando allo University Hospital di Geneva (Svizzera) assieme all'informatico Joris Heuberger di Geneva ([http1](http://www.osirix-viewer.com/)). Lo scopo del progetto era quello di realizzare una nuova piattaforma software che permettesse di elaborare in modo efficiente ed economico la grossa

mole di dati fornita dalle tecniche di acquisizione multidimensionali senza la necessità di appoggiarsi a costosissimi sistemi hardware e software (Rosset A, 2004).

Lo sviluppo del progetto è nato dall'esperienza di un precedente software multi-piattaforma per Windows e Macintosh che ebbe una larga diffusione, Osiris, un visualizzatore d'immagini DICOM con diverse funzioni: variazione di luminosità/contrasto, ROI management, strumenti di annotazione, misurazione, oltre a strumenti più complessi come il metodo di ricostruzione MPR, etc. (htt2).

Le nuove modalità di acquisizione delle immagini e le necessità che richiedeva il settore medico, diedero la spinta per la realizzazione di questo nuovo software. Nel nome OsiriX, la X indica il passaggio a un unico sistema operativo il MacOS X. Inoltre la X indica anche la compatibilità con la piattaforma Unix e l'adozione del paradigma open-source (Rosset *et al.*, 2004).

Osservando l'architettura del software si può notare come Osiris sia costruito con componenti di programmi open-source già esistenti. I componenti principali sono (Ratib e Rosset, 2006):

- "*Openstep/GNUstep/Cocoa*" un ambiente di programmazione orientato agli oggetti, sviluppato da Apple per il sistema operativo Mac OS X, che offre strumenti di programmazione grafica e permette di progettare e modificare l'interfaccia utente in un ambiente grafico.
- *Open GL*, una libreria grafica per funzioni di visualizzazione di immagini 3D, diffusasi grazie all'evoluzione del mercato dei giochi 3D. Ciò ha permesso di abbassare notevolmente i costi così che ogni scheda grafica di qualsiasi personal computer ha la possibilità di sfruttare l'accelerazione 3D. L'OpenGL permette di manipolare grossi insiemi di dati (oltre 1000 slices CT) in pochi secondi sia come rendering 3D che 2D.
- Il *Visualization Toolkit* (VTK): una libreria open-source per la processazione e la visualizzazione delle immagini 3D che supporta tutti gli standard di ricostruzione 3D: surface rendering, multi-planar reconstruction, maximum intensity projection e volume rendering, ampiamente diffuso nella comunità scientifica.
- *L'Insight Segmentation and Registration Toolkit* (ITK) è una libreria

specifica per l'elaborazione di immagini medicali. È un'estensione di VTK. È stato creato per risolvere alcuni problemi dell'imaging medico, cioè la segmentazione dell'immagine e la registrazione dell'immagine in multimodalità. Fornisce un set completo di algoritmi per la processazione 2D e 3D.

- Papyrus toolkit per la gestione dei file DICOM. Offre tutte le funzioni per leggere e scrivere file DICOM.
- DICOM Offis per le funzioni di rete. Offre le funzioni per richiedere, inviare, salvare e ricevere immagini DICOM all'interno di una rete PACS.
- PixelMed per le funzioni di rete DICOM: uno strumento Java per sostenere la sintassi dei file DICOM per il trasferimento e la manipolazione dei file.
- Quicktime per supportare più formati possibili di file immagine o grafici. Permette di esportare qualsiasi immagine in un formato multimediale standard come TIFF, Photoshop, JPEG, JPEG 2000 e BMP, oppure convertire una sequenza di immagini in formato video (AVI, MPEG e MPEG4). Questo permette anche di aprire dei file non DICOM con OsiriX.

Elaborazione delle immagini

L'interfaccia di OsiriX è molto semplice, i comandi principali sono presenti come icone nella barra degli strumenti (toolbar) ed è composta da tre finestre principali: Database window, 2Dviewer window e 3Dvolume rendering.

1- Importare la sequenza CT o MR

All'apertura del programma compare la *Database window* dove vengono importate le immagini relative al paziente, o ai pazienti, e dove è possibile avere un'anteprima delle immagini.

L'interfaccia che si presenta è divisa in quattro parti:

- ♣ Toolbar dove sono presenti le varie icone per la prima gestione delle immagini, archiviazione e diffusione;
- ♣ Local Database: in cui sono visualizzati i file importati e in cui rimarranno, creando così una lista dei pazienti per permettere una consultazione più veloce.
- ♣ Una parte in basso a sinistra dove vengono visualizzate le singole

slice in serie, come miniature;

- ✦ una parte in basso a destra dove compare un'anteprima dell'immagine 2D, o la sequenza di slice come stack.

Per importare la sequenza d'immagini che ci interessa basta cliccare sull'icona *Import* nella toolbar, si aprirà una finestra di dialogo in cui andremo a cercare e selezionare i file desiderati, che si collocheranno nel Local database.

2- 2D Viewer

Nella toolbar della Database window si trovano diverse icone (per il loro utilizzo si rimanda alla lettura dello user manual dedicato), selezionare l'icona 2Dviewer per accedere alla seconda finestra.

In questa nuova finestra, che viene sovrapposta a quella precedente e a cui si può tornare in qualsiasi momento selezionando l'icona in alto a sinistra *Database*, viene visualizzato solo lo stack delle slice in 2D e nella colonna di sinistra le miniature delle slice.

La tool bar è modificata introducendo nuovi strumenti per l'elaborazione delle immagini. Al centro della barra cliccare sull'icona 2D/3D reconstruction tools, rappresentata da una ruota dentata. Comparirà un menù a tendina divisibile in due sezioni: la prima dedicata alle ricostruzioni MPR (oblique, curve e ortogonali), la seconda presenta le opzioni per le ricostruzioni 3D: la 3DMIP, il volume rendering, il surface rendering e l'endoscopia virtuale. Selezionando volume rendering comparirà un'altra finestra di dialogo in cui verrà richiesto di inserire i dati riguardanti le dimensioni dei pixel, questo perchè i file che noi usiamo non sono dei veri e propri DICOM, come abbiamo precedentemente spiegato, per cui i dati relativi allo slice thickness non sono presenti. Ciò che viene richiesto è il Pixel X Resolution, il Pixel Y Resolution e lo Slice Interval espressi in mm. Queste informazioni si riferiscono alla dimensione in mm del singolo pixel per calcolare la dimensione dell'immagine in mm. X e Y sono le dimensioni del FOV che nel protocollo CT è indicato come B o H, dividendo questo valore per il numero della matrice, nel nostro caso 512, che indica il numero di pixel presenti per riga e per colonna, si ottiene la dimensione delle coordinate X e Y di un singolo pixel. Siccome il FOV ha una sezione quadrata, i due valori saranno identici. La voce Slice interval

si riferisce invece allo spessore dei voxel e trattandosi di voxel anisotropi sarà diverso dagli altri due, qui dev'essere inserito il valore di slice thickness indicato nel protocollo CT dalla lettera S. Inseriti questi dati il programma può procedere alla realizzazione del rendering aprendo una nuova finestra dedicata al 3D con una nuova toolbar definita come VR/MIP Toolbar.

3- Volume rendering

La terza finestra è composta da una nuova toolbar, VR/MIP Toolbar, e dal pannello dove viene mostrato il rendering. Partendo dalla sinistra dell'operatore sono indicate diverse icone che comprendono vari tipi di strumenti. Quelle da noi utilizzate sono:

- *Mouse button function*: contiene le icone delle funzioni utilizzabili tramite il mouse e che servono principalmente per modificare il Window level della finestra elettronica, orientare l'immagine, togliere delle porzioni tramite la funzione di sculpt indicata dall'icona della forbice, fare misurazioni;
- *WL/WW&CLUT&OPACITY*: composto da tre menù a tendina che permettono di modificare il *Window Level* e *Window Width* con la possibilità di applicare delle finestre preimpostate per osso, addome, encefalo, polmone ed endoscopia oppure di modificarli manualmente; il secondo menù, *CLUT*, contiene una lista di Look Up Table, cioè dei filtri con colori preimpostati, che permettono di dare un aspetto più realistico alla ricostruzione. Nelle ricostruzioni effettuate abbiamo usato principalmente il filtro VR-bones trattandosi principalmente di CT di tipo ortopedico. Il terzo menù, *Opacity*, dà modo all'utente di modificare l'opacità della ricostruzione usando dei preset;
- *3D preset*: apre una finestra in cui è proposta una lista di preset per i rendering; nel menù a tendina della finestra è possibile scegliere tra i preset di base, quelli per l'osso o per i tessuti molli;
- *Level of Detail*: per alleggerire la capacità di calcolo si può modificare il livello di dettaglio dell'immagine spostando il cursore su un dettaglio più basso, si può scegliere il livello di dettaglio tra Fine e Coarse;
- *Best rendering*: applica temporaneamente un'azione di smoothing per dare un'immagine di alta qualità, utile per realizzare degli screen shot del

rendering.

- *Cropping cube*: permette di ridimensionare il volume del rendering così da escludere parti che non interessano, o che coprono la struttura d'interesse. Crea attorno al rendering un box di sei facce con al centro di ogni faccia una sfera di colore verde. Spostando la sfera con il mouse si può allontanare o avvicinare la superficie di quella faccia per restringere o aumentare il volume del rendering. Ciò che si trova all'esterno del cubo non viene rappresentato, ma è possibile recuperarlo semplicemente allargando l'area di rendering. Una volta stabilita la dimensione del box basta ridare il comando crop per applicare la trasformazione;

- *Shadings*: questa funzione applica l'ombreggiatura al volume rendering, tramite l'applicazione di valori preimpostati oppure modificando a piacimento le funzioni di Ambient coefficient, Diffusion coefficient, Specular coefficient e Specular power.

Le ricostruzioni sono state archiviate sottoforma di screenshot in immagini in formato jpeg, che rappresentavano diversi punti di vista della struttura esaminata, o a cui sono state fatte delle modifiche come l'asportazione di strutture adiacenti a quelle d'interesse o l'applicazione di filtri diversi.

3. RISULTATI

In questa sessione sono presentate le immagini e le segmentazioni che sono state realizzate con i software citati.

Per motivi di spazio sono stati scelti alcuni rendering esemplari per diverse parti anatomiche e diverse specie animali.

Le elaborazioni sono poi state confrontate con i referti per convalidare o meno una concordanza tra i reperti TAC o MR e le immagini tridimensionali.

3.1 RICOSTRUZIONI DI TESSUTO OSSEO

Di seguito proponiamo alcune delle ricostruzioni tridimensionali effettuate su studi TAC di animali con patologie a carico dell'apparato scheletrico. In tutte le ricostruzioni effettuate è possibile riconoscere le lesioni descritte nei referti.

3.1.1 Cane, Cranio

Il primo caso riguarda un cane, femmina sterilizzata, di razza Welsh Terrier, di 7 anni che mostrava una evidente massa dietro l'orecchio sinistro. L'esame tomografico eseguito, pre e post somministrazione del mezzo di contrasto (*Optiray 300; 2,2 cc/kg pv*), a carico del cranio ha evidenziato la presenza di una massa a densità calcifica (HU=855) di forma ovalare, a contorni regolari, con margini netti, caratterizzata da intenso *enhancement* (HU=+950 post-somm.ne mdc) adesa alla volta cranica in posizione dorso-aborale alla bolla timpanica sinistra ed estendentesi fino al condilo occipitale ipsilaterale (cm 4,5 x 4 x 3). Si osserva lisi a carico dell'osso temporale e del condilo occipitale corrispondenti, nonché l'infiltrazione da parte del processo patologico (cm 1,3 x 1) a carico del lobo cerebrale occipitale e della fossa posteriore ipsilaterali.

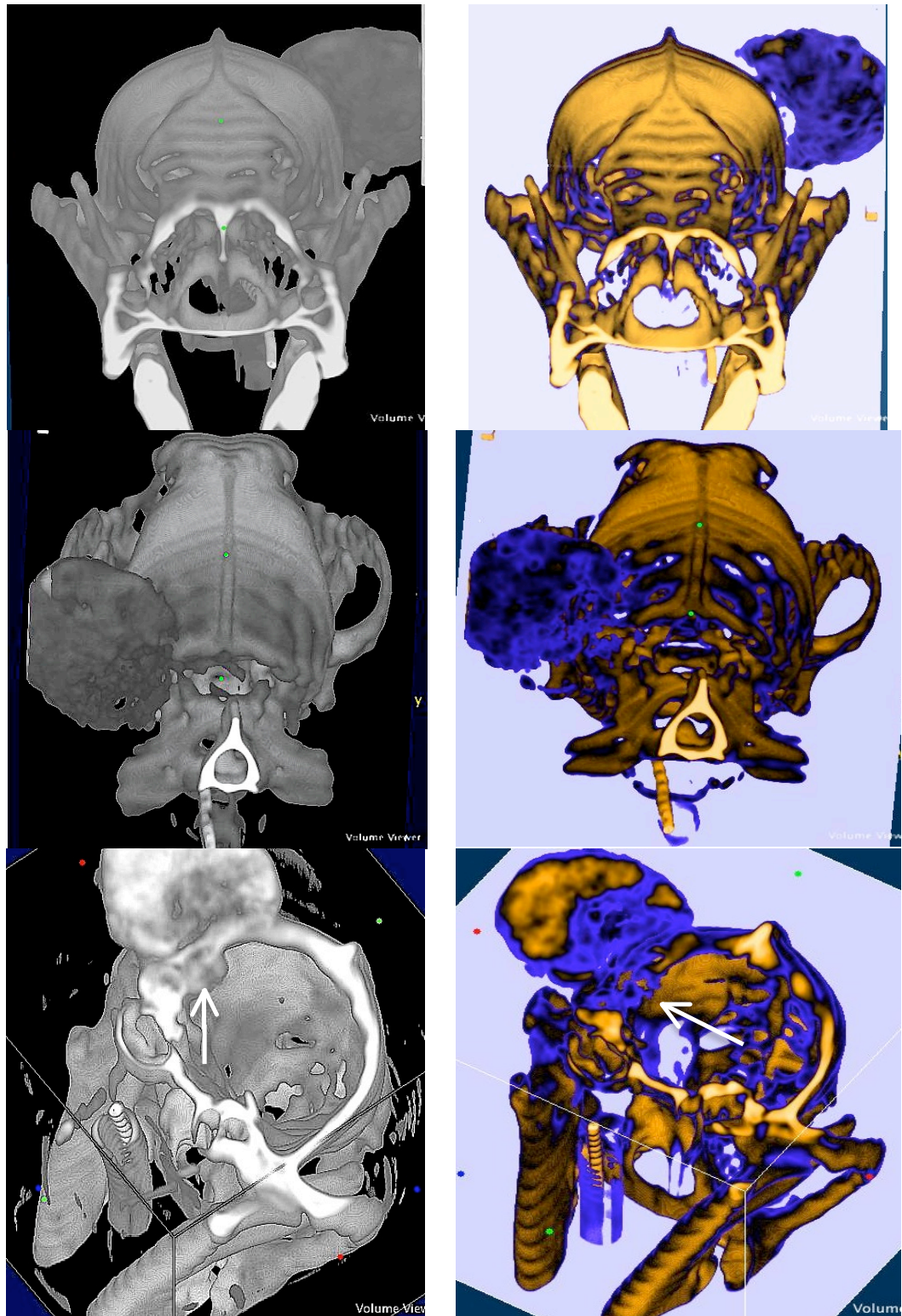


Figura 1 ImageJ: le immagini mostrano le proiezioni cranio-caudale, caudo-craniale e una sezione trasversale a livello delle bolle timpaniche, che mostra la lisi e l'invasione dello spazio intracranico da parte della massa neoplastica. Nella colonna di sinistra il rendering è stato realizzato secondo la scala di grigi, nella colonna di destra è stato applicato il filtro LUT ICA, in cui i tessuti con densità elevata sono presentati in ocra e quelli con densità di tessuto molle, come la massa neoplastica, in viola.

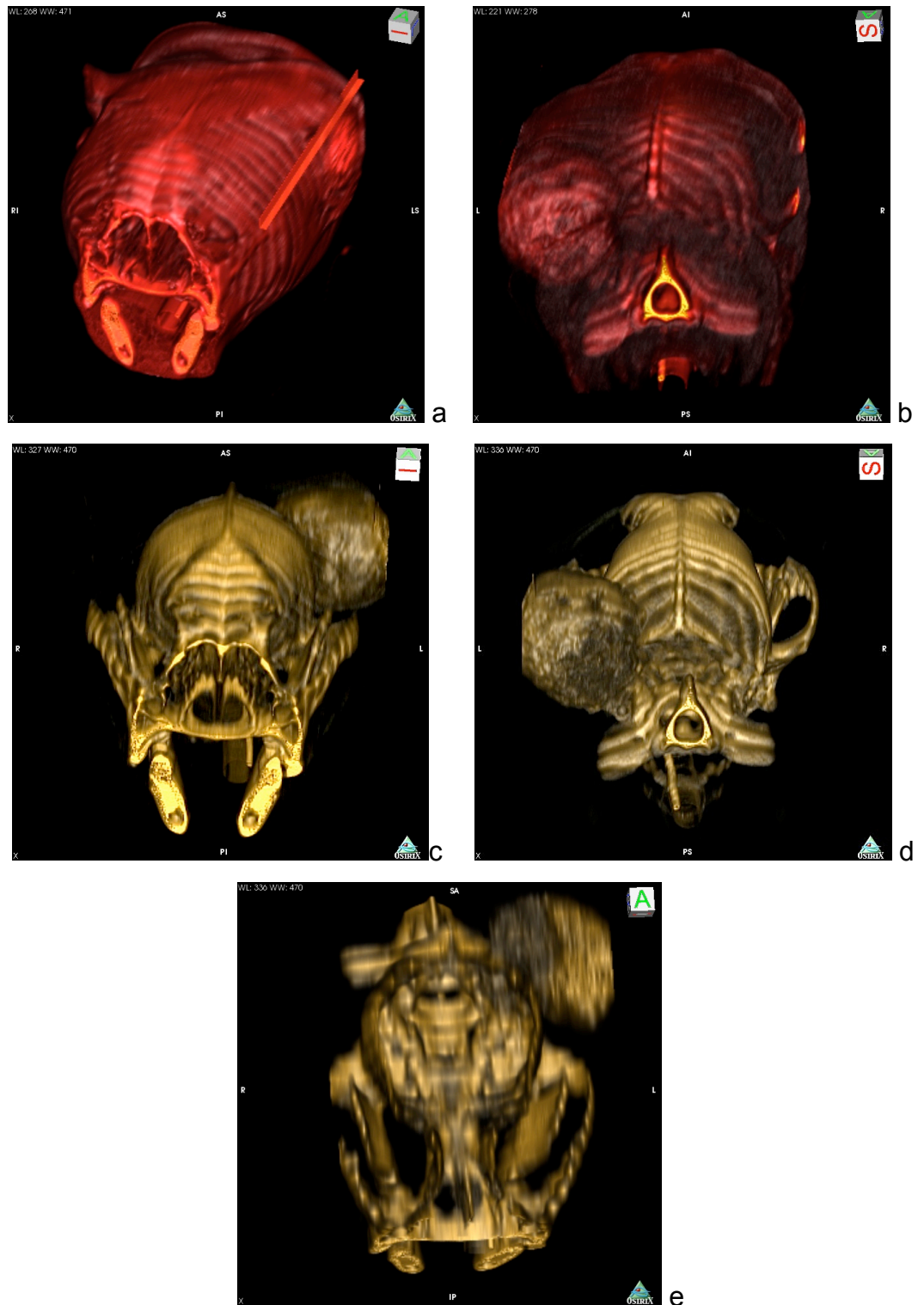


Figura 2 - OsiriX. Figura a) e b): rendering della superficie cutanea dell'animale, rispettivamente in prospettiva cranio-caudale e caudo-craniale realizzati con il filtro VR muscles-bones. Figura b): con una lieve trasparenza della cute ottenuta giocando sui valori di soglia del rendering, è possibile far intravedere la massa sottocutanea. Figura c) visione cranio-caudale del cranio con applicazione del filtro VR-bones, la massa si rende visibile a livello della porzione parietale sinistra. Figura d): prospettiva caudale. Figura e): prospettiva dorso-ventrale dove grazie alla

funzione di Crop è possibile eliminare le porzioni di neurocranio che impediscono di osservarne l'interno. In questo rendering purtroppo l'immagine è molto sfocata, a causa della funzione di blurring applicata dal software per arrotondare i margini che rende difficile verificare l'invasione dello spazio intracranico da parte della massa neoplastica.

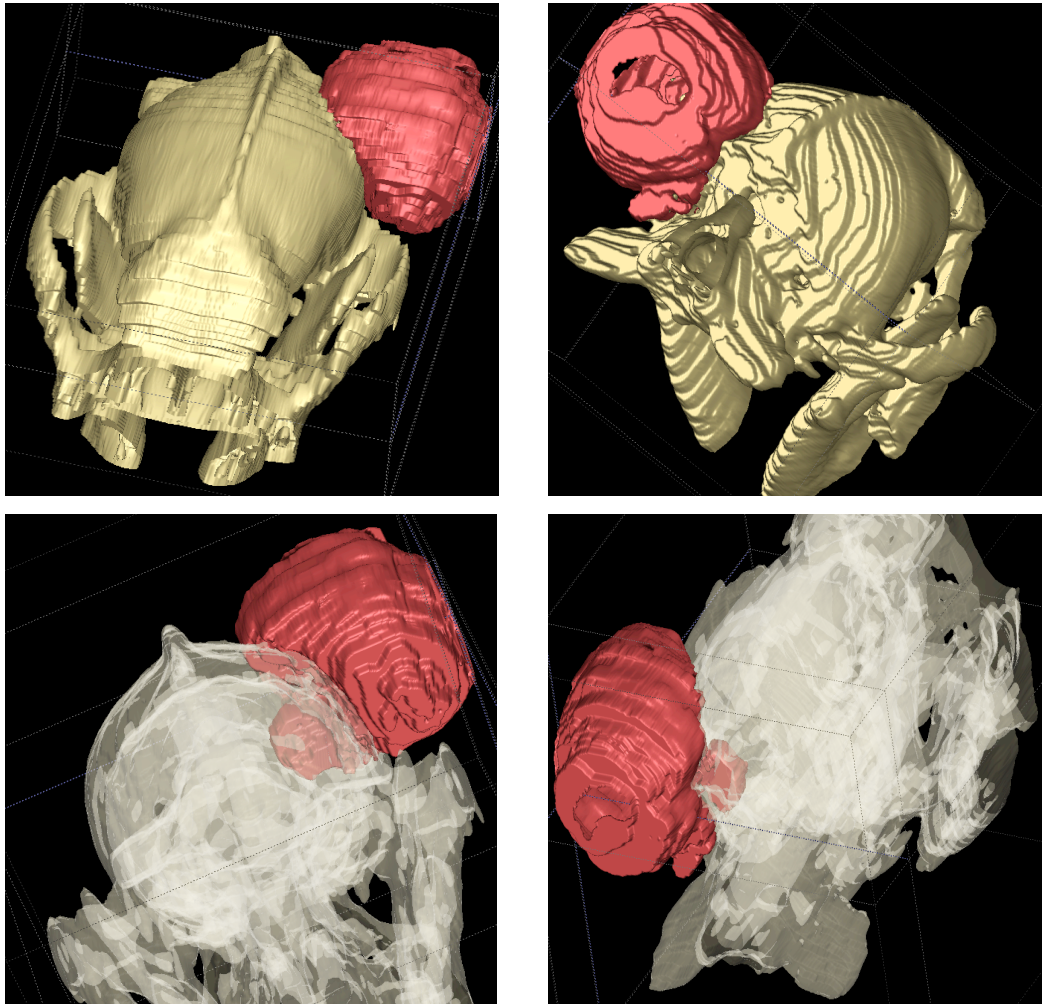


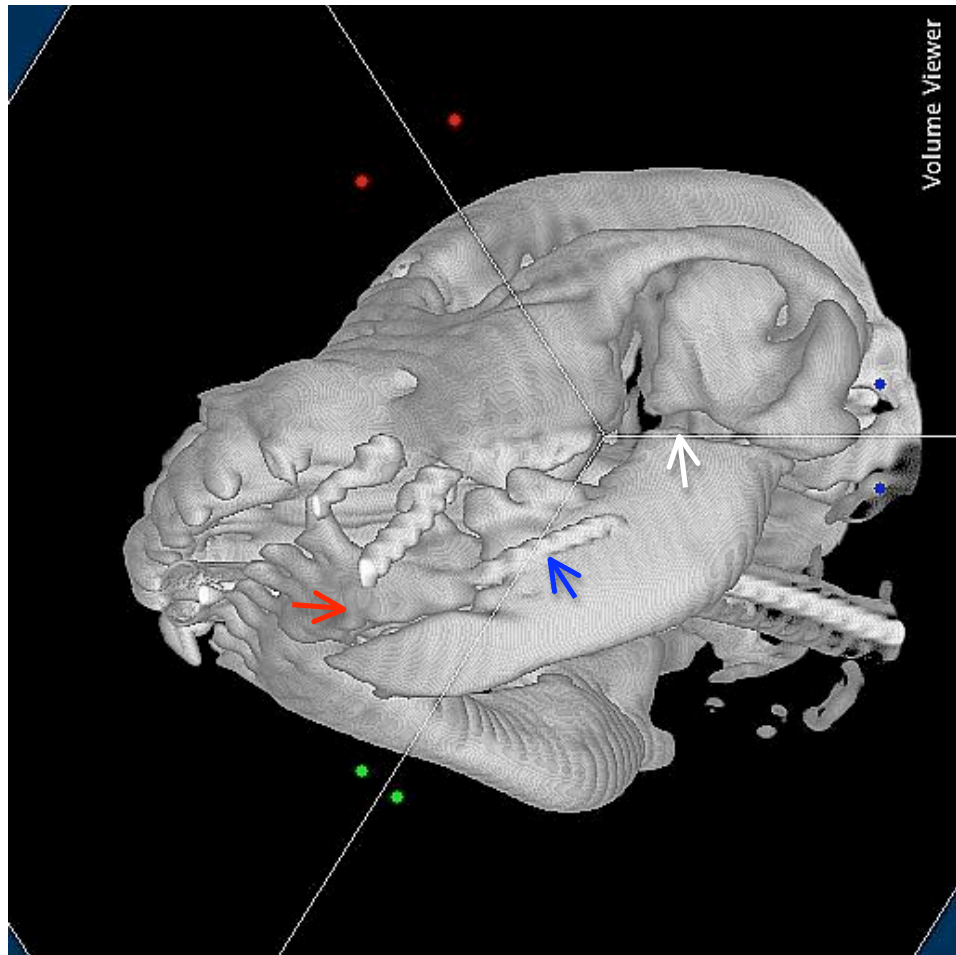
Figura 3 ITK-Snap: in ogni immagine sono rappresentate due segmentazioni una per il teschio e una per la massa neoplastica. Nelle due immagini in basso rendendo trasparente la segmentazione del teschio è possibile notare l'estensione della neoplasia nello spazio intracranico.

	Label Id	# Voxels	Volume (mm ³)	Mean (image)	S.D. (image)
Clear Label	0	11709747	852362	57.9758	39.8233
Label 1	1	1701821	123877	153.761	44.1188
Label 2	2	578452	42106	135.934	28.6458

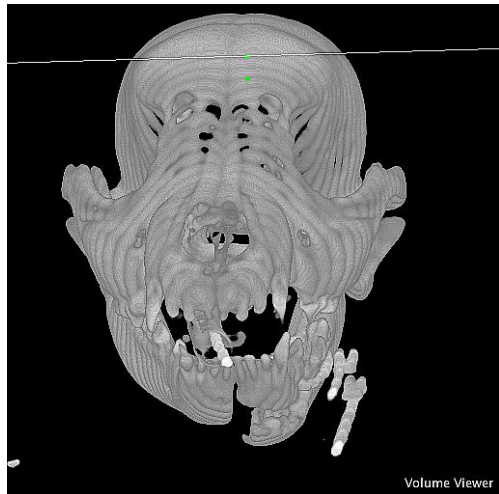
Figura 4 – ITK-Snap: screen shot della funzione “Volume and Statistics” che permette di calcolare il volume delle diverse etichette di segmentazione. In questo caso è possibile ottenere il volume dell’etichetta relativa alla massa, espressa in mm³.

3.1.2 Cane, Mandibola

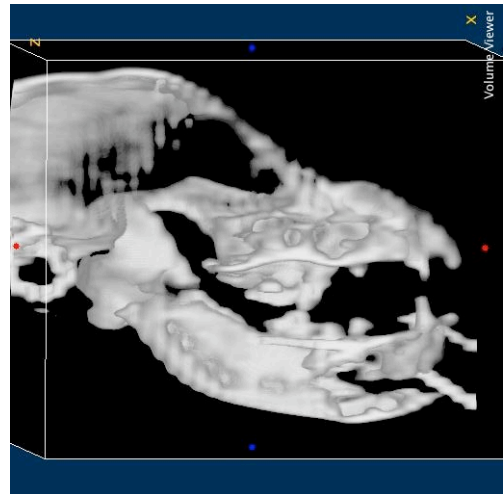
Le immagini seguenti si riferiscono a un cane, maschio, di razza Labrador, di 2 mesi di età, che ha riportato una duplice frattura della mandibola in seguito all’aggressione di un altro cane. Dall’esame radiologico si riusciva ad intravedere appena, solo una delle linee di frattura. L’esame tomografico ha evidenziato la frattura completa con dislocazione *ad latus* a carico della porzione orale del ramo mandibolare orizzontale sinistro e la frattura completa con dislocazione *ad latus* a carico della base della branca montante mandibolare ipsilaterale. Per capire meglio la posizione e l’estensione delle fratture si è ricorsi alla ricostruzione tridimensionale. In seguito utilizzata anche per il planning preoperatorio in sede chirurgica. In questo caso ITK-Snap rende con maggiore chiarezza la posizione delle fratture, oltretutto permette di isolare la porzione di mandibola interessata ed evidenziare con più facilità la posizione di un precedente intervento di cerchiaggio effettuato in un’altra struttura dove non è stata considerata, perché non vista alle radiografie, la seconda linea di frattura a carico del ramo mandibolare.



a



b



c

Figura 5 – ImageJ: Figura a: prospettiva laterale. Le frecce indicano la linea di frattura a carico della porzione più craniale del corpo della mandibola (freccia rossa) e del ramo della mandibola (freccia bianca). La freccia blue indica il precedente intervento di cerchiaggio. Figura b: prospettiva frontale. Figura c, grazie alla funzione "Distance" del Plugin VV permette d'indagare la porzione mediale della mandibola.

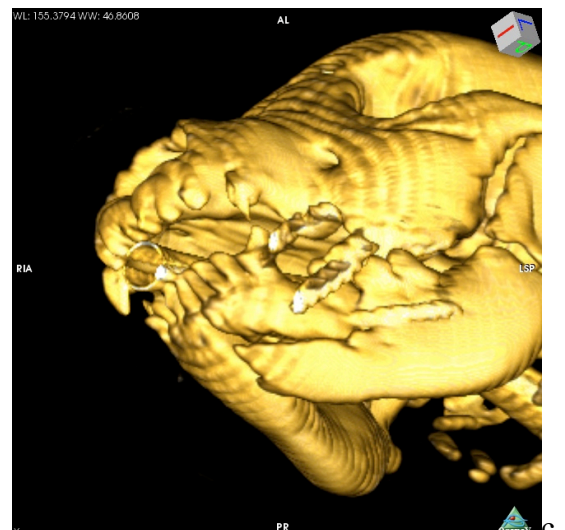
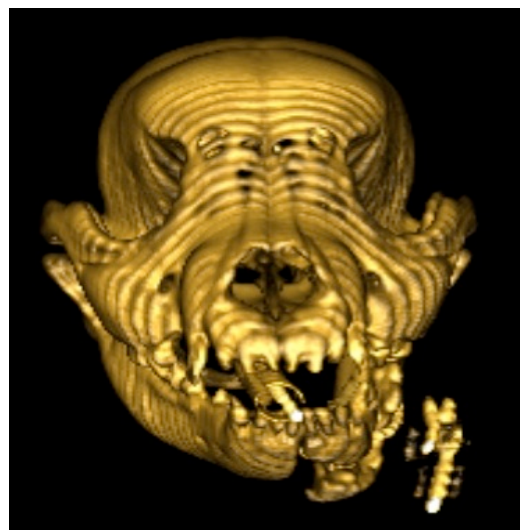


Figura 6 – OsiriX. Volume rendering con applicazione del filtro “VR-bones” e attivazione della funzione di shading. Rispetto a ImageJ, come si può notare non vi sono grandi differenze. Per rendere al meglio il confronto, si è ricreato lo stesso orientamento nelle proiezioni degli screen-shot.

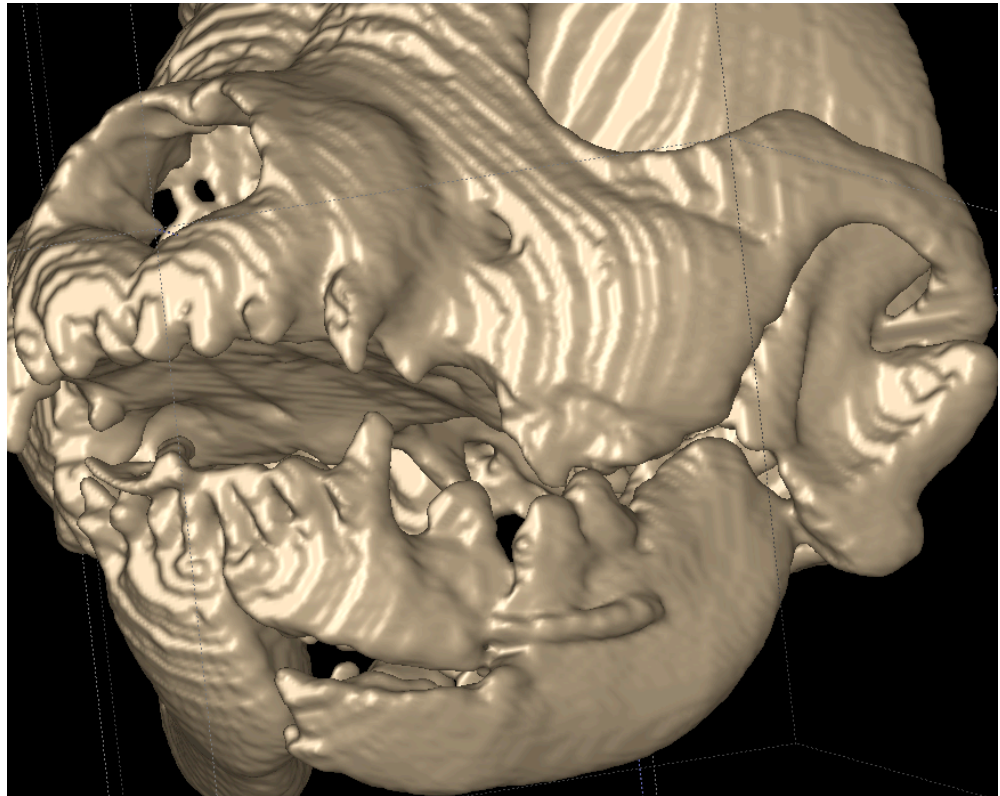


Figura 7– ITK-Snap: immagine simile alla precedente ma realizzata con il programma di segmentazione. Qui si rendono meglio visibili le linee di frattura e il precedente intervento di cerchiaggio a carico della mandibola.

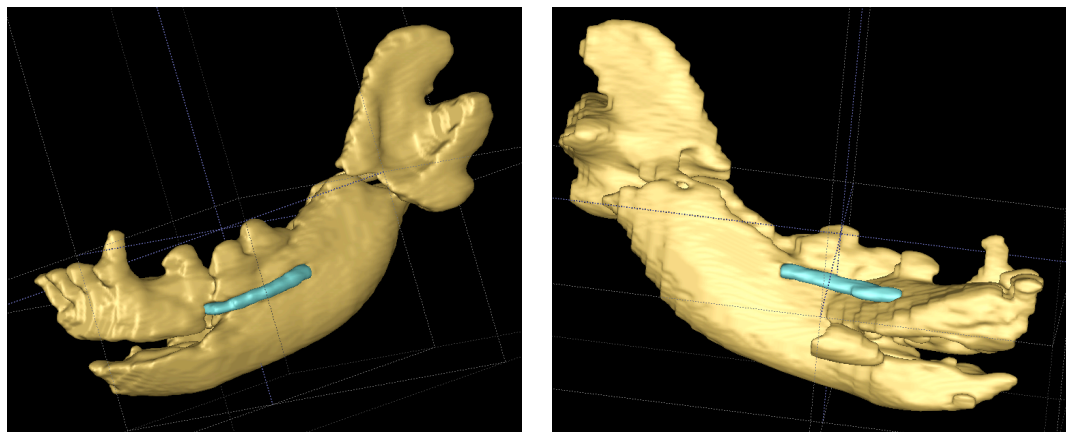


Figura 8 - ITK-Snap: una seconda segmentazione ha permesso d'isolare la mandibola e differenziare il filo di cerchiaggio con maggiore chiarezza. Le figure mostrano, rispettivamente, le proiezioni laterale (a sinistra) e mediale (a destra) della mandibola fratturata.

3.1.3 Cane, Gomito

Le elaborazioni seguenti provengono da un cane Golden Retriever, maschio, di 7 mesi sottoposto a esame TAC dell'articolazione omero radio-ulnare destra e sinistra. Dall'esame è risultato che entrambe le articolazioni presentavano frammentazione del processo coronoideo mediale e un'apparente frammentazione del processo coronoideo laterale sia destro che sinistro. È possibile riconoscere le alterazioni citate anche nelle ricostruzioni tridimensionali effettuate.

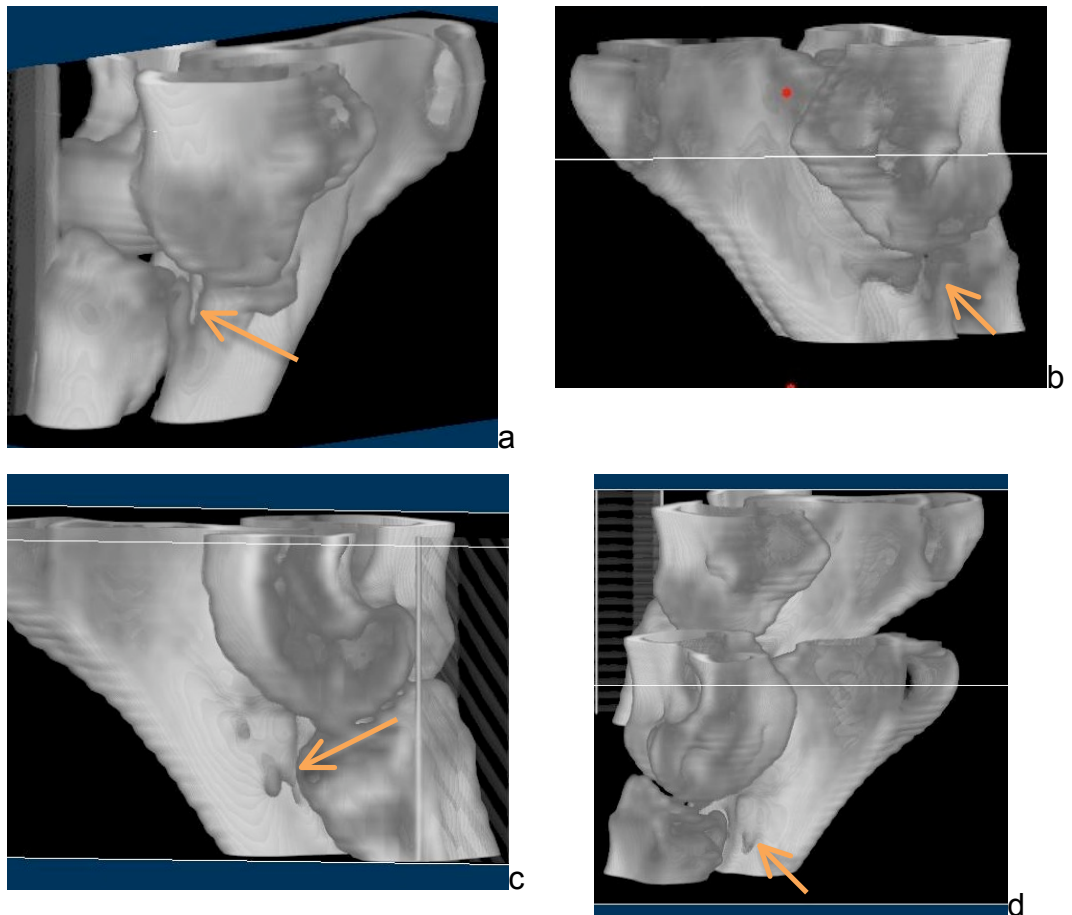


Figura 9 - ImageJ. Figura a: visione mediale cranio caudale del gomito sinistro, la freccia evidenzia la presenza del frammento del processo coronoideo mediale (PCM). Figura b: articolazione destra, prospettiva caudo-mediale, frammento del PCM destro. Figure c e d: (vedute caudo-laterali) indicati dalle frecce si evidenziano i frammenti dei processi coronoidei laterali rispettivamente di sinistra e destra.

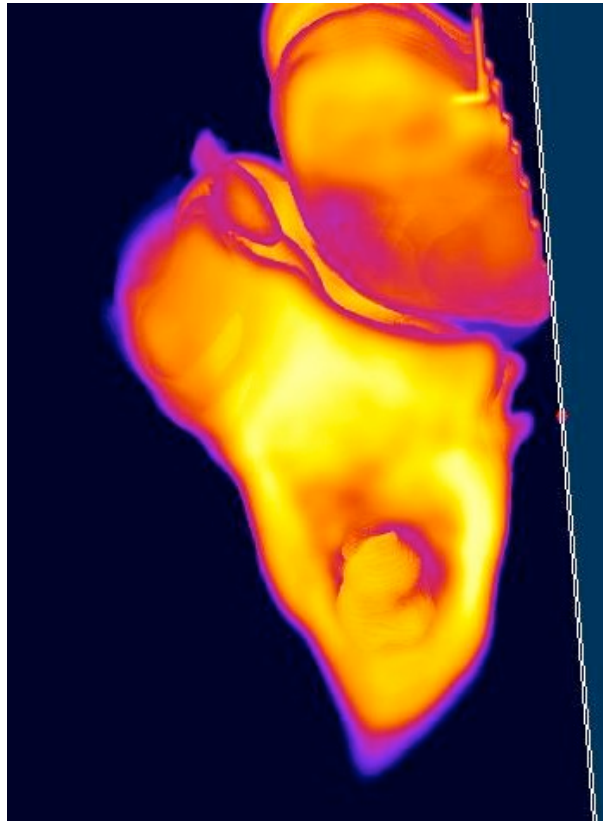
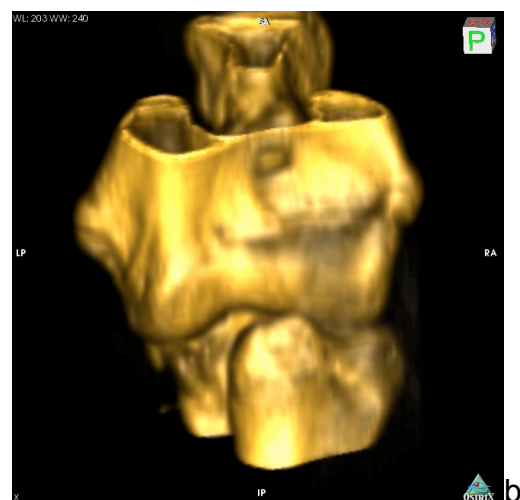
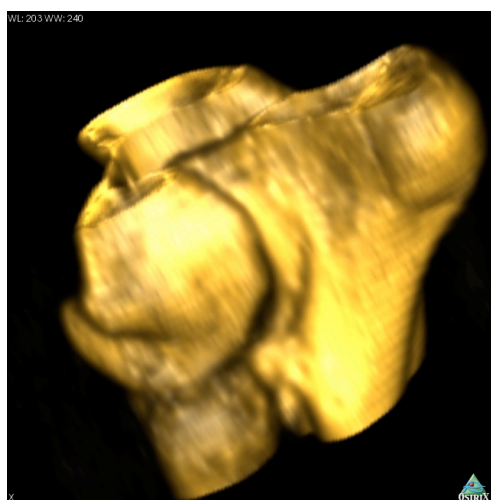


Figura 10 - Image J: prospettiva dorso-ventrale. Applicazione del filtro Fire LUT. Grazie alla funzione Distance del PlugIn Volume Viewer (VV) è possibile esplorare anche strutture più interne dell'articolazione. In questo caso è possibile osservare la porzione dorsale del capitello radiale e il frammento del processo coronoideo mediale (freccia) del gomito sinistro, eliminando l'ostacolo dei condili omerali.



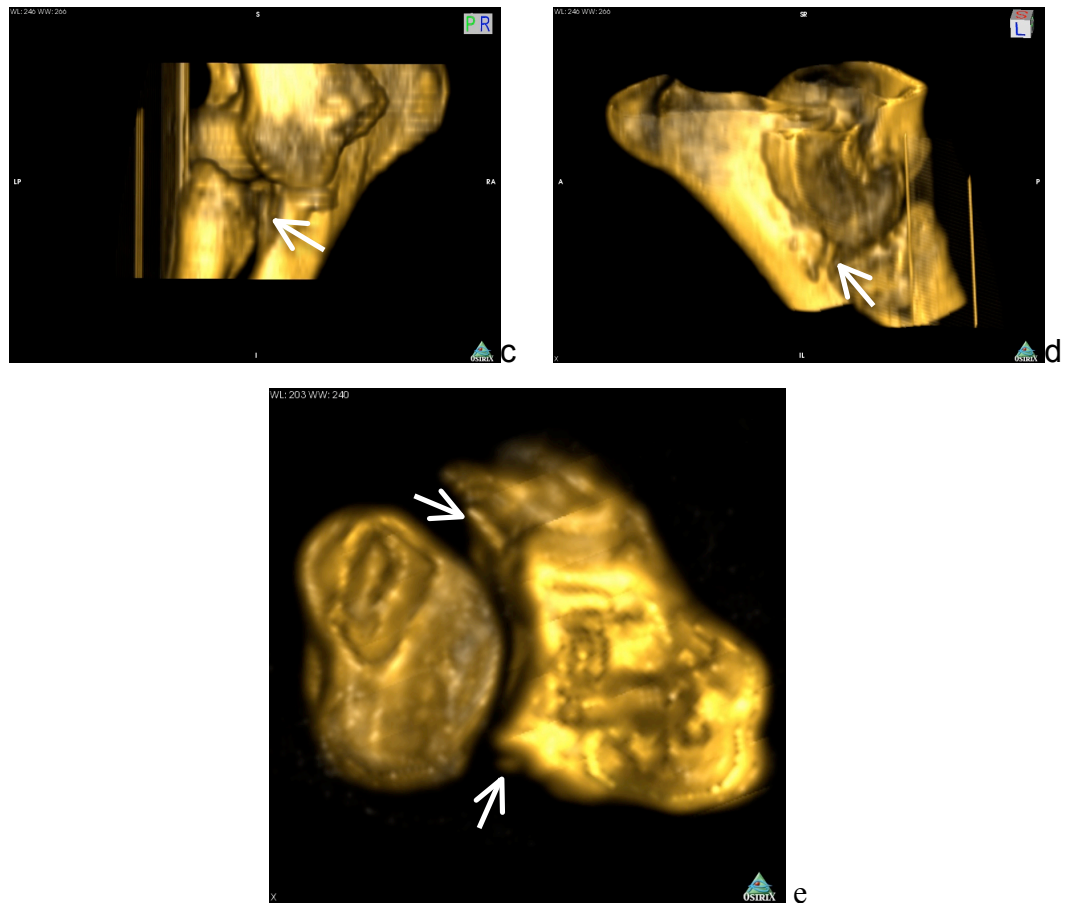


Figura 11 – OsiriX: Si riescono a distinguere i profili dei frammenti dei PCM e con più difficoltà quelli dei PCL. Figure a e b: rispettivamente veduta laterale (ulnare) e anteriore dell'articolazione omero-radio-ulnare di destra. Figure c e d: veduta mediale (radiale) e laterale (ulnare) dell'articolazione dell'arto sinistro. Figura e, veduta dorsale dopo rimozione dei condili omerali dell'arto sinistro tramite la funzione di Crop.

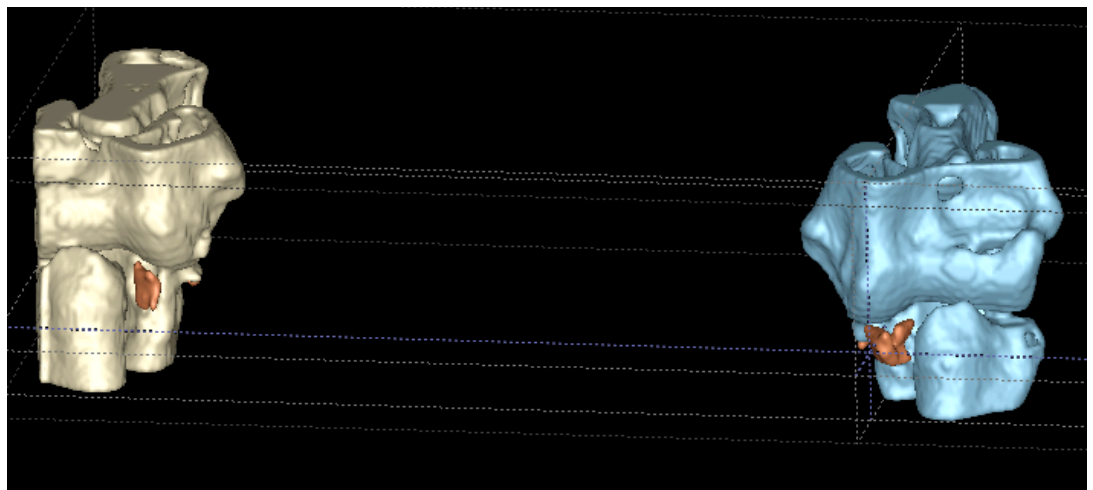


Figura 12 - ITK-SNAP Segmentazione di gomito. Nella segmentazione sono stati differenziati il gomito sinistro in bianco e il destro in azzurro. I frammenti dei processi

coronoidei sono evidenziati in arancione.

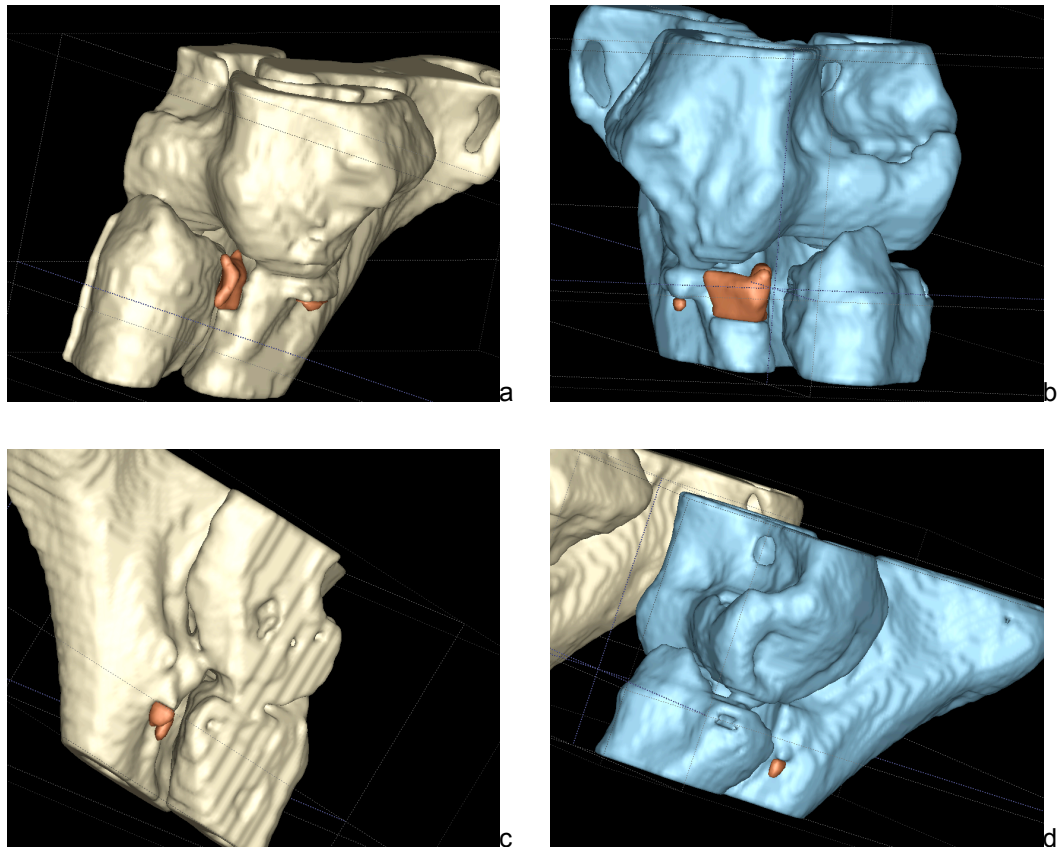


Figura 13 - ITK-Snap: figure a e c rappresentano rispettivamente la veduta mediale e laterale dell'articolazione omero-radio-ulnare di sinistra. Figure b e d: veduta mediale e laterale dell'articolazione dell'arto destro.

3.1.4 Gatto, Articolazione coxo-femorale e sacro-iliaca

Questa sequenza mostra l'articolazione coxo-femorale di un gatto politraumatizzato che ha riportato una frattura diafisaria, obliqua corta, scomposta del femore destro, lussazione dell'articolazione sacro-iliaca e frattura scomposta della sinfisi pubica.

La ricostruzione 3D permette una migliore visuale della conformazione dei diversi focolai di frattura, facilitando la diagnosi, la terapia e la prognosi del caso.

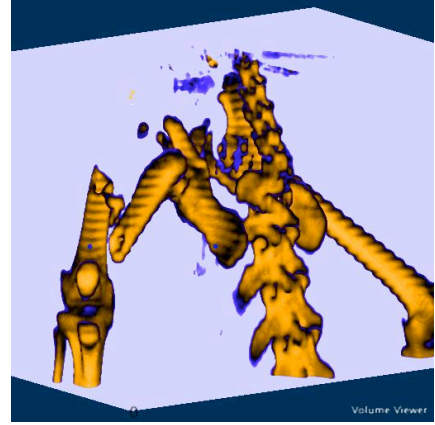
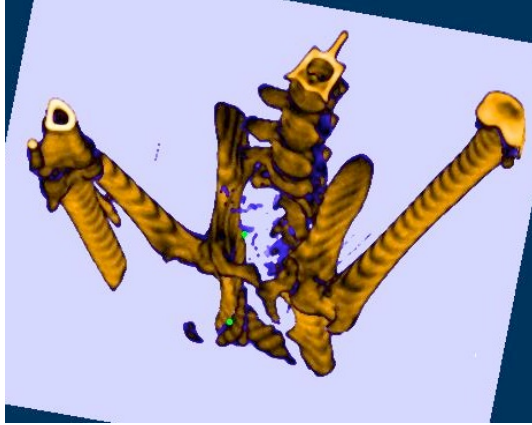


Figura 14 ImageJ: visione cranio-caudale (a sinistra) e dorso-ventrale (a destra) dell'articolazione coxo-femorale e sacro-iliaca, con applicazione del filtro LUT ICA. Si rendono visibili la frattura della sinfisi pubica e del femore destro.

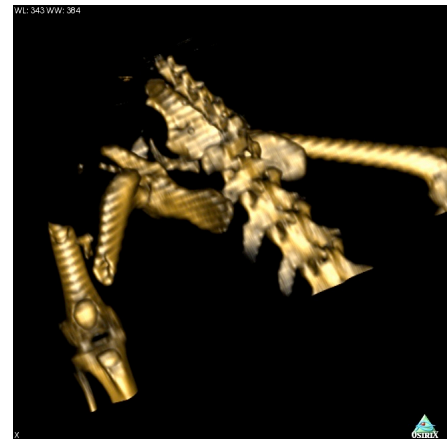
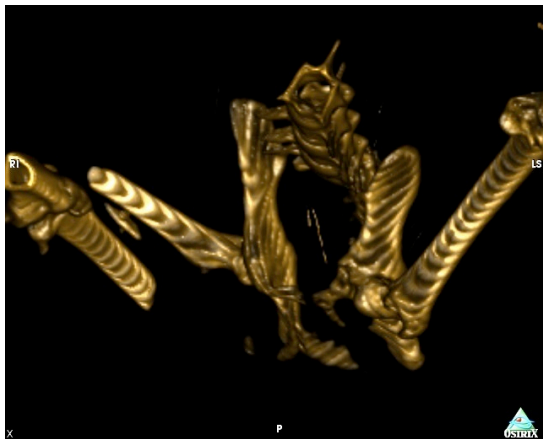
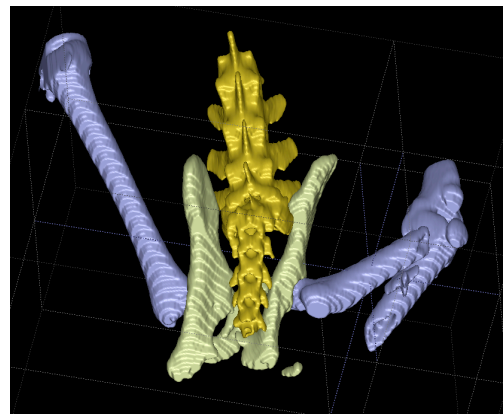
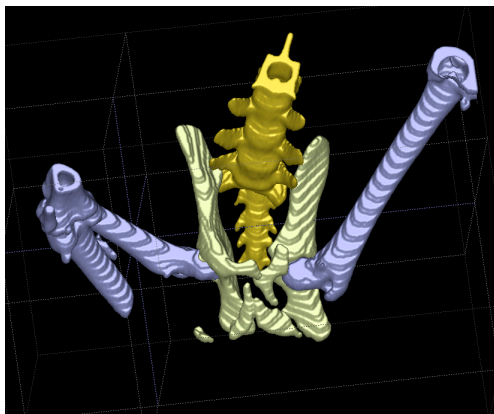


Figura 15 OsiriX: rendering dell'articolazione coxo-femorale e sacro iliaca con applicazione del filtro VR-bones.



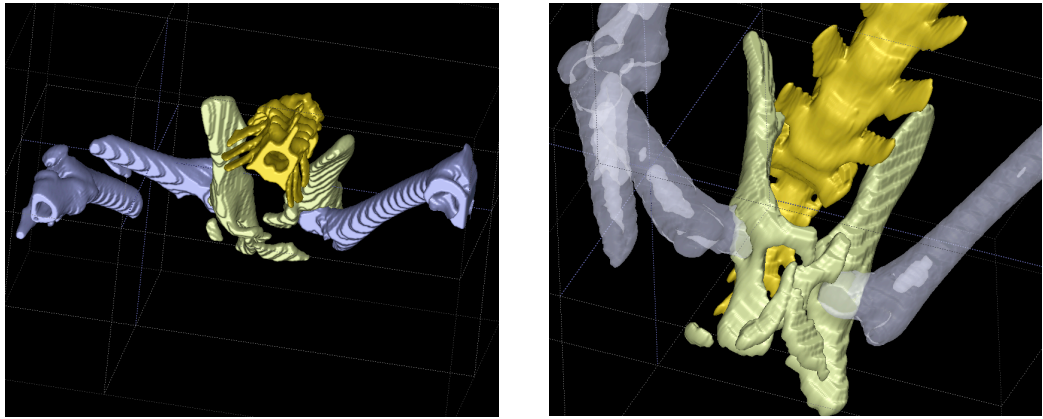


Figura 16 ITK-Snap: queste immagini sono il risultato di tre segmentazioni diverse di: colonna vertebrale, coxale e femore, a cui è stato attribuito un colore diverso per distinguere le diverse strutture anatomiche. La diversità cromatica aiuta nella localizzazione delle diverse parti durante l'osservazione dai diversi punti di vista, rispetto ai rendering monocromatici. Nell'ultima immagine in basso a destra si mostra come sia possibile intervenire sulle singole segmentazioni, modificando la trasparenza della segmentazione delle ossa del femore.

3.1.5 Cane, Articolazione femoro-tibio-rotulea

Le prossime immagini riguardano l'articolazione femoro-tibio-rotulea di un cane femmina di razza Border Collie. Dal referto si enuncia un avanzato grado di degenerazione artrosica a carico dell'articolazione destra. A carico della medesima articolazione, medialmente alla fabella laterale, si rende evidente un'area a densità ossea, a contorni netti, compatibile con una mineralizzazione tendinea. Infine si nota un'alterazione del profilo plantare del condilo femorale laterale destro che si presenta rettilineo, mentre il controlaterale appare convesso.

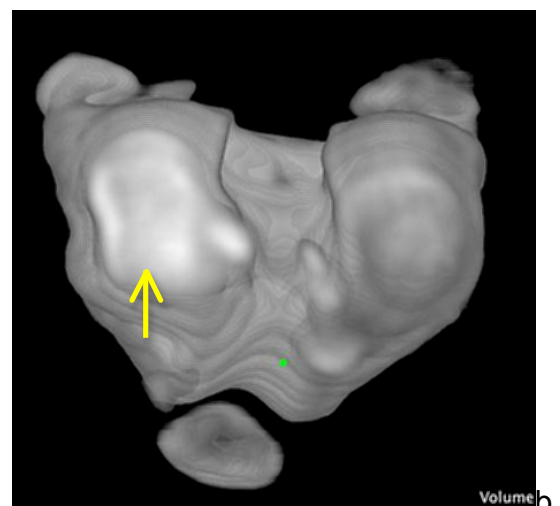
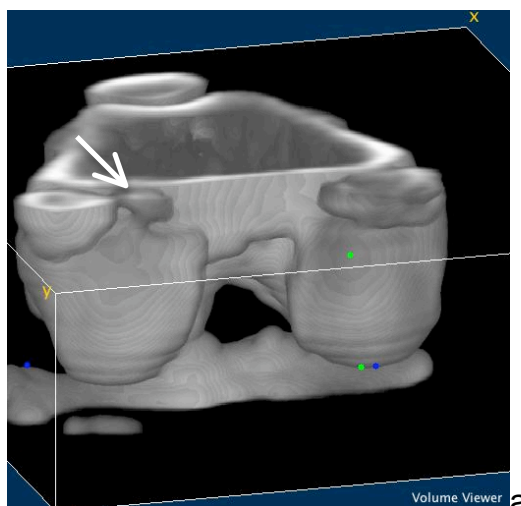


Figura 17 ImageJ. Figura a: prospettiva caudo-craniale del condilo femorale di destra. La freccia bianca indica l'area a densità ossea, ascrivibile a una mineralizzazione tendinea descritta nel referto. Figura b: superficie plantare dei condili femorali. Il condilo di destra (freccia gialla) evidenzia una perdita di convessità come da referto.

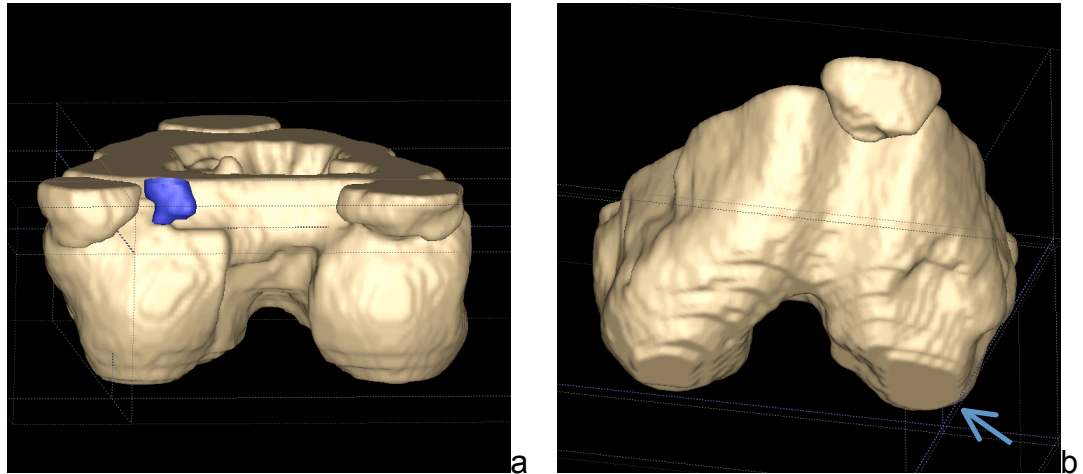


Figura 18 ITK-Snap: nell'immagine a, tramite una seconda segmentazione, è possibile evidenziare la calcificazione tendinea riportata nel referto. Figura b: la freccia indica la rettificazione del profilo del condilo omerale destro.

3.1.6 Cane, Colonna vertebrale

Le seguenti immagini riguardano un cane, maschio, di razza Bovaro Bernese, di 10 anni, sottoposto a mielo TAC della porzione di colonna vertebrale compresa tra C5 e C7. L'esame non ha riportato alcuna evidenza di carattere patologico.

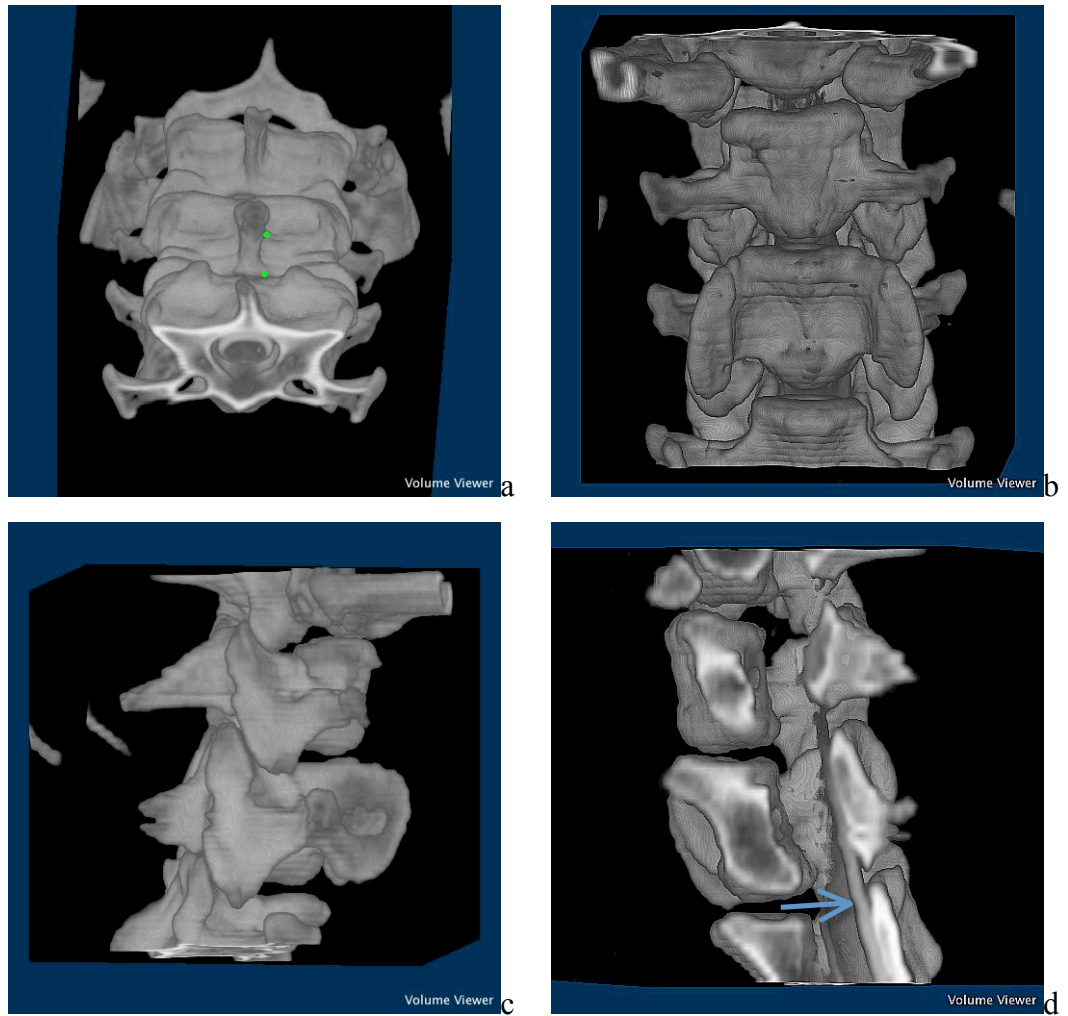
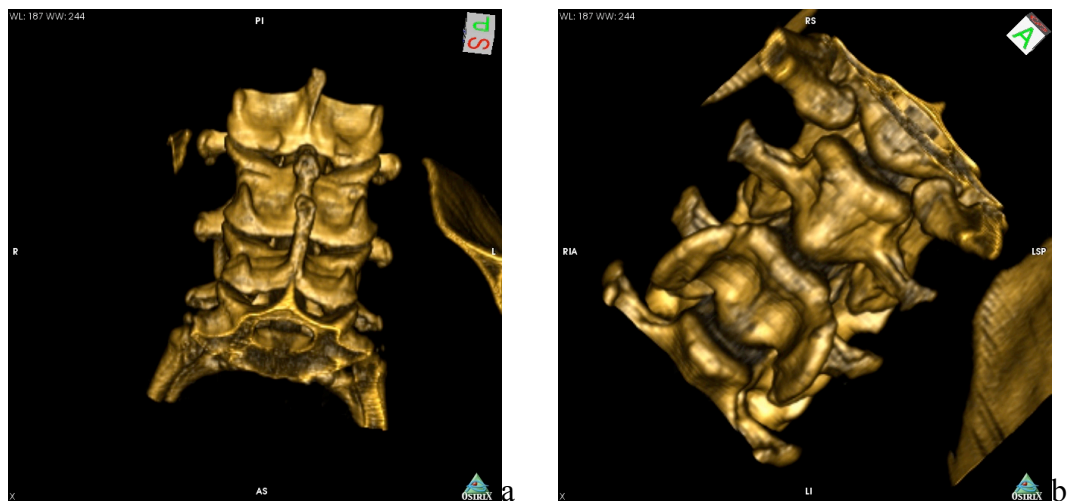


Figura 19 – ImageJ. Figura a: prospettiva cranio-caudale del tratto di colonna C5-C7. Figura b visione ventro-dorsale. Figura c: prospettiva laterale sinistra. Figura d: prospettiva laterale destra ma con sezione sagittale lungo la linea mediana. Le frecce indicano il mezzo di contrasto inserito per la mielografia.



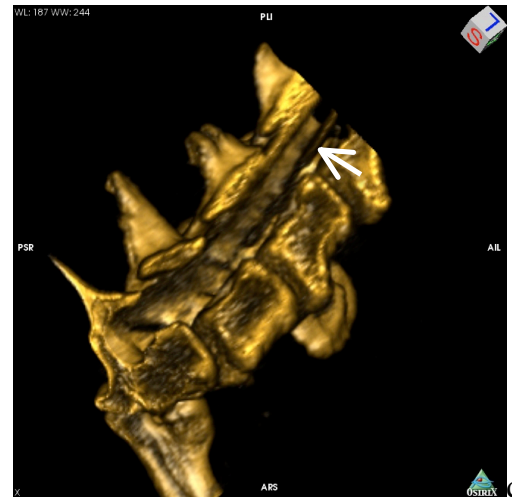
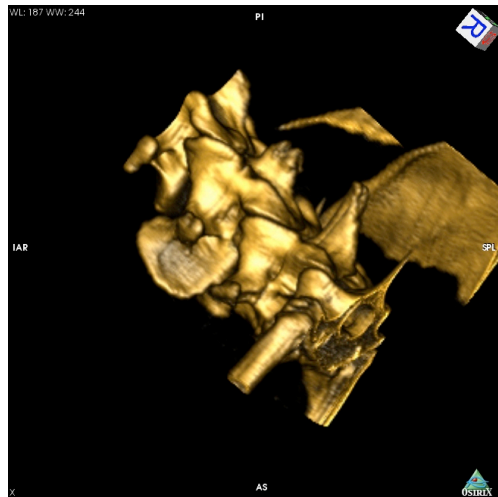


Figura 20 – OsiriX. Figura a: prospettiva caudo-craniale del tratto di colonna C5-C7. Figura b visione ventrale. Figura c: prospettiva laterale sinistra. Figura d: prospettiva laterale destra ma con sezione sagittale lungo la linea medina. Le frecce indicano il mezzo di contrasto inserito per la mielografia.

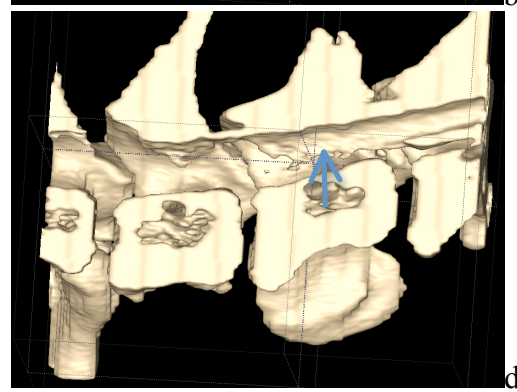
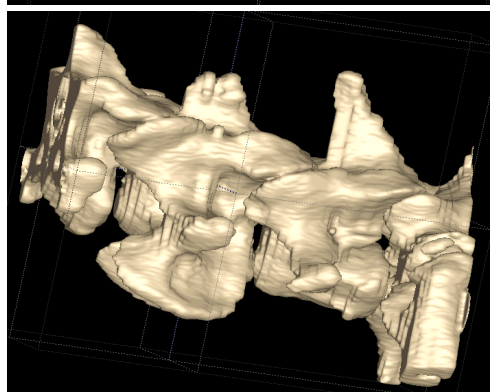
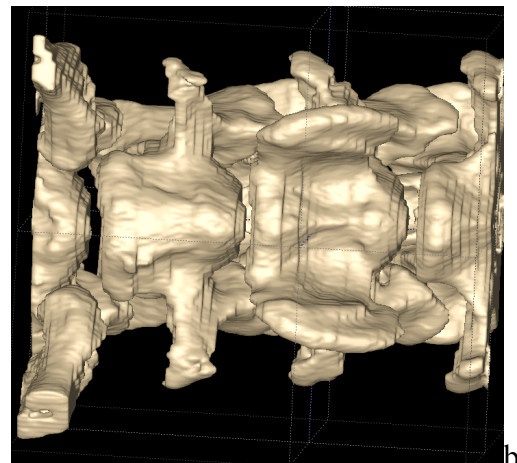
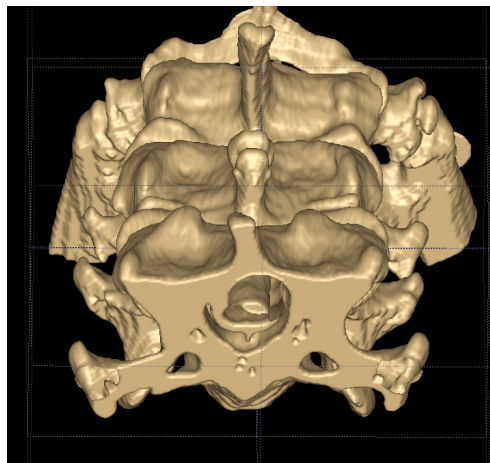
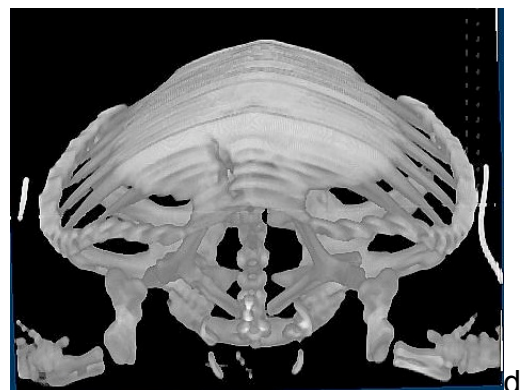
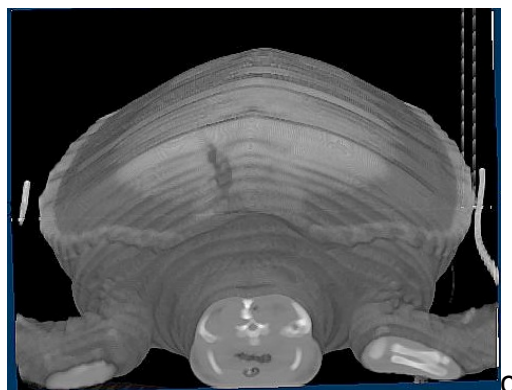
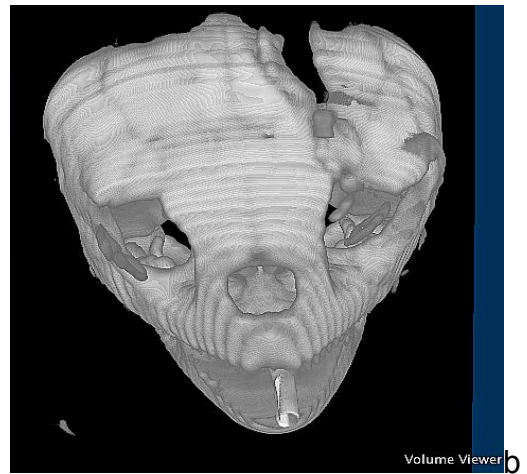


Figura 21- ITK-Snap: Figura a: visione cranio-caudale del tratto di colonna C5-C7. Figura b visione ventro-dorsale. Figura c: prospettiva laterale sinistra. Figura d: prospettiva laterale destra ma con sezione sagittale lungo la linea mediana. Le frecce indicano il mezzo di contrasto inserito per la mielografia.

3.1.7 Tartaruga marina (*Caretta caretta*)

Da ultimo un caso particolare che riguarda una tartaruga marina (*Caretta caretta*) colpita dall'elica di un motore fuoribordo di un'imbarcazione. L'impatto con le pale dell'elica ha causato una ferita nella porzione craniale del carapace e una lesione ben più grave nella porzione parietale sinistra del cranio. La frattura cranica ha coinvolto, oltre alla porzione parietale, anche una porzione più profonda a carico dell'osso quadrato, contenente l'apparato vestibolare, causando perdita di equilibrio e cecità.

Il cranio delle tartarughe (cheloni) è caratterizzato dall'essere privo di finestre temporali (anapside). La regione temporale è racchiusa all'interno di robuste squame ossee nominate parietale, squamoso, postorbitale, sovraoccipitale.



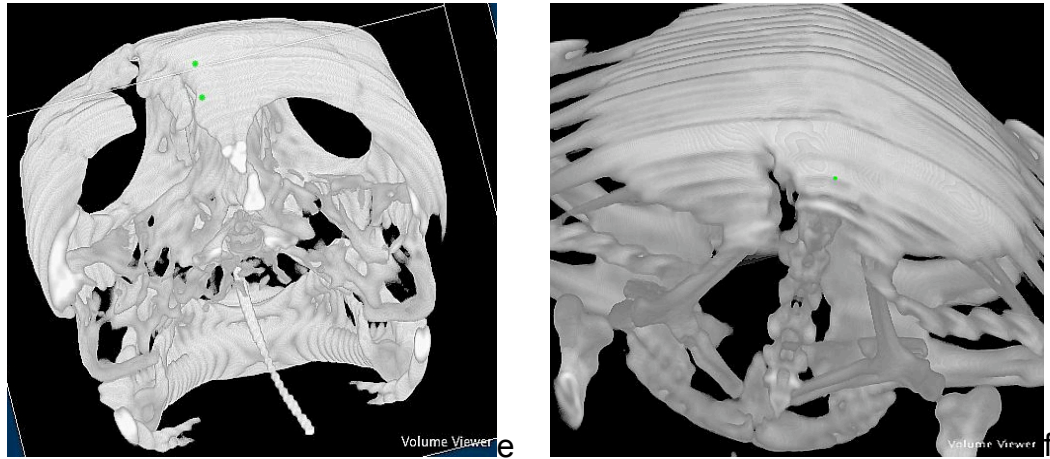
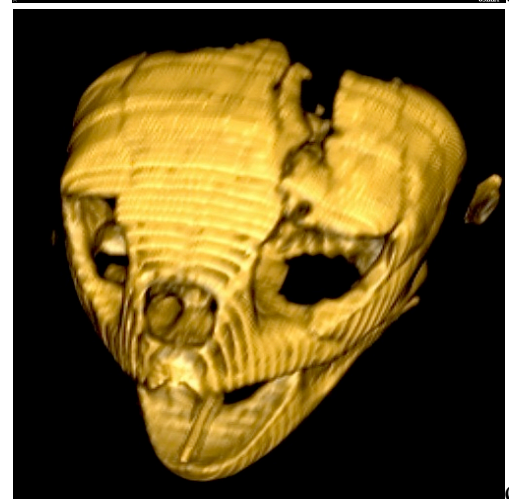
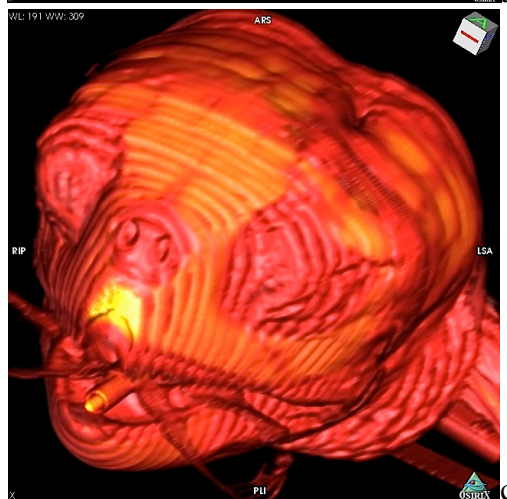
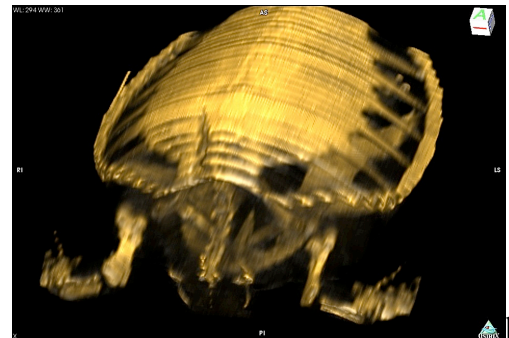
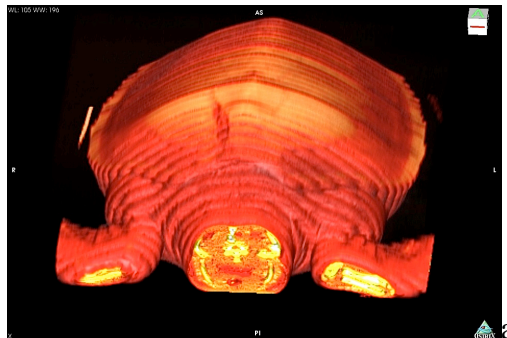


Figura 22 - ImageJ. Figure a e c: rendering completo della testa e del corpo della tartaruga, compresa la cute. Figure b e d: è stata alzata la soglia d'intensità dei voxel per visualizzare solo il tessuto osseo. Viene così messa in risalto la frattura cranica e la ferita del carapace. Figura e: veduta caudale del teschio, con indicata (freccia gialla) la linea di frattura a carico dell'osso quadrato. Figura f: la freccia bianca indica la linea della ferita del carapace.



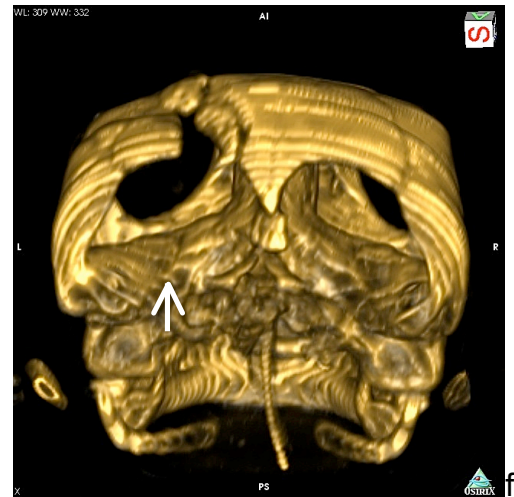
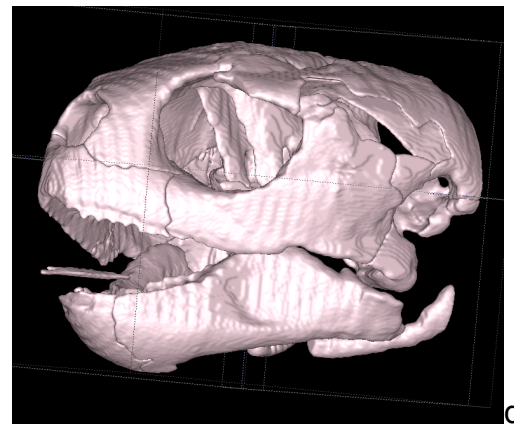
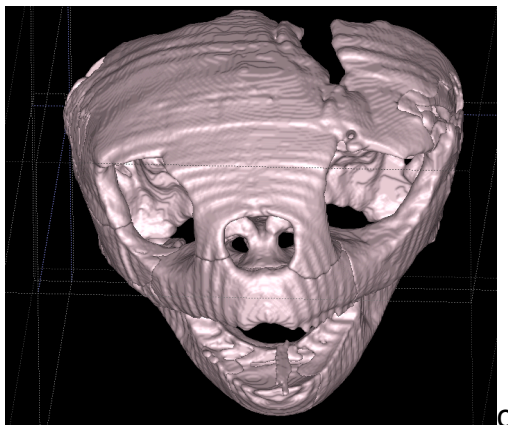
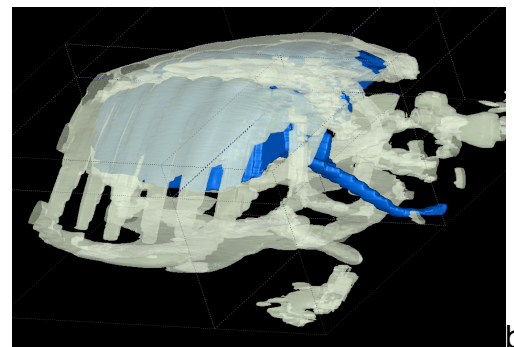
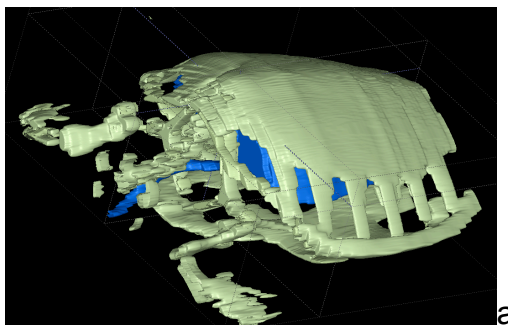


Figura 23 - OsiriX Figura a e c: mostrano i rendering completi del corpo e della testa con l'applicazione del filtro VR muscles-bones. Figura b e d: alzando il livello di soglia dei voxel rappresentati si mette in risalto solamente l'apparato scheletrico, visualizzato con il filtro VR-bones. Figura e: tramite la funzione Crop si riesce ad indagare più comodamente la porzione interna della cavità intracranica, eliminando gli ostacoli. Figura f: visione caudale del cranio. Sia in e che in f le frecce indicano il punto di frattura a carico dell'osso quadrato.



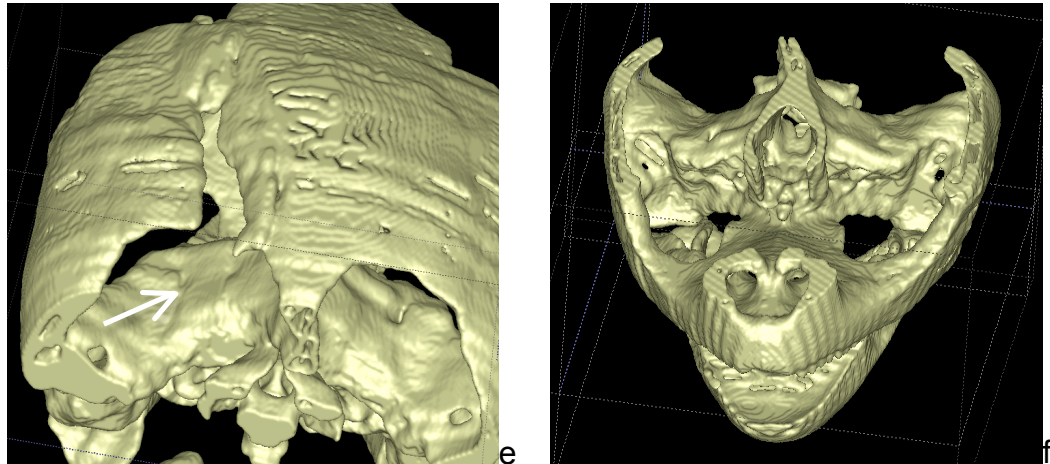


Figura 24 – ITK-Snap. Figure a e b: segmentazione dell'apparato scheletrico del corpo della tartaruga in verde, in blu l'estensione del suo parenchima polmonare e della trachea. Figura b: è stata aumentata la trasparenza del tessuto osseo per mostrare il parenchima polmonare nascosto sotto il carapace. Figura c, d ed e: rispettivamente visone cranio-caudale, laterale e caudo-craniale della testa della tartaruga, in particolare si rende evidente in figura e la linea di frattura a carico dell'osso quadrato. Figura f: tramite lo strumento "3D Scalpel" mostra l'interno della scatola cranica.

3.2 TESSUTI MOLLI

Di seguito vengono mostrate le ricostruzioni effettuate su di una TAC addome di un cane, femmina di razza Pastore Tedesco, di 10 anni.

L'esame tomografico assiale, eseguito *pre e post* somministrazione del mezzo di contrasto (*Optiray 300; 2,2 cc/kg pv*), della regione addominale ha evidenziato una diffusa disomogeneità del parenchima splenico associato a notevole ingrandimento dell'organo, ad alterazione della forma ed alla conseguente paratopia dello stesso. Parimenti, si rileva un anomalo *enhancement* ed addensamento peritoneale con presenza di un'area a densità calcifica nastriforme della lunghezza di circa 3 cm in posizione ventrale al rene sinistra, lateralmente al corpo splenico. Una dubbia disomogeneità (meritevole di approfondimento ecografico) è rilevabile anche a carico del parenchima del lobo epatico laterale destra.

Il quadro suggestivo di lesione neoplastica diffusa a carico del parenchima splenico e peritoneale non è rilevabile nei rendering e segmentazioni realizzati.

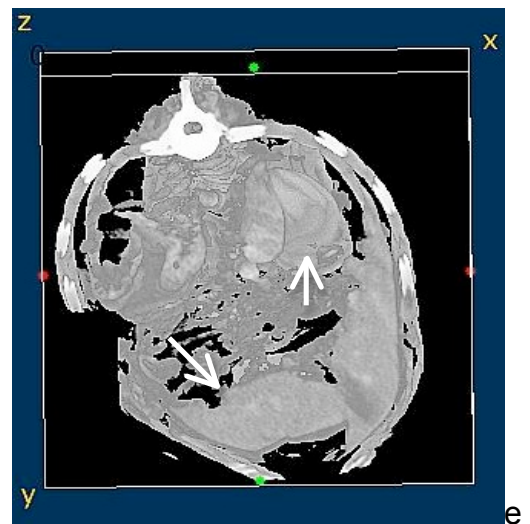
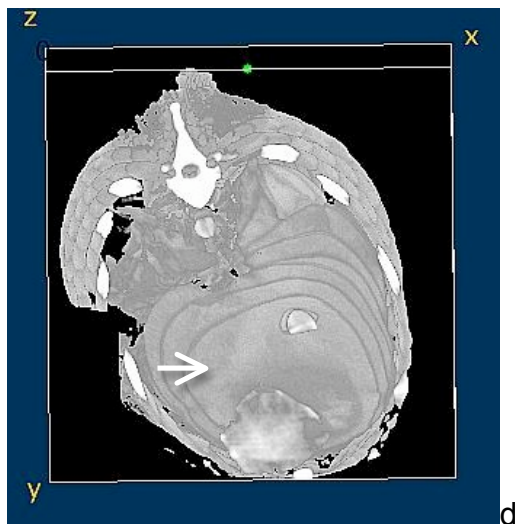
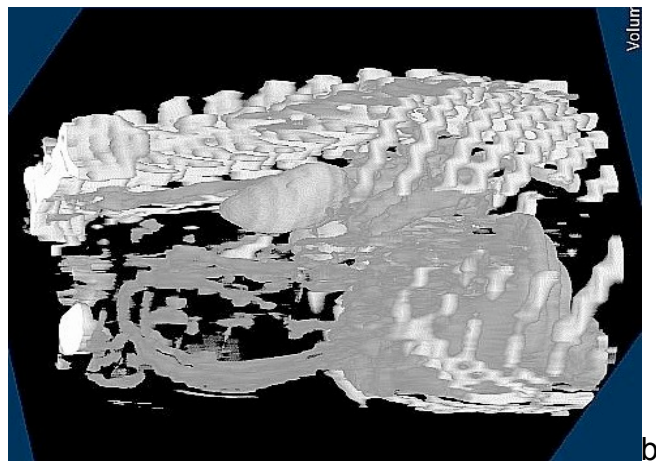
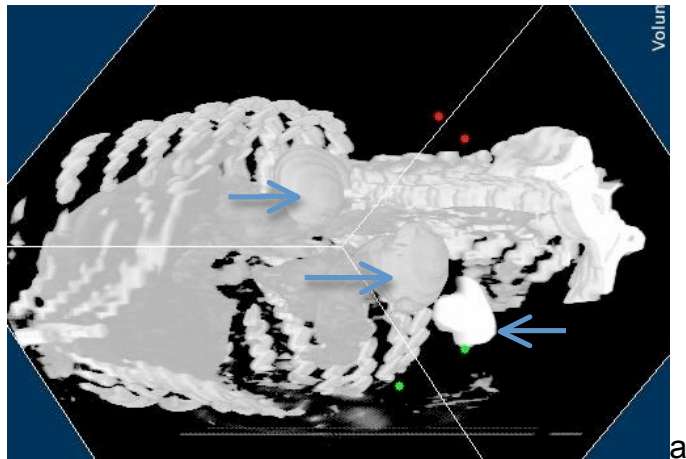


Figura 25- ImageJ: Figura a: immagine ventro-caudale in cui si riescono a distinguere solamente le strutture a maggiore densità. Si riconoscono quindi coste e colonna vertebrale, reni in seguito all'iniezione di un mezzo di contrasto e polo craniale della vescica, indicati dalle frecce. A causa della scarsa differenza di densità tra gli altri organi addominali, non si riescono a distinguere altre strutture all'infuori di qualche ansa intestinale. Figura b: veduta laterale. Figura c: veduta dorsale. Figure d ed e: rappresentano una visione cranio-caudale con un diverso grado di approfondimento della sezione. Figura d: la freccia indica la faccia diaframmatica del fegato. Figura e: le frecce

indicano la sezione del parenchima epatico e il lobo craniale del rene destro.

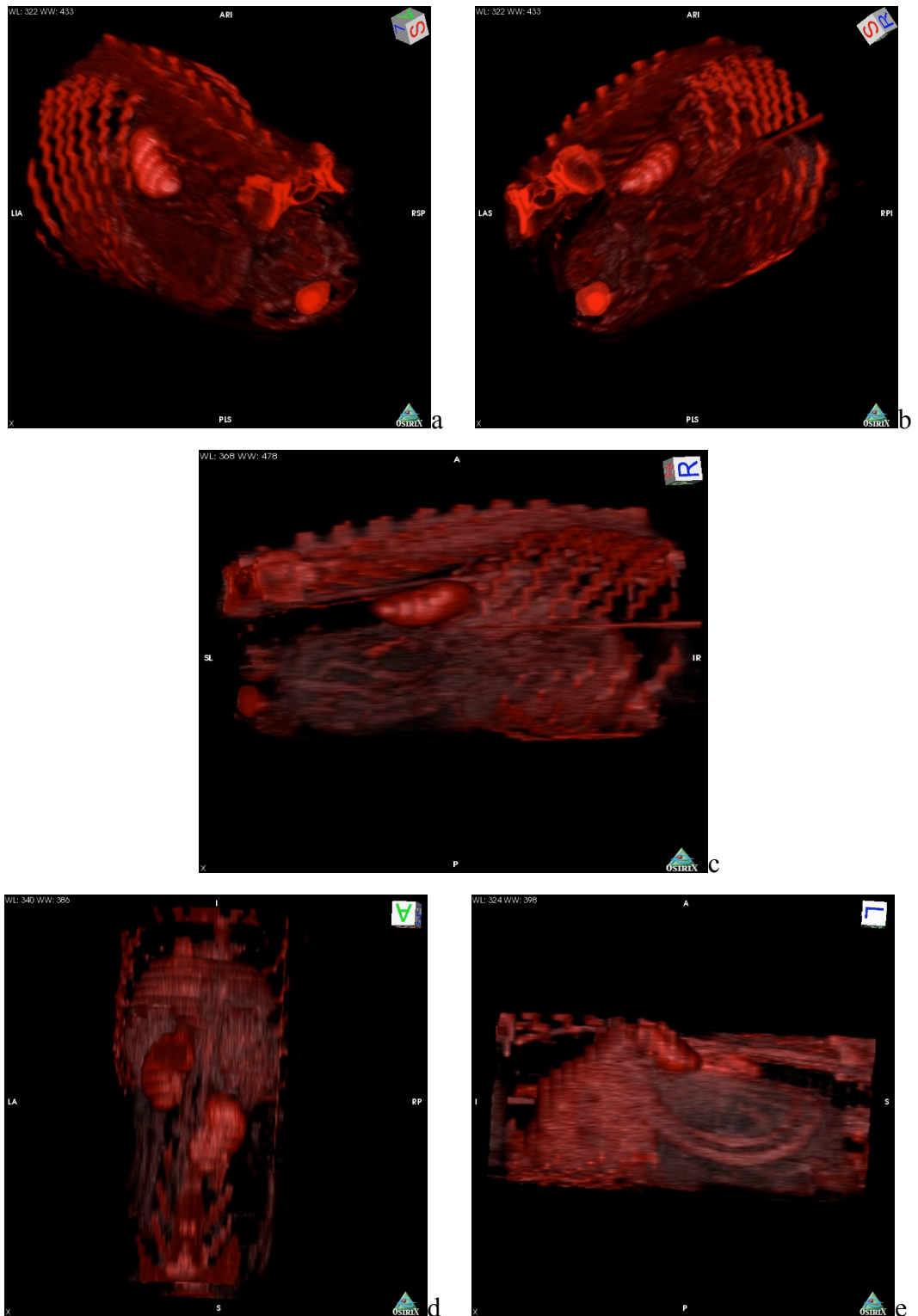


Figura 26 - OsiriX: applicazione del filtro VR-muscle-bones. Figure a e b: rispettivamente profilo caudo-laterale destro e caudo-laterale sinistro. Si riescono a distinguere meglio alcune anse intestinali che si evidenziano in maniera più nitida nelle figure c, d ed e aumentando la soglia di densità dei voxel. in trasparenza nelle figure c ed e si distingue il

foglietto peritoneale. Sia con Osirx che con ImageJ non si riescono a distinguere fegato e milza e i loro rapporti.

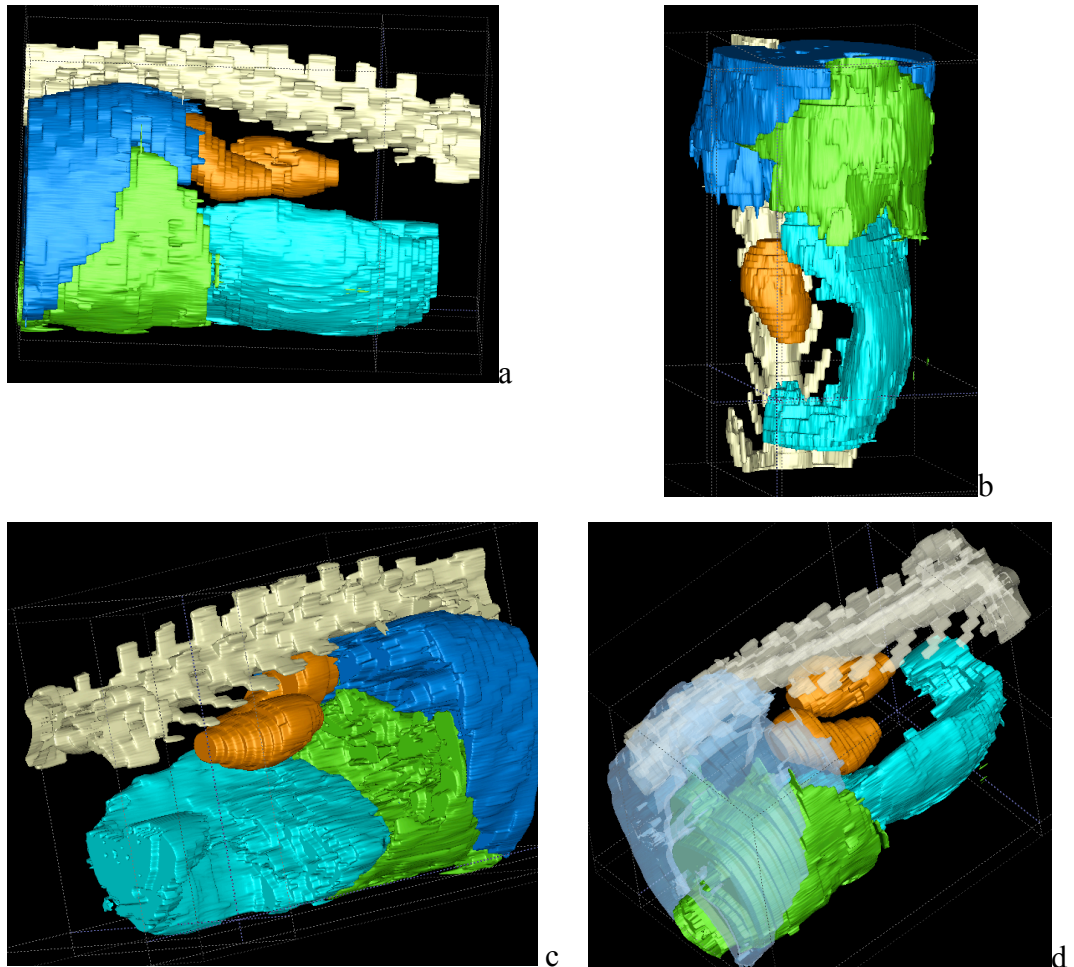


Figura 27 - ITK-Snap: immagine composta da 5 tipi di segmentazione che corrispondono ognuna ad un organo diverso distinto sulla base delle sezioni tomografiche. In bianco la colonna vertebrale, in blu il parenchima polmonare, in verde il fegato, in arancione i reni e in azzurro la milza. In questo modo si riescono a differenziare alcuni organi addominali, ma i loro margini non sono comunque così netti da poter esser leggibili e utilizzabili. L'unica evidenziabile è paratopia splenica nel quadrante destro dell'addome.

3.3 RICOSTRUZIONI 3D DA RISONANZA MAGNETICA*

In questo lavoro abbiamo utilizzato immagini da MR di gatti colpiti da meningioma.

I meningiomi sono i tumori più frequenti del SNC, nel gatto anziano hanno una frequenza del 58%, la loro eziologia è sconosciuta e la loro localizzazione è ubiquitaria, cioè ovunque ci siano cellule meningo-endoteliali. La sede più frequente è parasagittale, sulle convessità degli emisferi cerebrali e sulle aree tentorio-cerebellari. I meningiomi sono tumori solitari di forma sferica, lenticolare o pedunculata.

Per la loro evidenziazione tramite metodiche radiografiche la semplice radiografia non ha alcuna utilità in quanto la caratteristica bidimensionale non permette di identificare la sede precisa del tumore sia per determinare la possibile sintomatologia correlata, sia per un eventuale intervento chirurgico. La CT e MRI sono invece le metodiche di elezione per lo studio di questa neoplasia. La CT evidenzia solitamente una massa iperdensa, adiacente alla dura madre con alterazioni osteolitiche e iperostosi, effetto massa marcato e il possibile edema correlato; l'immagine può essere rinforzata dall'uso di un mezzo di contrasto iodato. La MRI è l'esame collaterale con la maggior accuratezza in quanto mi permette di definire l'influenza del tumore sulle strutture encefaliche adiacenti; da questo posso ricavare un immagine che può risultare a volte disomogenea a causa del diverso grado di vascolarizzazione e calcificazione del tumore. Entrambe queste metodiche sono valide per la localizzazione accurata del tumore e le alterazioni a carico del sistema ventricolare, ma la CT non permette di studiare quelle legate all'effetto massa come la dislocazione e la compressione delle altre strutture. Questo perchè la MRI ha alla base un concetto diverso di formazione dell'immagine.

La CT è una metodica introdotta in medicina veterinaria negli anni '80 che utilizza raggi-X e fornisce immagini bidimensionali di sezioni del corpo dello spessore di 1,5-10 mm. La MRI non utilizza raggi-X, ma dipende da un complesso fenomeno fisico di rotazione di particelle subatomiche, i nucleoni (protoni e neutroni), all'interno di un campo magnetico.

* Le immagini da cui sono ricavate queste ricostruzioni provengono da studi di risonanza magnetica eseguiti dal prof. Marco Bernardini che ha cortesemente concesso l'uso delle stesse.

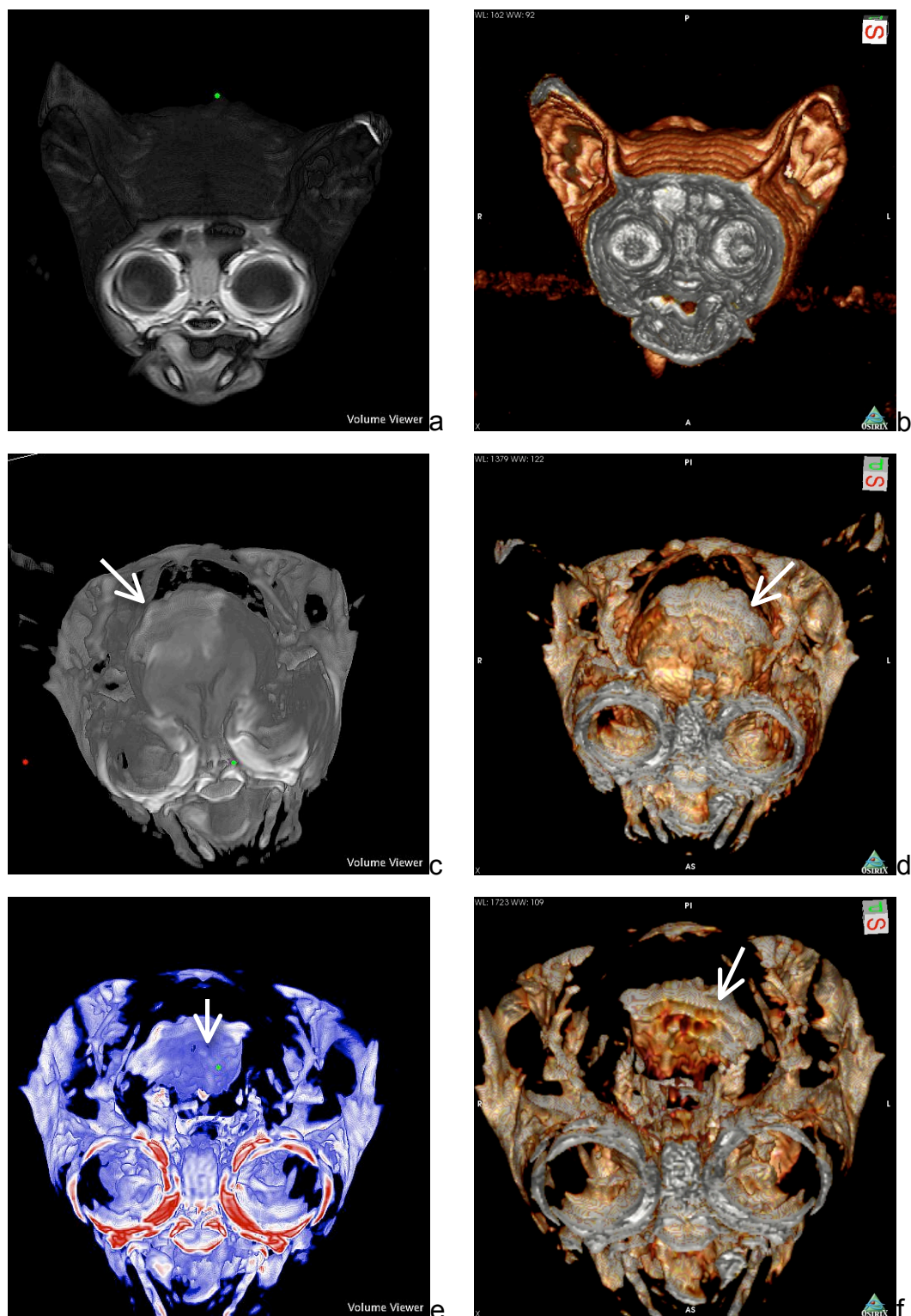


Figura 28: ImageJ e OsiriX. Rendering di una sequenza MR pesata in T1, in sezione trasversale, dopo somministrazione di un mezzo di contrasto. Le immagini di sinistra appartengono a ImageJ quelle di destra a OsiriX. Figure a e b: i rispettivi rendering completi di ogni tessuto. Le immagini successive rappresentano un progressivo aumento della soglia dei valori rappresentati. In questo modo è possibile evidenziare prima la superficie della massa intracranica (figure c e d) e successivamente isolarla (figure e ed

f). Le frecce indicano dove è collocata la massa. Nella figura è stato applicato un filtro LUT-Union Jack in cui le strutture più intense sono evidenziate in rosso e le altre secondo gradazioni dell'azzurro. Nelle immagini ricavate con OsiriX è stato applicato il preset Basic CT-High Contrast con il filtro VR-Muscles-bones.

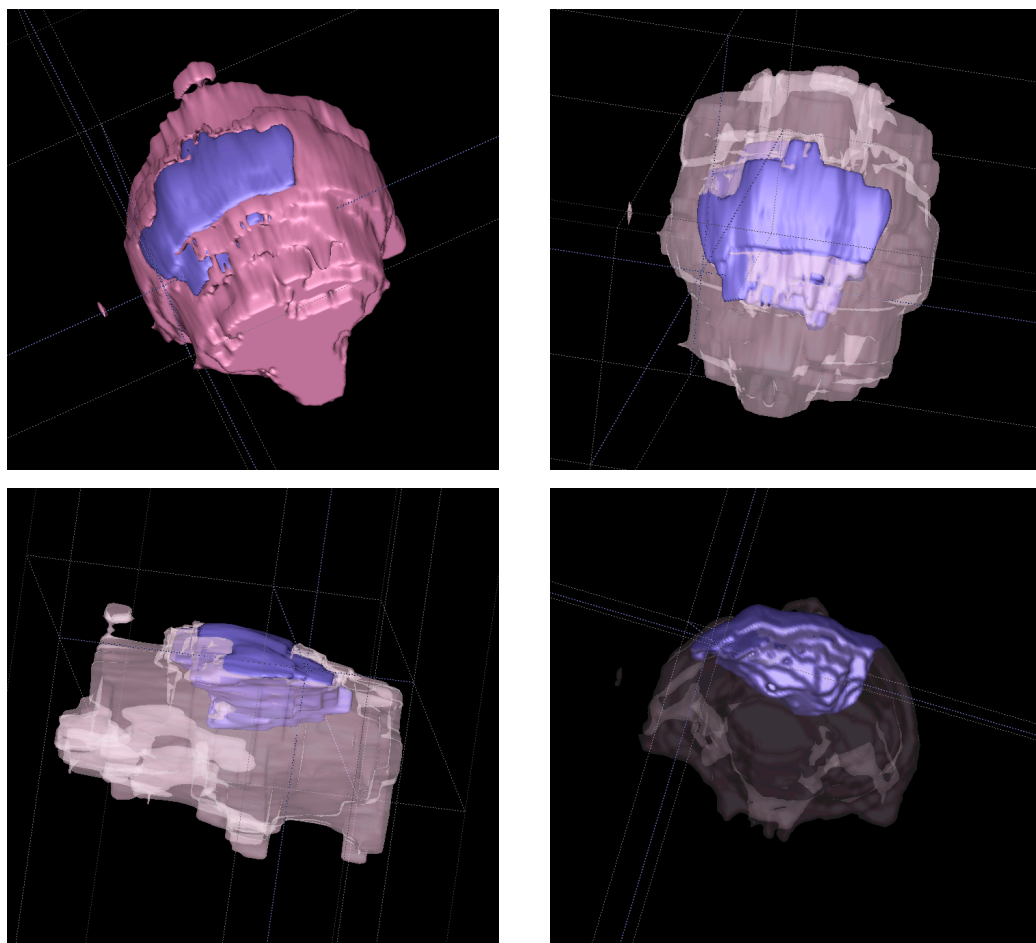


Figura 29 – ITK-Snap: segmentazione di encefalo da sequenza MR pesata in T1 con somministrazione di un mezzo di contrasto. Con una seconda segmentazione è stata evidenziata l'estensione della massa intracranica, inoltre aumentando la trasparenza delle strutture encefaliche (rosa), è possibile osservare l'estensione in profondità del meningioma (viola).

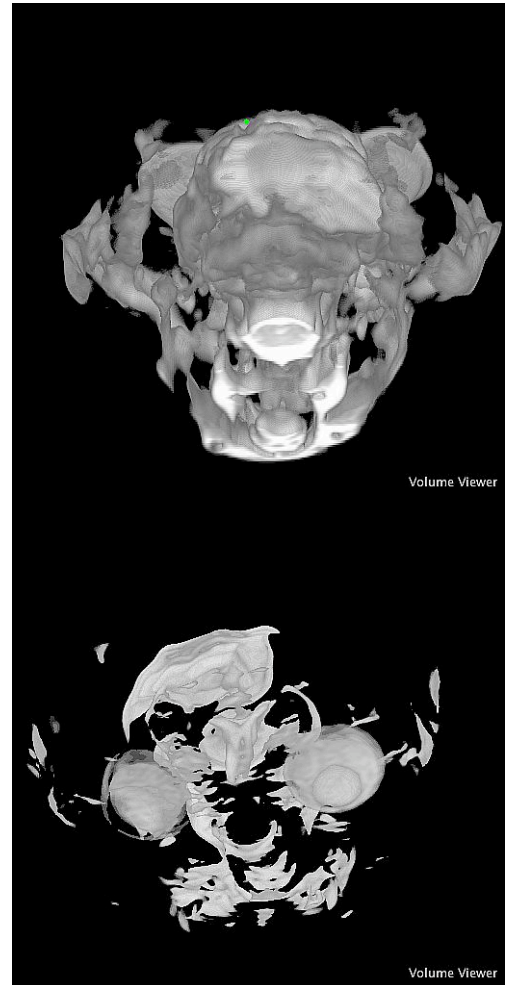
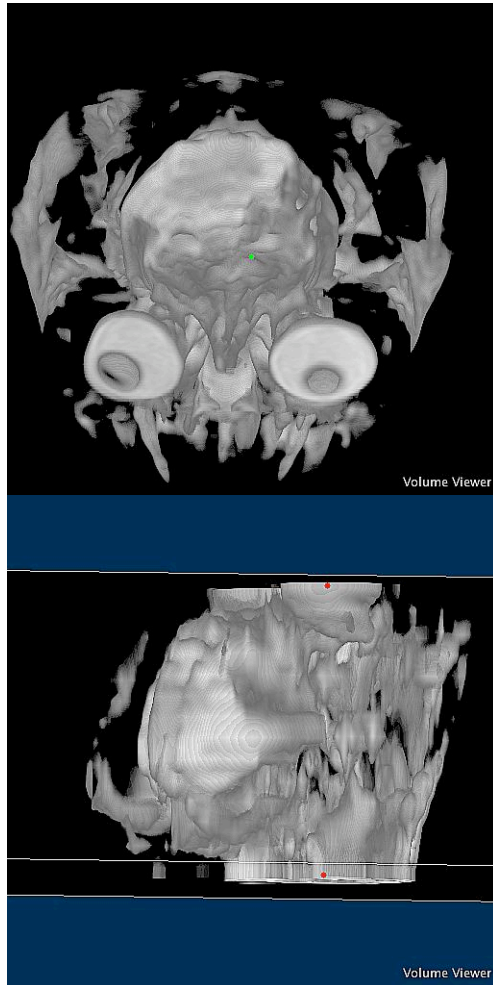
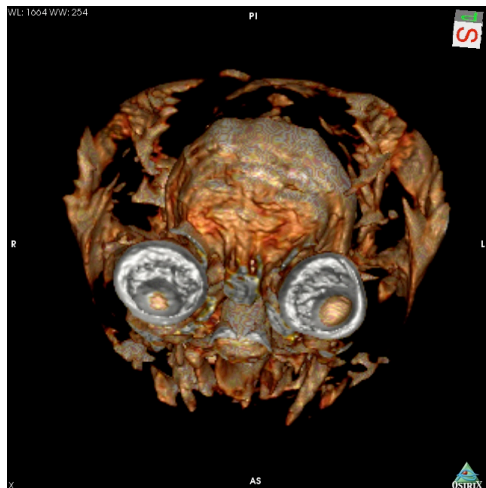


Figura 30 – ImageJ: rendering d'immagini pesate inT2 in sezione trasversale dello stesso soggetto. Si può notare come il meningioma si renda più evidente probabilmente in relazione all'edema circostante. Le immagini mostrano rispettivamente la visione frontale, caudale, laterale destra e frontale con aumento della soglia d'intensità dei voxel mostrati.



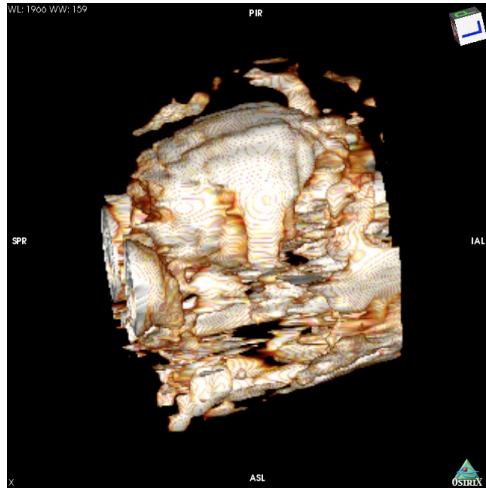


Figura 31 - OsiriX: rendering d'immagini pesate in T2 in sezione trasversale, dello stesso soggetto delle precedenti. Le immagini mostrano rispettivamente la visione frontale, caudale, laterale destra e frontale con aumento della soglia d'intensità dei voxel mostrati.

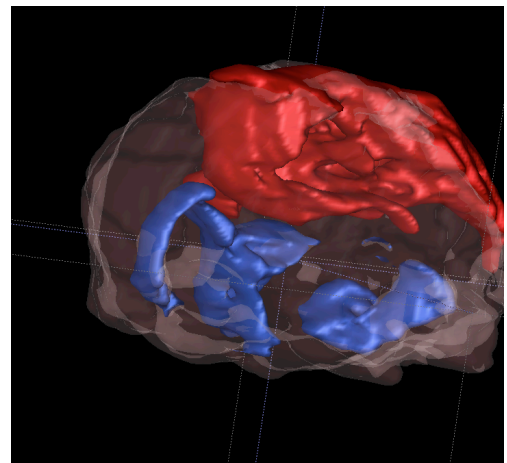
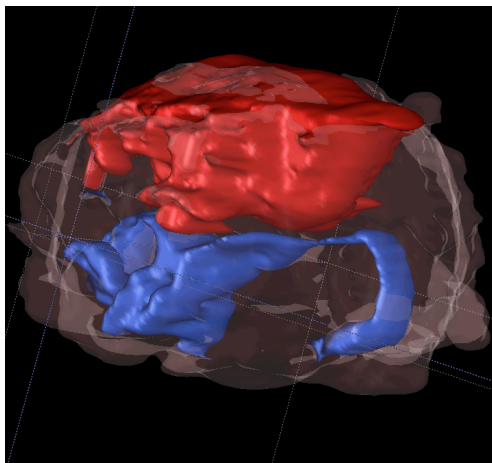
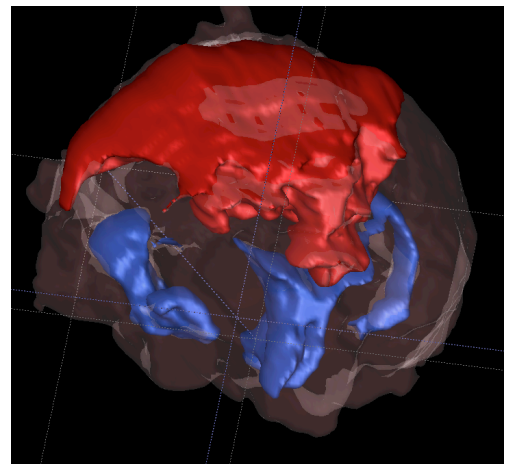
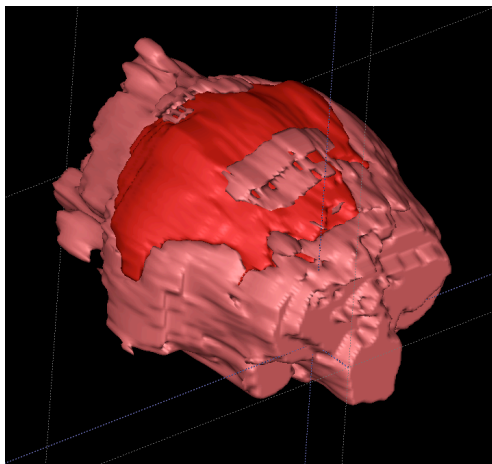


Figura 32 - ITK-Snap: segmentazioni delle immagini pesate in T2 in sezione trasversale. Nelle immagini pesate in T2 il liquido cefalorachidiano acquista un aspetto iperintenso rispetto alle immagini in T1, quindi oltre all'encefalo (in rosa) e alla massa neoplastica (in rosso), è possibile rappresentare anche il volume ventricolare (in blu).

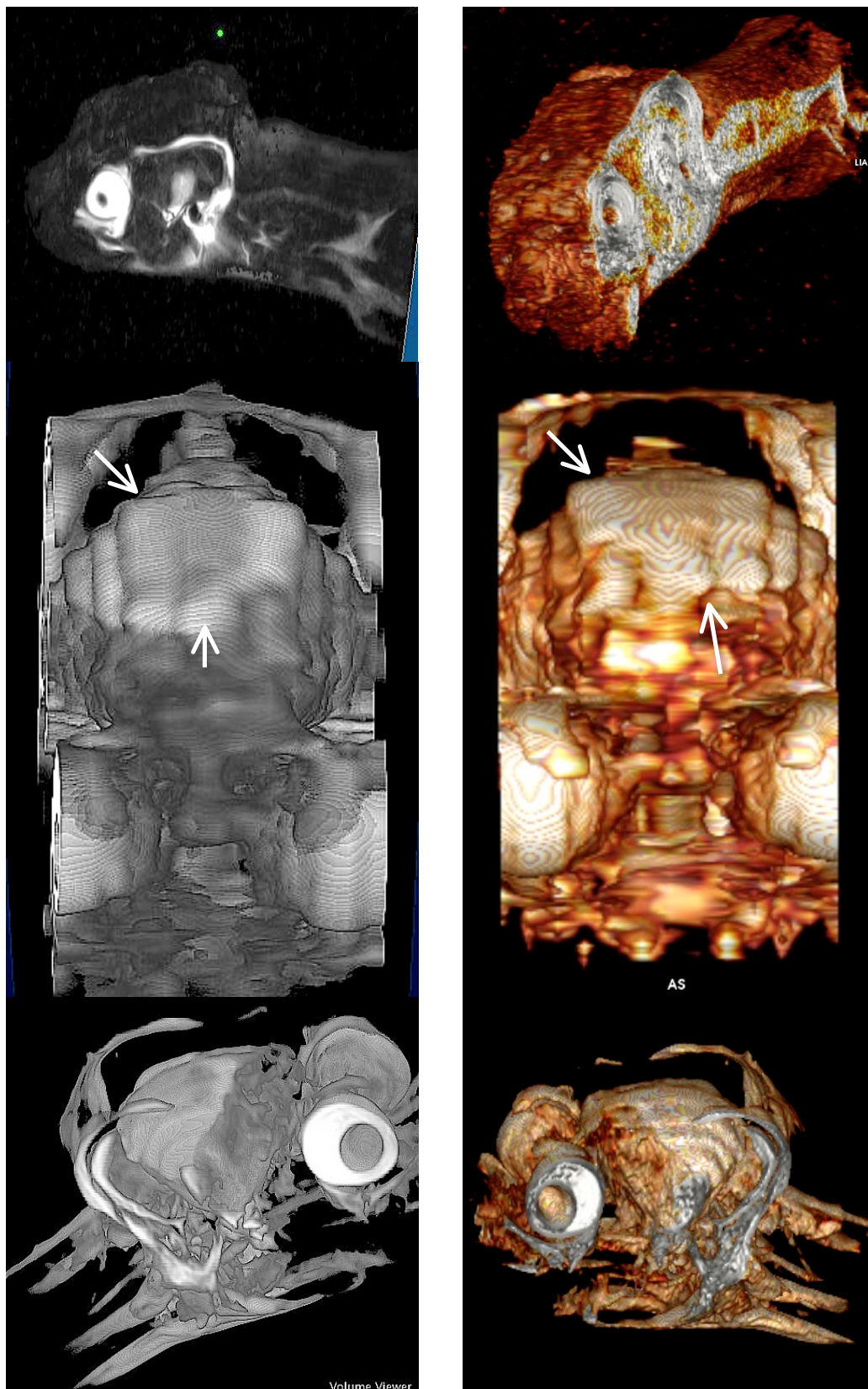


Figura 33 - ImageJ (sinistra) e OsiriX (destra): rendering di una sequenza MR sagittale pesata in T2. La prima fila mostra in entrambi il rendering completo di tutti i tessuti, nella seconda fila sono presentate le immagini frontali con un innalzamento della soglia

d'intensità dei voxel, che permette di osservare la superficie encefalica e la massa che la comprime. Le immagini della terza fila mostrano l'estensione laterale del meningioma. Queste immagini permetterebbero di effettuare delle misurazioni della massa.

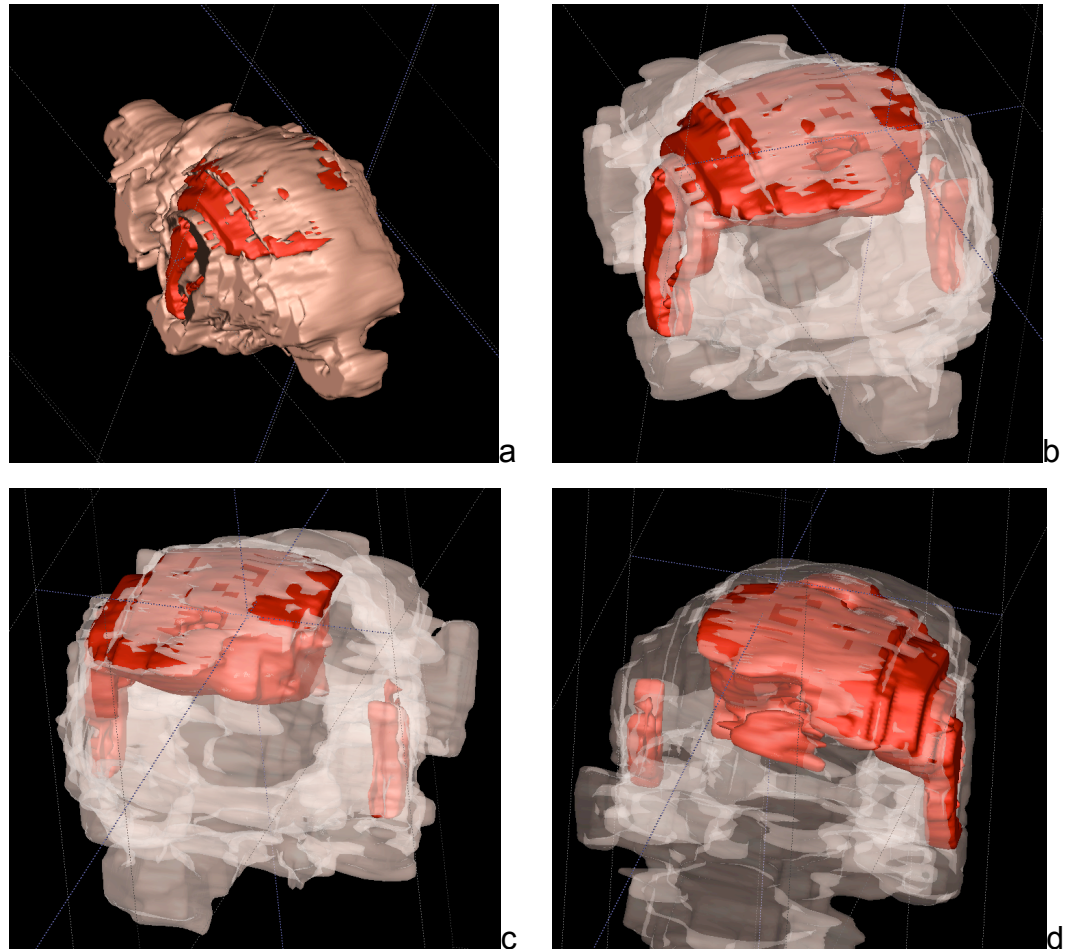


Figura 34 - ITK-Snap: la stessa sequenza MR è stata poi sottoposta a segmentazione con ITK-Snap. Come nelle sequenza pesata in T1 è stata eseguita una segmentazione per l'encefalo (rosa) e una per la massa neoplastica (rosso) differenziate da un codice colore. L'encefalo è stato poi posto in trasparenza per evidenziare l'estensione della massa, visibile nelle figure b, c e d dal punto di vista, rispettivamente dorso-frontale destra, dorso frontale sinistra e dorso-caudale.

4. DISCUSSIONE

Abbiamo accertato che le tecniche di ricostruzione tridimensionale possibili attualmente in medicina veterinaria, non possono essere considerate come primo presidio diagnostico, in quanto il rendering o la segmentazione non aggiungono nulla di nuovo a quello che è già presente nelle sezioni delle sequenze di immagini CT o MR. Il loro supporto, quindi, consiste nel facilitare il processo che chiunque osservi un'immagine tomografica applica in modo astratto, anche quando si guarda un qualsiasi radiogramma. Da questo deriva una più facile localizzazione delle strutture coinvolte, una più precisa valutazione dell'estensione delle lesioni e una più facile comprensione per chi osserva, sia esso medico veterinario, studente o proprietario. Queste ultime due situazioni sono state confermate da due studi che hanno dimostrato come per gli studenti l'utilizzo d'immagini tridimensionale favorisca una migliore comprensione dell'anatomia radiologica e delle anomalie patologiche dei radiogrammi presentati (Lee *et al.*, 2010). Con queste tecniche migliora anche l'informazione che viene data al proprietario che ha modo di vedere e comprendere più chiaramente le parole del medico veterinario, facilitando la firma del consenso informato (Kishimoto *et al.*, 2009).

I primi tentativi di ricostruzione tridimensionale senza la processazione delle immagini sono stati alquanto deludenti. Come già spiegato, partendo da file DICOM con codifica incompleta e non potendo utilizzare i raw data, ciò che si otteneva era un'immagine compressa e quindi non leggibile sia dal punto vista anatomico che clinico. Questo problema non si è verificato nell'elaborazione delle immagini acquisite con la MR perché, in questo caso, la macchina forniva già sequenze DICOM complete.

Con il software ImageJ, applicando il protocollo descritto, è stato possibile affrontare il problema della profondità delle slices e risolverlo, inserendo i dati mancanti. Questo ha permesso di sviluppare i rendering direttamente con ImageJ e di salvare le immagini in un formato (Analyze 7.5) ideale per eseguire segmentazioni con ITK-Snap. Questo passaggio è stato indispensabile anche per lavorare con OsiriX.

Il possibile confronto tra questi programmi deve prendere in considerazione diversi aspetti.

ImageJ è un software molto versatile per la gestione delle immagini che trova spazio anche nell'ambito della microscopia e microbiologia. I rendering che si ottengono con questo software sono facilmente esplorabili, soprattutto grazie alla possibilità di approfondire il piano di visuale in modo tale da poter indagare anche le strutture poste in profondità e non visibili in superficie. È da segnalare però la ridotta possibilità di orientare l'immagine secondo alcuni punti di vista e una minore dimensione della finestra in cui si osserva l'immagine.

ImageJ può essere messo a confronto con OsiriX, in quanto il loro modo di lavorare, limitatamente al volume rendering, è molto simile. Entrambi sono programmi nati in casa Macintosh e quindi compatibili con MacOS, ma solo ImageJ è utilizzabile anche su piattaforme diverse. OsiriX, chiaramente nato per scopi più commerciali, ha un'interfaccia molto più accattivante, che rende il suo utilizzo facile, piacevole e intuitivo, indirizzato a un ampio target di utenti. ImageJ ha un'interfaccia più scarna ed essenziale, può essere utilizzato con i tre sistemi operativi più diffusi al mondo, vale a dire Windows, Linux e Mac. Queste caratteristiche lo rendono molto rapido e leggero anche per la capacità di calcolo richiesta dai rendering. OsiriX, pur essendo più rapido nel generare le anteprime di presentazione, ha mostrato poi un rallentamento maggiore nelle elaborazioni effettive sulle ricostruzioni eseguite a partire dai DICOM incompleti. Le immagini realizzate con OsiriX sono sicuramente migliori, come impatto grafico, grazie ai numerosi preset che possiede e all'operazione di smoothing che applica in automatico per aumentare il dettaglio dell'immagine. Queste operazioni sono eseguibili anche con ImageJ ma richiedono il controllo manuale. Altre opzioni come la possibilità di effettuare un'endoscopia virtuale, porterebbero indubbiamente OsiriX ad un livello superiore, ma non in ambito medico veterinario.

Si può quindi tranquillamente affermare che i due software, applicati in campo veterinario, nei risultati, sostanzialmente si equivalgono.

ImageJ, essendo maggiormente vocato all'uso sperimentale, richiede conoscenze informatiche superiori alla media, mentre OsiriX è alla portata di tutti gli utenti medi Mac.

Discorso a parte per ITK-Snap, che è un software creato per un unico scopo, quindi non molto versatile e che lo rende diverso dai precedenti software. Lo sviluppo di ITK-Snap è mirato alla medicina umana e in particolare agli studi anatomici del sistema nervoso. Nel nostro caso, a causa della scarsa risoluzione delle immagini ottenute da MR, nelle segmentazioni riguardanti l'encefalo, non si è in grado di evidenziare le varie strutture anatomiche, ma si può dimostrare, nei casi clinici di meningiomi presi in esame, l'estensione delle masse tumorali intracraniche e la compressione degli spazi ventricolari. Inoltre è possibile effettuare valutazioni volumetriche delle strutture ricostruite.

Per il metodo con cui ITK-Snap opera, cioè attraverso l'evoluzione di uno "snake", i risultati migliori si sono ottenuti con le segmentazioni di tessuto osseo. Le immagini ricavate sono facilmente esplorabili e, dopo la segmentazione, è possibile elaborarle in modo rapido per evidenziare porzioni di particolare interesse o separare due strutture adiacenti rendendole meglio visibili.

Dai risultati ottenuti nei rendering e nelle segmentazioni effettuate si può giudicare l'applicazione di queste tecniche alle sequenze acquisite abbastanza soddisfacente, anche se le limitazioni d'impiego sono effettive ed evidenti. Dalle immagini emerge chiaramente che l'applicazione che ha dato maggiori risultati e soddisfazioni è, senza dubbio, quella in campo ortopedico-traumatologico. L'uso di queste tecniche ha permesso l'applicazione diretta di alcune ricostruzioni tridimensionali in campo chirurgico e clinico. Esempio è stato il caso di un cucciolo di cane con una doppia frattura della mandibola (vedi figura 5), di cui una, a livello del ramo della stessa, non visibile in radiografia. Soltanto dopo l'esecuzione di una TAC-cranio è stato possibile avere il quadro diagnostico completo.

La ricostruzione 3D della mandibola interessata, eseguita tramite segmentazione ITK, si è dimostrata un valido ausilio in fase di planning chirurgico e in sala operatoria per poter decidere l'approccio più adatto e la scelta dei mezzi di sintesi. Il pregio principale nell'eseguire ricostruzioni del tessuto osseo, risiede principalmente nel forte gradiente d'intensità tra osso e tessuti molli, ciò rende più facile la differenziazione e riconoscimento di strutture diverse o adiacenti. Buona parte del risultato,

però, dipende anche dal protocollo utilizzato, soprattutto nella scelta dello spessore delle slices e del FOV, in quanto, queste due caratteristiche incidono sulla risoluzione e sul dettaglio delle immagini finali.

I tentativi di ricostruzione di tessuti molli hanno portato finora a risultati non soddisfacenti (vedi figura 25, 26, 27). La mancanza di dettaglio è tale da non permettere la distinzione dei diversi organi o di altre strutture, questo a causa della scarsa variabilità di densità propria degli organi addominali.

Per quanto riguarda le ricostruzioni da MR invece i risultati non sono stati completamente negativi. I menigiomi appaiono ipo- o iso-intensi rispetto alla sostanza grigia, nelle sequenze in T1 e iper-intensi nelle immagini in T2 o in T1 con mezzo di contrasto. Questi ultimi due tipi d'immagine, permettono di isolare la neoplasia, non solo dal punto di vista visivo, ma, aumentando il contrasto con le strutture circostanti, rendono più agevole ed accurata la ricostruzione e permettono una migliore localizzazione e valutazione dell'estensione della neoplasia. Inoltre è possibile, in questi casi in cui le masse si presentino iperintense, isolare la massa alzando il valore di soglia dei voxel rappresentati, per avere una visione più chiara anche sull'estensione in profondità della neoplasia.

È da ricordare che oggi le apparecchiature TAC, in ambito veterinario, stanno lasciando il passo a strumentazioni più avanzate, con sistemi di acquisizione spirale e multistrato. Le cliniche veterinarie attrezzate con queste apparecchiature più moderne, difficilmente avranno l'esigenza di ricorrere a software specifici per la ricostruzione tridimensionale, perchè dispongono già di workstation e di software dedicati a questo scopo che sono stati testati e collaudati, nella maggior parte dei casi, dal produttore dell'apparecchiatura stessa e quindi garantiscono standard di efficienza sempre più alti e in linea con il progresso delle tecnologie diagnostiche; tuttavia, le cliniche veterinarie che dispongono già di apparecchiature datate ma efficienti, o che si apprestano a dotarsi di apparecchiature diagnostiche di tipo tomografico comunque non predisposte per la ricostruzione tridimensionale, possono beneficiare dell'applicazione di software open-source e procedure come quelle qui descritte, per adottare questo nuovo paradigma di rappresentazione delle immagini tomografiche, utile come supporto alla diagnostica in particolar modo nel

settore ortopedico-traumatologico.

Le immagini tridimensionali possono essere sfruttate con profitto sia nell'ambito clinico-chirurgico, sia nel rapporto medico veterinario-proprietario del paziente, sia nell'ambito accademico e didattico.

Pertanto, i risultati ottenuti si possono considerare, nel complesso, incoraggianti e giustificano pienamente l'impegno richiesto in termini di tempo per l'elaborazione delle immagini e dimostrano che la possibilità ancora oggi esclusa da molti esperti del settore, in realtà esiste.

Bibliografia:

Abramoff MD, Magalhaes PJ, Ram SJ. (2004). Image processing with ImageJ. *Biophotonics International* .

Barthel, KU (s.d.). 3D-Data representation with ImageJ. *International media and computing, FHTW*.

Bertolini G, Rolla EC, Zotti A, Caldin M (2006). Three-dimensional multislice helical computed tomography techniques for canine extra-hepatic portosystemic shunt assessment. *Veterinary Radiology & Ultrasound* , 47 (5), p. 439-443.

Boiselle PM, Ernst A (2002). Recent advances in central airway imaging. *CHEST* (121), 1651-1660.

Calhoun PS, Kuszyk BS, Heath DG, Carley JC, Fishman EK (1999). Three-dimensional volume rendering of spiral CT data: theory and method. *RadioGraphics* , 19, 745-764.

Campanella F, Culeddu N, Mattozzi M (2011, 2 24). Tratto da <http://www.ispesl.it/settore/indicazioni%20operative%20RM%20ad%20uso%20veterinario.pdf>

Campurra G (2008). *Testo unico sicurezza del lavoro. Il rischio da campi elettromagnetici negli ambienti di lavoro*. (Vol. 4).

Channin, DS (2003). Driving market-driven engineering (Editorial). *Radiology* (229), 311-313.

Cherubini GB, Mantis P, Martinez TA, Lamb CR, Cappello R (2005). Utility of magnetic resonance imaging for distinguishing neoplastic from non-neoplastic brain lesions in dogs and cats. *Veterinary Radiology & Ultrasound* , 46 (5), 384-387.

Choplin RH, Buckwalter KA, Rydberg J, Farber J (2004). CT with 3D rendering of the tendons of the foot and ankle: technique, normal anatomy and disease. *RadioGraphics* (24), 343-356.

Collins, T.J. (2007). ImageJ for microscopy. *BioTechniques* , 43 (1), s25-s30.

Contreras S, Vazquez JM, Rivero MA, Gil F, Latorre R, Arancibia A (2011). Three-dimensional MRA Study of the Normal Canine Thorax: MIP Sections and Volume Rendering. *Anatomia Histologia Embriologia* , 40, 40-46.

Craven BA, Neuberger T, Paterson EG Webb AG, Josephson EM, Morrison EE, Settles GS (2007). Reconstruction and morphometric analysis of the nasal airway of the dog (*Canis familiaris*) and implications regarding olfactory airflow. *The Anatomical record* (290), 1325-1340.

Dello SAWG, Stoot JHMB, Van Stiphout RSA, Bloemen JG, Wigmore SJ, CHC Dejong, van Dam RM,. (2011). Prospective volumetric assessment of the liver on a personal computer by nonradiologists prior to partial hepatectomy. *World Journal of Surgery* (35), 386-392.

Dello SAWG, Van Dam RM, Slangen JJG, van de Poll MCG, Bemelmans MHA, Greve JWWM, Beets Tan RGH, Wigmore SJ, Dejong CHC (2007). Liver Volumetry Plug and Play: Do It Yourself with ImageJ. *World journal of surgery* (31), 2215-2221.

Faggioni L, Paolicchi F, Neri E (2010). *Elementi di tomografia computerizzata*. Milano: Springer.

Feng D, Marshburn D, Dennis Jen, Weinberg RJ, Tayylor II RM, Burette A (2007). Stepping into the third dimension. *The Journal of Neuroscience* , 27 (47), 12757-12760.

Fishman EK, Ney DR, Heath DG, Corl FM, Horton KM, Johnson PT (2006). Volume Rendering versus Maximum Intensity Projection in CT Angiography: What Works Best, When, and Why. *radioGraphics* , 26, 905-922.

Gavin PR, Bagley RS (2009). *Practical small animal MRI*. Wiley-Blackwell.

Hanna G, Cuschieri A (2001). Image display technology and image processing. *World Journal of Surgery* , 25 (11), 1419-1427.

Harrel G Chotas, Dobbins III JT, Ravin CE (1999). Principles of digital radiography with large area electronically readable detectors: a review of the basics. *Radiology* (210), 595-599.

Higgins WE, Ramaswamy K, Swift RD, McLennan G, Hoffman EA (1998). Virtual bronchoscopy for three-dimensional pulmonary image assessment: state of the art and future needs. *RadioGraphics* , 18, 761-778.

Ho Park S, Lee SS, Kim JK, Kim HJ, Kim SY, Kim My, Kim AY, Ha HK (2008). Volume Rendering with Color Coding of Tagged Stool during Endoluminal Fly-through CT Colonography: Effect on Reading Efficiency. *Radiology* , 248 (3), 1018-1027.

Johnson PT, Heath DG, Bliss DF, Cabral B, Fishman EK (1996). Three-dimensional CT: real-time interactive volume rendering. *AJR* , 167, 581-583.

Kantor GS, Wilson WD, Midgley A (2003). Opens-source software and the primary care EMR. *J Am Informet Assoc* (10), 616.

Kishimoto M, Yamada K, Shimizu J, Lee KJ, Watarai H, Haasan HY, Iwasaki T, Miyake YI (2009). Providing an intelligible explanation to pet owners by using three-dimensional CT images: use of clinical imaging for better informed consent. *Vet Res Commun* (33), p. 387-393.

Kneissl S, Weidner S, Probst A (2011, May 4). CT Sialography in the dog- A cadaver study. *Anatomia, Histologia, Embryologia* .

Korner M, Weber CH, Wirth S, Pfeifer KJ, Reiser MF, Treitl M, (2007). Advances in digital radiography: physical principles and system overview. *RadioGraphics* , 27 (3), 675-686.

Lee H, Kim J, Cho Y, Kim M, Kim N, Lee K, (2010). Three-dimensional computed tomographic volume rendering imagin as a teaching tool in veterinray radiology instruction. *Veterinarni Medicina* (55), 603-609.

Lehmann TM, Bredno J (2005). Strategies to Configure Image Analysis Algorithms for Clinical Usage. *Journal of the American Medical Informatics Association* , 12 (5), 497-504.

Limberg, T. (2008). Osirix as a resource. *Biomedical Visualization, University of Illinois at Chicago* .

Maher MM, Kalra MK, Sahani DV, Perumpillchira JJ, Rizzo S, Saini S, Mueller PR. (2004). Techniques, Clinical Applications and Limitations of 3D Reconstruction in CT of the Abdomen. *Korean J Radiology* , 5, 55-67.

Neri E, Marcheschi P, Caramella D (2008). *Produrre ed elaborare immagini diagnostiche*. Milano: Springer.

Parrish, F. (2007). Volume CT: state-of-the-art reporting. *AJR* , 189, 528-534.

Perandini S, Faccioli N, Zaccarella A, Re TJ, Pozzi Mucelli R (2010). The diagnostic contribution of CT volumetric rendering techniques in routine practice. *Indian J Radiol Imaging* (20), 92-97.

Pontiggia, F. (A cura di). (s.d.). *Sistemi di elaborazione dell'informazione*

radiologica. Tratto il giorno 6 6, 2011 da <http://www.ge.infn.it/~corvi/doc/didattica/radioprotezione/radiologia.pdf>

Prokop M, Galanski M. (2006). *Tomografia computerizzata. Spirale e multistrato* (1st ed.). (B. L, A cura di) Milano: Masson.

Ratib O, Rosset A (2006). Open-source software in medical imaging: development of OsiriX. *Int J CARS* , 1, 187-196.

Remy J, Remy-Jardin M, Artaud D, Fribourg M (1998). Multiplanar and three-dimensional reconstruction techniques in CT: impact on chest diseases. *European Radiology* , 8, 335-351.

Rosset A, Spadola L, Pysker L, Ratib O (2006). Navigating the Fifth Dimension: Innovative Interface for Multidimensional Multimodality Image Navigation. *RadioGraphics* , 26, 299-308.

Rosset A, Spadola L, Ratib O (2004). Osirix: an open-source software for navigating in multidimensional DICOM images. *JDigital Imaging* , 17 (3), 205-216.

Rosset C, Rosset A, Ratib O (2005). General Consumer Communication Tools for Improved Image Management and Communication in Medicine. *Journal of Digital Imaging* , 18 (4), 270-279.

Rummeny EJ, Reimer P, Heindel W, (2008). *Risonanza magnetica* (2nd ed.). (B. M, A cura di) Milano: Elsevier Masson.

Saba L, Pascalis L, Mallarini G (2009). Multi-detector-row CT of muscles with volume rendering technique. *PANMINERVA MED* , 51, 43-49.

Salvolini L, Bicchi Secchi E, Costarelli L, De Nicola M (2000). Clinical applications of 2D and 3D imaging of the airways-a review. *Eur J Radiol* (34), 9-25.

Santoro D, Pease A, Linder KE, Olivry T (2009). Blackwell Publishing Ltd Post-traumatic peripheral arteriovenous fistula manifesting as digital haemorrhages in a cat: diagnosis with contrast-enhanced 3D CT imaging. *The Authors. Journal compilation. 2009 ESVD and ACVD* , 20, 206-213.

Schreiner S, Paschal CB, Galloway RL (1996). Comparison of projection algorithms used for the construction of maximum intensity projection images. *J Comput Assist Tomogr* (29), 56-67.

Silva AC, Wellnitz CV, Hara AK (2006). Three-dimensional virtual dissection at CT colonography: unraveling the colon to search for lesions. *RadioGraphics* , 26 (6), 1669-1686.

Soler M, Murciano J, Latorre R, Belda E, Rodriguez MJ, Agut A (2007). Ultrasonographic, computed tomographic and magnetic resonance imaging anatomy of the normal canine stifle joint. *The Veterinary Journal* , 174, 351-361.

Tanenbaum, L. (2002, May). Advanced MRA rendering techniques: a pictorial review. *Applied Radiology* , 18-28.

Ter Haar Romeny BM, Zuiderveld KJ, Van Waes PFGM, Van Walsum T, Van der Weijden R, Weickert J, Stokkin R, Viergever MA (1998). Advances in three dimensional diagnostic radiology. *JAnat* , 193, 363-371.

Thrall, DE (2007)*Text book of Veterinary Diagnostic Radiology* (5th ed.). Saunders company.

Udupa JK, Hsiu-Mei H, Chuang KS (1991). *Surface and Volume Rendering in Three-Dimensional Imaging: A Comparison*. University of Pennsylvania, Department of Radiology, Medical Image Processing Group.

Van der Vorst JR, Van Dam RM, van Stiphout RSA, van den Broek MA,

Hollander IH, Kessels AGH, Dejong CHC (2010). Virtual Liver Resection and Volumetric Analysis of the Future Liver Remnant using Open Source Image Processing Software. *World journal of surgery* (34), 2426-2433.

Wyneken, J. (2001). *The anatomy of sea turtles*. U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470.

Yushkevich PA, Piven J, Hazlett HC, Smith RG, Ho S, Gee JC, Gerig G. (2006). User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: significantly improved efficiency and reliability. *Neuroimage* , 31 (3), 1116-28.

Yushkevich P, Piven J, Cody H, Ho S, Gee JC, Gerig G. *User-Guided Level Set Segmentation of Anatomical Structures with ITK-SNAP*.

Zotti A, Poggi R, Cozzi B (2009). Exceptional bone density DXA values of the rostrum of a deep-diving marine mammal: a new technical insight in the adaptation of bone to aquatic life. *Skeletal Radiology* , 38 (12), 1123-1125

Web-grafia:

1. Tratto da <http://en.wikipedia.org/wiki/Osiris>
2. Tratto da http://www.sim.hcuge.ch/osiris/01_Osiris_Presentation_EN
3. Tratto da <http://www.itksnap.org/pmwiki/pmwiki.php?n=Documentation.HomePage>
4. Tratto da <http://www.animalinsides.com/learn7general-imaging>
5. Tratto da <http://imagej.nih.gov/ij/plugins/volume-viewer.html>
6. Tratto da http://it.wikipedia.org/wiki/Risonanza_magnetica_nucleare
7. Tratto da http://www.ingce.unibo.it/corsi_studio/2003-04/piano_studi/prog_03-04/ing_clinica_1/pdf/Formazione_Immagine_Tomografia_RM.pdf
8. Tratto da <http://www.paramed.it/>
9. Tratto da <http://rsbweb.nih.gov/ij/>
10. Tratto da <http://www.osirix-viewer.com/>

RINGRAZIAMENTI

Alla fine di questo percorso mi sento di ringraziare quanti hanno contribuito con la loro vicinanza e sostegno, fisici o meno, al raggiungimento di questo importante traguardo.

Anche se queste parole potranno esprimere solo meno della metà della gratitudine che in realtà provo, cercherò comunque di renderne un'idea.

Alla mia famiglia va il mio primo grazie, ai miei genitori per il supporto prezioso e incondizionato e ai miei fratelli, che sono stati, e sono, per me un modello di riferimento.

A Francesco per cui un solo grazie non basterebbe, per aver condiviso, fianco a fianco, entusiasmi e momenti critici non solo durante questo percorso ma negli ultimi 25 anni.

A Maddalena, per essere stata presente, per avermi incoraggiato e per aver sempre avuto fiducia in me.

A Elisa, Bibi, Lucia, Marta, Marica, Kiki, Giada, Veronica, Daniele, Ale, Fede, Giovanni, Ros, per aver reso indimenticabili questi cinque anni, condividendo felicità e tormenti di questo percorso e soprattutto per aver reso i tormenti più leggeri.

Agli amici di sempre, che hanno riempito le mie serate.

Infine, ma non ultimo, un sentito grazie al Dott. Calogero Vaccaro che ha saputo guidarmi con entusiasmo, competenza e tanta pazienza, lungo tutta la realizzazione di questo progetto e a chi, come lui, ha saputo trasmettermi la passione per questa materia.