



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**



DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN BIOINGEGNERIA

**CONFRONTO DI MODELLI DI STIMA DEL TEMPO DI RILASSAMENTO
TRASVERSALE T2* PER L'ANALISI DELLE FUNZIONI EPATICHE DA
IMMAGINI DI RISONANZA MAGNETICA DELL'ADDOME**

Relatore: Dott. Ing. Marco Castellaro

Laureanda: Carlotta Curcio

**Correlatore: Prof.ssa Alessia Pepe
Dott.ssa Amalia Lupi**

ANNO ACCADEMICO 2023 – 2024

Data di laurea 12 – 12 - 2024

Indice

<i>Abstract</i>	3
<i>Sommario</i>	5
<i>Capitolo 1: Introduzione</i>	7
<i>1.1 Descrizione anatomica fegato</i>	7
<i>1.2 Malattie Epatiche</i>	8
<i>1.2.1 Steatosi Epatica</i>	8
<i>1.2.2 Emocromatosi</i>	10
<i>1.3 Tecniche e metodologie per l'analisi epatica</i>	12
<i>1.3.1 Tecniche tradizionali</i>	12
<i>1.3.2 Tecniche di imaging</i>	13
<i>1.3.2.1 A ultrasuoni</i>	13
<i>1.3.2.2 Tomografia Computerizzata</i>	14
<i>1.3.2.3 Tecniche MRI</i>	14
<i>1.4 Scopo della tesi e collaborazione ospedale</i>	21
<i>Capitolo 2: stato dell'arte</i>	23
<i>2.1 Modelli non lineari</i>	23
<i>2.1.1 Modello mono esponenziale</i>	24
<i>2.1.2 Modello mono esponenziale con costante</i>	24
<i>2.1.3 Modello bi esponenziale</i>	25
<i>2.2 Modello linearizzato</i>	25
<i>2.3 Segmentazione</i>	26
<i>Capitolo 3: Database</i>	27
<i>3.1 Protocollo di acquisizione</i>	27
<i>3.2 Caratteristiche demografiche</i>	28
<i>Capitolo 4: Metodi</i>	31
<i>4.1 Implementazione modelli scelti</i>	31
<i>4.2 Criteri di valutazione e confronto modelli: AIC, BIC, R2 Adjusted e RMSE</i>	34

<i>4.3 Segmentazione del fegato.....</i>	<i>39</i>
<i>4.4 Calcolo del T2* Globale e Confronto con HIPPO</i>	<i>47</i>
<i>Capitolo 5: Risultati ottenuti.....</i>	<i>49</i>
<i>5.1 Risultati implementazione modelli scelti.....</i>	<i>49</i>
<i>5.2 Risultati confronto modelli tramite criteri AIC, BIC, R2 Adjusted e RMSE.....</i>	<i>59</i>
<i>5.3 Risultati Segmentazione.....</i>	<i>65</i>
<i>5.4 Risultati T2* Globale e Confronto con HIPPO.....</i>	<i>75</i>
<i>Capitolo 6: Discussione dei Risultati.....</i>	<i>81</i>
<i>6.1 Confronto modelli.....</i>	<i>81</i>
<i>6.2 Segmentazione.....</i>	<i>83</i>
<i>6.3 Confronto con HIPPO.....</i>	<i>86</i>
<i>6.4 Limitazioni.....</i>	<i>87</i>
<i>Capitolo 7: Conclusioni e Sviluppi Futuri.....</i>	<i>91</i>
<i>7.1 Conclusioni.....</i>	<i>91</i>
<i>7.2 Sviluppi Futuri</i>	<i>92</i>
<i>Appendice</i>	<i>95</i>
<i>Bibliografia.....</i>	<i>99</i>

Abstract

This work aims to highlight the fundamental role of magnetic resonance imaging as a non-invasive imaging technique for detecting iron and fat within the liver. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is one of the most common liver diseases, affecting over 25% of the adult population, with an ever-increasing rate year after year. Hemochromatosis is a genetic disorder characterized by excessive accumulation of iron in tissues, which can lead to significant liver damage. It is among the leading causes of iron overload in the liver, often associated with mutations in the HFE gene.

Various techniques have been developed for the analysis of liver components; those that have received the most clinical attention are biopsy, ultrasound, and CT. However, these methodologies have limitations related to invasiveness and the continuous exposure of the subject to radiation. Magnetic resonance imaging has proven to be the most accurate and specific technique in the field of non-invasive imaging. In this thesis, liver images acquired with magnetic resonance imaging are used and analyzed with four different mathematical models: mono-exponential model, mono-exponential with constant, bi-exponential, and linearized models. These models are employed to identify the transverse relaxation time $T2^*$, associated with a measurement of hepatic iron content. The segmentation identified for the liver was created by distinguishing liver tissue from the blood vessels present in the selected area. Once the segmentation was performed, the maps created with the various models were compared, and the model that best describes the image was determined, identifying the iron and fat areas within the liver.

Sommario

Questo elaborato si pone l'obiettivo di esporre il ruolo fondamentale della risonanza magnetica come tecnica di imaging non invasivo per individuare il ferro e il grasso all'interno del fegato. La steatosi epatica non alcolica (NAFLD) è una delle malattie epatiche più frequenti e colpisce oltre il 25% della popolazione adulta, con un tasso di incremento sempre maggiore di anno in anno. L'emocromatosi è una patologia genetica caratterizzata da un accumulo eccessivo di ferro nei tessuti, che può portare a danni epatici significativi. È tra le principali cause di sovraccarico di ferro nel fegato, spesso associata a mutazioni del gene HFE.

Le tecniche sviluppate per l'analisi delle componenti epatiche sono diverse; quelle che hanno ricevuto maggior interesse clinico sono la biopsia, gli ultrasuoni e la CT. Queste metodologie risultano avere però delle limitazioni, legate alla invasività e all'esposizione continua del soggetto a radiazioni. La risonanza magnetica è risultata essere la tecnica più accurata e specifica all'interno dell'ambito dell'imaging non invasivo. In questa tesi vengono utilizzate immagini epatiche acquisite con risonanza magnetica e analizzate con 4 diversi modelli matematici: modello mono-esponenziale, mono-esponenziale con costante, bi-esponenziale e linearizzato. Questi modelli vengono impiegati per individuare il tempo di rilassamento trasversale $T2^*$, associato a una misurazione della quantità di ferro epatico. La segmentazione individuata per il fegato è stata creata andando a distinguere il tessuto epatico dai vasi sanguigni presenti all'interno dell'area selezionata. Una volta effettuata la segmentazione, le mappe create con i vari modelli vengono confrontate e viene stabilito il modello che descrive al meglio l'immagine, individuando le aree ferrose e grasse all'interno del fegato.

Capitolo 1: Introduzione

1.1 Descrizione anatomica fegato

Il fegato è il più grande e importante organo metabolico del corpo e può essere considerato la principale fabbrica biochimica dell'organismo umano.

Il fegato svolge una grande varietà di funzioni:

- digestione
- elaborazione metabolica dei nutrienti dopo l'assorbimento nel tratto digerente
- secrezione bile e sali biliari
- degradazione prodotti di rifiuto dell'organismo e degli ormoni
- sintesi proteina plasmatiche
- immagazzinamento del glicogeno, del grasso, del ferro e di molte vitamine
- rimozione dei batteri e degli eritrociti
- secrezione fattori di crescita
- escrezione di colesterolo e di bilirubina

Ognuna delle funzioni elencate sopra viene svolta da ogni cellula del fegato, l'epatocita, evidenziando come la specializzazione delle cellule epatiche sia davvero modesta.

Il fegato è organizzato in unità funzionali detti lobuli, aree esagonali disposte attorno a una vena centrale e circondati da canali vascolari e biliari.

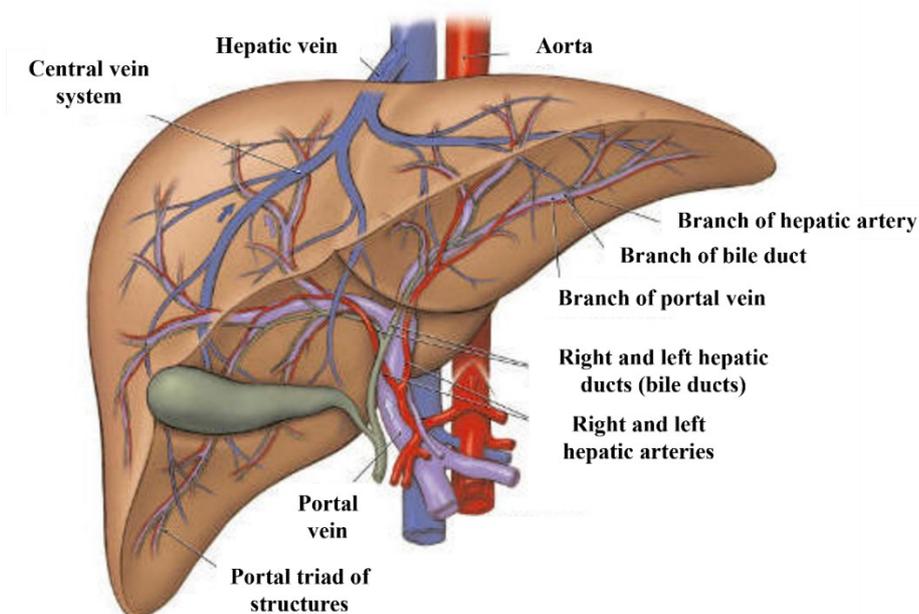


Figura 1: Rappresentazione anatomica del fegato [1]

Per svolgere le funzioni metaboliche, ogni epatocita deve essere in contatto diretto con il flusso sanguigno proveniente da due sorgenti: il sangue arterioso che proviene dall'aorta, che fornisce agli epatociti ossigeno e metaboliti per le elaborazioni epatiche, e il sangue venoso ricco di nutrienti che arrivare direttamente dal tratto digerente, entrando nel fegato attraverso il sistema portale epatico.

Lungo ognuno dei sei spigoli del lobulo decorrono un ramo dell'arteria epatica, un ramo della vena porta epatica e un dotto biliare. Il sangue della vena porta epatica e dell'arteria epatica fluiscono dalla periferia dei lobuli in dei grandi spazi capillari detti sinusoidi. Le vene centrali di tutti i lobi convergono e formano la vena epatica che ha il compito di drenare il sangue dal fegato e che poi confluisce nella vena cava inferiore per essere redistribuito nel sistema circolatorio. [2]

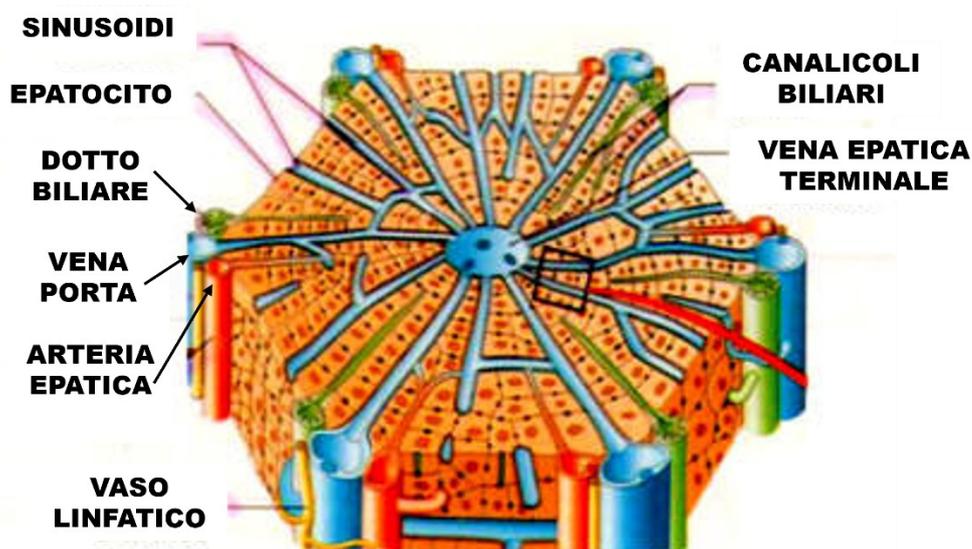


Figura 2: Rappresentazione anatomica di un lobulo epatico [3]

I dotti biliari dei vari lobuli convergono per formare il dotto biliare comune che trasporta la bile dal fegato al duodeno, consentendo la funzione di secrezione di bile e sali biliari.

1.2 Malattie Epatiche

1.2.1 Steatosi Epatica

La Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) [4] è considerata una delle patologie epatiche croniche più comuni al mondo, nonché la causa più frequente di steatosi epatica, manifestandosi nel 30% degli adulti e nel 10% dei bambini, con un tasso di incremento sempre maggiore di anno in anno. Queste percentuali variano in relazione alle diverse popolazioni che sono diventate oggetto di studio, a causa dell'eterogeneità in termini di etnia,

età e sesso, nonché dei metodi utilizzati per diagnosticarla. Questa malattia consiste in uno spettro di patologie epatiche che comprendono l'accumulo intracellulare di trigliceridi in più del 5% degli epatociti (steatosi epatica), peggiorando sempre di più arrivando all'infiammazione epatica (steatoepatite), la fibrosi, la cirrosi e lo sviluppo di epatocarcinoma; attualmente non esistono terapie specifiche, infatti è una delle maggiori cause di trapianto di fegato al mondo.

La NAFLD è caratterizzata da un accumulo di trigliceridi all'interno degli epatociti sotto forma di gocce lipidiche intracellulari. I trigliceridi vengono costituiti dall'esterificazione degli acidi grassi liberi (FFA) e del glicerolo. Gli acidi grassi liberi possono andare incontro a beta-ossidazione o esterificazione a trigliceridi, con immagazzinamento sotto forma di goccioline lipidiche o incorporazione nelle lipoproteine a densità molto bassa (VLDL). Uno sbilanciamento quindi tra sintesi, afflusso, ossidazione ed escrezione determina l'accumulo dei trigliceridi tipico della steatosi epatica [5]. L'accumulo di alti livelli di acidi grassi liberi e colesterolo libero, nonché di altri metaboliti lipidici, comporta lipotossicità, con conseguente disfunzione mitocondriale e stress ossidativo.

Secondo la teoria della patogenesi multiple-hit [6], numerosi fattori interagiscono per determinare l'insorgenza di NAFLD in soggetti geneticamente predisposti; tali fattori includono dieta, insulino-resistenza, alterazioni del microbiota intestinale, predisposizione genetica e modificazioni epigenetiche. Riguardo alla dieta è noto che il cambiamento dello stile di vita, focalizzato nella moderazione dell'assunzione di alcolici ed esercizio fisico, determinino un'importante riduzione dell'entità della steatosi epatica e dell'insulina-resistenza. Per quanto riguarda il microbiota, l'alterazione della composizione e della capacità metabolica della flora batterica intestinale ha un effetto diretto sul fegato e uno indiretto, favorendo l'obesità (circa il 60-75% delle persone obese ne soffre) il e il diabete di tipo 2 (la percentuale è il 75%) [7].

La NAFLD si associa a una maggiore incidenza di patologie cardiovascolari, con cui condivide molti fattori di rischio metabolici. È stato infatti osservato che i pazienti con NAFLD presentano disfunzione endoteliale, aumento della rigidità delle pareti delle arterie e aumento dello spessore dell'intima-media carotidea, parametri riconosciuti come marker di patologia cardiovascolare [4] [8].

Circa il 20% dei pazienti affetti da NAFLD progredisce verso la steatoepatite non alcolica (NASH), che è caratterizzata da infiammazione aggiuntiva con o senza fibrosi. La fibrosi avanzata nella NASH è associata ad un aumento della mortalità da causa cardiovascolare. I fattori determinanti la progressione da steatosi semplice a NASH non sono stati ancora completamente chiariti e di conseguenza, non è possibile predire con certezza l'evoluzione

della patologia. È stato riportato che lo stress ossidativo possa giocare un ruolo fondamentale nel determinare il danno epatocitario e quindi possa favorire tale progressione.

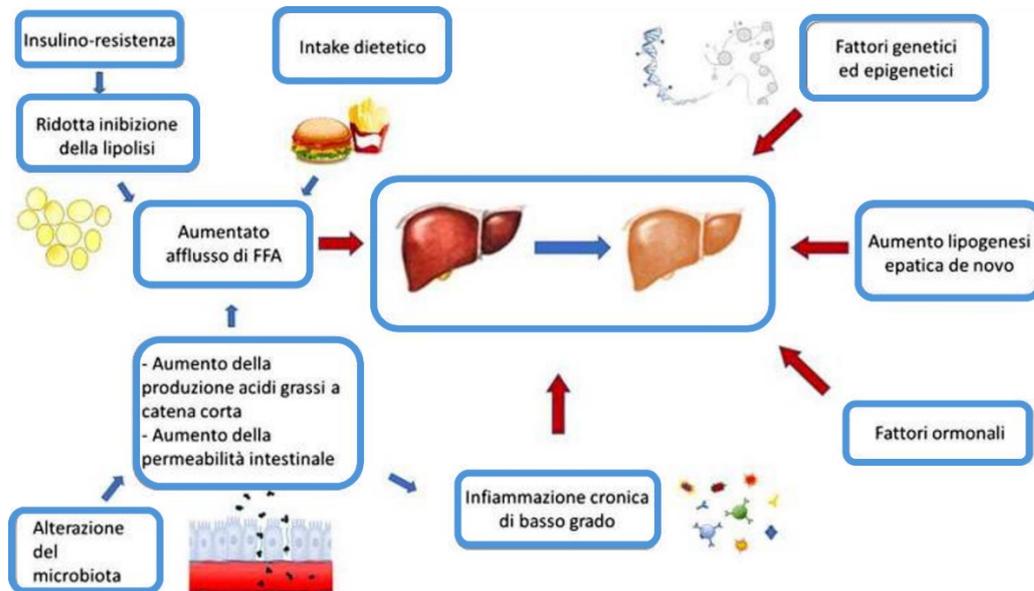


Figura 3: Fattori che trasformano la NAFDL in NASH [4]

1.2.2 Emocromatosi

Il sovraccarico di ferro è una conseguenza di numerose patologie e può portare allo sviluppo di danni agli organi, aumentando anche la mortalità. Nell'organismo umano, la quantità di ferro accumulata è regolata principalmente attraverso l'assorbimento intestinale, poiché non esiste un meccanismo specifico per eliminare l'eccesso di ferro. Le riserve di ferro corporee variano solitamente tra i 200 e i 1500 mg: negli uomini si depositano circa 13 mg di ferro per ogni kg di peso corporeo, mentre nelle donne questa cifra scende a circa 5 mg/kg [9]. Nei soggetti sani, i meccanismi di controllo riducono gradualmente l'assorbimento del ferro in base alle necessità dell'organismo e qualsiasi condizione che causi un aumento dell'assorbimento di ferro porterà ad un accumulo eccessivo. Il sovraccarico di ferro può essere classificato in due grandi categorie: accumulo di ferro primitivo o secondario. Nella forma primitiva, il problema risiede in un difetto del metabolismo del ferro, mentre nella forma secondaria è causato da altre patologie ereditarie o acquisite.

In alcuni casi, la causa specifica del sovraccarico di ferro è ben conosciuta, ma in altri il meccanismo che porta al sovraccarico non è ancora chiaro. Esistono inoltre situazioni in cui il sovraccarico di ferro deriva da una combinazione di fattori genetici e acquisiti.

Un esempio noto di sovraccarico di ferro primitivo è l'emocromatosi ereditaria, in cui l'assorbimento di ferro è eccessivo a causa di un difetto nel controllo del passaggio del ferro dalle cellule intestinali al sangue. Gli studi di biologia molecolare hanno individuato un gene

chiamato HFE, con due mutazioni, C282Y e H63D, che compromettono la funzione della proteina prodotta da questo gene. L'omozigosi per la mutazione C282Y è sufficiente a scatenare l'emocromatosi. Tuttavia, una percentuale di pazienti con emocromatosi clinica non presenta alcuna mutazione del gene HFE, suggerendo la presenza di altre forme ereditarie di emocromatosi non correlate al gene HFE, dovute a difetti in altri geni coinvolti nel metabolismo del ferro [10].

Un esempio di queste forme è l'emocromatosi giovanile, una variante grave di sovraccarico di ferro che comporta un aumento dell'assorbimento intestinale di ferro.

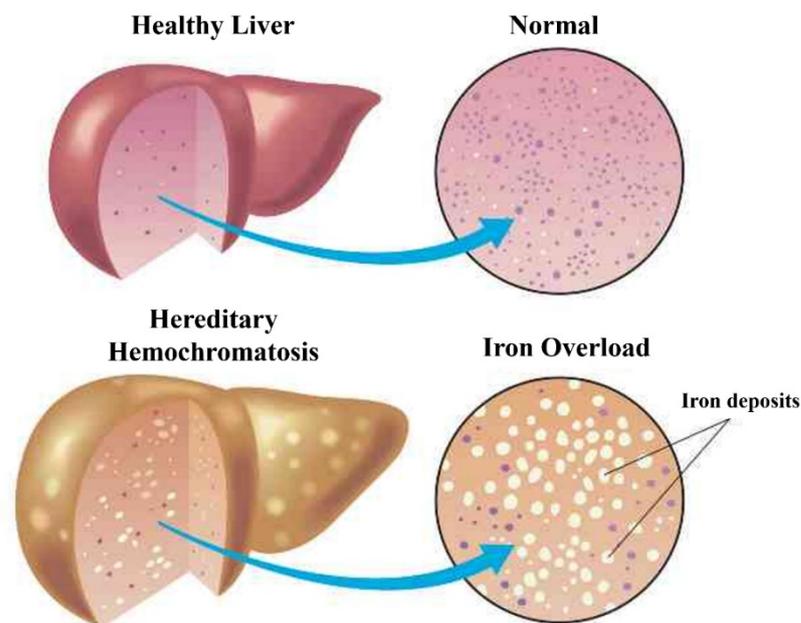


Figura 4: Visualizzazione del deposito del ferro nel fegato [11]

Il sovraccarico di ferro secondario include l'accumulo di ferro associato a patologie come le anemie diseritropoietiche, le epatopatie croniche, o dovuto a trattamenti medici come trasfusioni di sangue ripetute o somministrazione eccessiva di ferro, sia per via parenterale che orale. Talassemia major e anemia sideroblastica sono le patologie più studiate in cui il sovraccarico di ferro deriva da trasfusioni multiple o dalla produzione inefficace di globuli rossi, dovuta a un'eritropoiesi inefficace. In queste situazioni, i globuli rossi non completano il loro ciclo di maturazione, morendo prematuramente, con conseguente accumulo di ferro. L'anemia stimola ulteriormente l'assorbimento intestinale di ferro, aggravando il sovraccarico. Sebbene le trasfusioni siano vitali per i pazienti con queste gravi forme di anemia, esse contribuiscono significativamente all'accumulo di ferro, causando complicanze severe.

Nelle epatopatie croniche (virali, autoimmuni o alcoliche), il sovraccarico di ferro è comune, con una prevalenza che varia dal 12% al 64% a seconda dei casi. Questo sovraccarico,

solitamente lieve o moderato, può essere dovuto a un aumento dell'assorbimento intestinale di ferro, a un rilascio di ferro dalle cellule epatiche danneggiate o a una maggiore captazione di ferro da parte delle cellule epatiche a causa dello stato infiammatorio cronico. Anche modeste quantità di ferro possono aggravare il danno epatico iniziale provocato da virus epatitici o dall'alcol, accelerando la progressione della fibrosi epatica.

Nella porfiria cutanea tarda, il sovraccarico di ferro è il risultato di una combinazione di fattori, come l'alto consumo di alcol, la presenza di epatopatia cronica (spesso virale) e mutazioni del gene HFE.

Nelle fasi avanzate della cirrosi epatica, il sovraccarico di ferro è frequente, con livelli variabili che vanno da depositi modesti a condizioni simili all'emocromatosi. Si ritiene che questo sovraccarico sia acquisito piuttosto che di origine genetica, anche se sono necessarie ulteriori ricerche.

Recentemente è stata descritta una nuova condizione clinica in cui si osserva un sovraccarico di ferro moderato a livello epatico, accompagnato da elevati livelli di ferritina sierica, una saturazione della transferrina spesso normale e alterazioni metaboliche come diabete, obesità, ipertensione e dislipidemia. Il meccanismo alla base di questo accumulo di ferro non è ancora del tutto chiaro.

In entrambe le forme di sovraccarico di ferro (primario e secondario), gli organi più colpiti sono il fegato e il cuore. Il trattamento può invertire il processo: la flebotomia è usata per i pazienti con emocromatosi primaria [12], mentre gli agenti chelanti del ferro sono utilizzati per trattare i pazienti con la forma secondaria [13].

1.3 Tecniche e metodologie per l'analisi epatica

Nel corso degli anni sono state sviluppate diverse tecniche per analizzare il fegato e le componenti epatiche in modo tale da avere un approfondito quadro generale per prevenire, curare ed evitare il progredire di diverse patologie. Queste metodologie si possono dividere in due macro-categorie: tecniche di imaging e non. Tra le tecniche di imaging si possono citare gli ultrasuoni, la tomografia computerizzata e la risonanza magnetica.

1.3.1 Tecniche tradizionali

Biopsia

La biopsia epatica è lo standard di riferimento per diagnosticare l'accumulo di grasso, ma anche di ferro e di fibrosi, all'interno del fegato. La biopsia permette una visione microscopica della struttura cellulare del tessuto in osservazione, in particolare la presenza di ferro e di lipidi. [14] Tuttavia, questa tecnica è invasiva, costosa e soggetta a diversi bias di

campionamento, in particolare nei casi di distribuzione eterogenea della malattia. Inoltre può capitare che il paziente, soprattutto se non mostra sintomi, si rifiuti di sottoporsi a questa procedura per la paura della invasività, in quanto potrebbe portare a serie complicanze, come emorragie e nei casi più estremi, la morte.

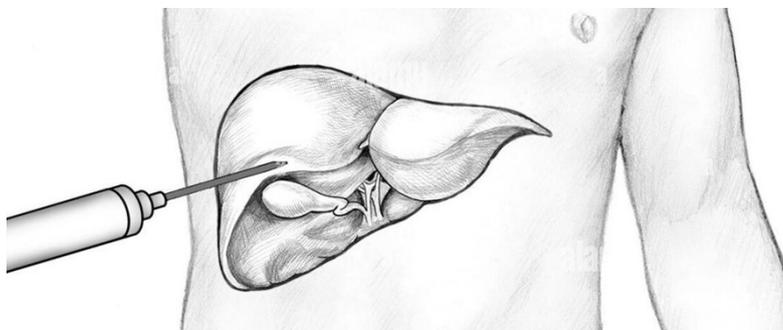


Figura 5: Biopsia epatica [15]

1.3.2 Tecniche di imaging

1.3.2.1 A ultrasuoni

I limiti della biopsia hanno spinto allo sviluppo dell'imaging non invasivo. L'ecografia convenzionale è stata utilizzata per diversi decenni per valutare le malattie del fegato. Le caratteristiche ecografiche della steatosi sono di natura altamente specifica, come una relativa iperecogenicità del fegato rispetto al rene.

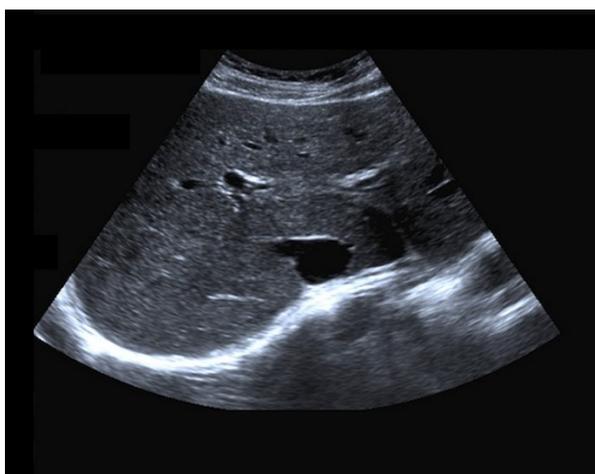


Figura 6: Immagine ad ultrasuoni del fegato [16]

Tuttavia, questa caratteristica manca di una quantificazione solida per un'ampia gamma di malattie. Un'altra limitazione dei metodi ecografici è la ridotta prestazione diagnostica nei pazienti obesi a causa dell'attenuazione delle onde dovute alla presenza di tessuto adiposo. [17]

1.3.2.2 Tomografia Computerizzata

La tomografia computerizzata (CT) è un altro strumento diagnostico sensibile alla steatosi epatica. [17] [18] La CT senza mezzo di contrasto è in grado di acquisire un'immagine tridimensionale ad alta risoluzione del fegato, con misure quantitative di attenuazione (unità Hounsfield [HU]) correlate alla steatosi epatica. Nello specifico, esiste una relazione inversa altamente prevedibile tra HU e contenuto lipidico epatico. Tipicamente, i fegati sani hanno un HU compreso tra 50 e 60, mentre un HU inferiore a 40 è predittivo di steatosi epatica. La sola misurazione dell'attenuazione epatica è il più forte predittore dell'infiltrazione lipidica. [14]



Figura 7: Immagine acquisita tramite tomografia computerizzata del fegato [19]

Tuttavia, la sensibilità e la specificità diminuiscono con la CT senza mezzo di contrasto quando è presente un'altra malattia epatica diffusa sottostante, come la deposizione di ferro. Poiché l'HU aumenta con la deposizione di ferro, lo scenario di sovraccarico combinato di lipidi e ferro tende a mascherare la quantificazione di ciascun componente. Un'altra limitazione della CT è l'esposizione alle radiazioni ionizzanti e il rischio di indurre una neoplasia: ciò la rende inadatta per l'uso di routine nel follow-up, spesso importante per il monitoraggio della malattia.

1.3.2.3 Tecniche MRI

La risonanza magnetica è molto sensibile alla deposizione di lipidi e ferro. Di conseguenza, sono stati ampiamente sviluppati metodi avanzati per l'osservazione e la quantificazione dei lipidi e del ferro, rendendo la risonanza magnetica una tecnica di imaging semplice e non invasiva per caratterizzare elementi specifici correlati alla malattia epatica diffusa. [17] Sono state impiegate diverse tecniche per rilevare il contenuto di lipidi e/o ferro nel fegato. Nello specifico, per i lipidi, le tecniche hanno coinvolto principalmente lo sfruttamento della

differenza di fase tra le risonanze dei lipidi e dell'acqua utilizzando metodi di chemical shift, come l'imaging a doppia eco in fase e a fase opposta.

Inoltre, questa differenza di risonanza consente la soppressione di un singolo metabolita utilizzando impulsi a radiofrequenza sintonizzati selettivamente. Tuttavia, quest'ultima tecnica non viene utilizzata di routine come tecnica quantitativa a causa delle difficoltà legate all'implementazione di efficienti impulsi a radiofrequenza selettivi in frequenza e, cosa ancora più importante, per la mancanza di un valore di riferimento per il calcolo della frazione lipidica o dell'acqua.

La quantificazione del ferro con la risonanza magnetica ha origine direttamente dall'effetto paramagnetico del ferro sugli spin dei protoni vicini. Questa interazione determina un cambiamento osservabile nell'omogeneità del campo locale e, quindi, un'accelerazione della sfasamento dello spin e del rilassamento T2*.

È importante considerare le concentrazioni di lipidi e ferro non solo individualmente ma anche nel contesto di malattie combinate, quando entrambi sono presenti in quantità rilevanti. Questo scenario rappresenta una sfida unica nella MR quantitativa perché ciascun metabolita confonde la misurazione dell'altro. Per poter adottare una tecnica di imaging non invasiva efficiente, è necessario acquisire e quantificare il biomarcatore mirato in modo rapido, accurato e simultaneo. [18]

1.3.2.3.1 Tecniche di identificazione del grasso epatico

Esistono diversi metodi per quantificare il grasso epatico attraverso la risonanza magnetica. [20] Di seguito verranno descritti i principali:

- **Proton Density Fat Fraction (PDFF)**

La frazione grassa della densità protonica (PDFF) è il principale biomarcatore di imaging quantitativo non invasivo della steatosi epatica, in quanto ha un livello molto alto di accuratezza, di precisione e di ripetibilità rispetto alle altre tecniche. [21] Il PDFF è una proprietà fondamentale dei tessuti e una misura obiettiva basata sull'imaging a risonanza magnetica indipendente dall'intensità del campo magnetico, dalla piattaforma dello scanner e dai parametri tecnici. Per calcolare la PDFF, vengono utilizzate sequenze multi-echo gradient echo (GRE), consentendo la copertura dell'intero fegato in un'unica apnea. [22]

Il PDFF restituisce il valore in percentuale della concentrazione di trigliceridi nei tessuti, e viene calcolato come il rapporto tra i protoni di trigliceridi visibili nell'imaging MR e la somma dei trigliceridi e dei protoni dell'acqua. [23]

- **Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS):**

Acquisita e analizzata utilizzando un approccio standardizzato, la spettroscopia MR può misurare le densità protoniche di trigliceridi e acqua in un piccolo volume di tessuto epatico in vivo. La MRS crea spettri di frequenza che descrivono la composizione chimica del tessuto, in cui ogni picco corrisponde a un metabolita diverso, ognuno caratterizzato da un valore specifico di frequenza di risonanza. [14]

La MRS viene utilizzata come tecnica per individuare coloro che sono a maggior rischio di sviluppare una malattia epatica più avanzata e coloro che potrebbero non rispondere bene alle terapie farmacologiche. [24] La steatosi epatica è anche un importante indicatore prognostico quando si considera il trapianto di fegato. La presenza di grasso epatico influisce sia sul recupero del donatore che sul fallimento dell'innesto del ricevente a causa di ischemia e danno da riperfusione. Molti centri di trapianto richiedono che il fegato di un donatore vivente contenga meno del 5% di steatosi, perché il rischio di disfunzione epatica del ricevente aumenta con il grado di steatosi dell'innesto

L'intensità del segnale, o altezza, del picco del metabolita (foto) e la larghezza della linea forniscono l'"area" sotto un particolare picco del metabolita, che può essere utilizzata per quantificare la quantità di sostanza chimica osservata all'interno del voxel di tessuto campionato

L'interpretazione dei dati spettroscopici MR richiede un software di post-elaborazione specializzato ed è soggetta a limitazioni tecniche, tra cui basso rapporto segnale/rumore, mascheramento dei picchi dei metaboliti da parte di picchi dominanti di acqua e lipidi, media del volume parziale da altri tessuti all'interno del voxel e spostamenti di fase e frequenza dovuti al movimento. [25]

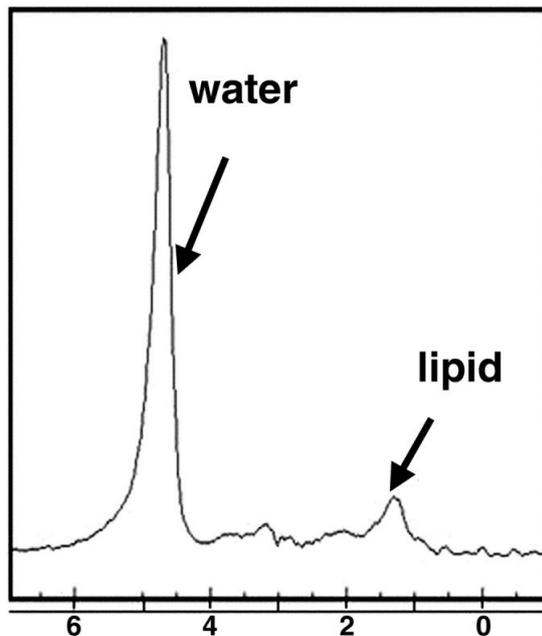


Figura 8: Picchi relativi agli spettri dell'acqua e del grasso [25]

- **Metodo DIXON IN-PHASE and OUT-OF-PHASE**

Il metodo DIXON sfrutta la differenza di frequenza intrinseca tra l'acqua e il tessuto adiposo. Questa differenza di frequenza, causata dai diversi tempi di precessione dei protoni dell'acqua e del metilene nei lipidi, consente di ottenere immagini in cui queste due componenti possono essere separate in modo preciso, rilevabili a specifici tempi di eco (TE) nell'imaging gradient-echo (GRE). [14]

In un modello a due componenti, acqua e lipidi raggiungono una differenza di fase di 180° l'uno rispetto all'altro (condizioni di fase opposta e in fase). [26] Escludendo altri effetti biologici e di risonanza magnetica, la perdita di segnale nell'imaging in fase opposta è proporzionale alla quantità di lipidi accumulati, fornendo così un metodo accurato di rilevamento della steatosi epatica (fegato grasso). [27]

Acquisendo immagini in fase opposta insieme a immagini in fase (dual-echo GRE), è possibile calcolare la frazione lipidica attraverso la seguente formula:

$$FF = \frac{(S_2 - S_1)}{2S_2}$$

dove S_2 è il segnale epatico misurato nelle immagini in fase (spesso confrontato con il segnale della milza) e S_1 è il segnale epatico nelle immagini in fase opposta.

Nonostante ci siano state evoluzioni e siano state implementate metodologie ancora più specifiche, questo approccio permette di determinare in modo semplice e soprattutto veloce la quantità di lipidi nel fegato.

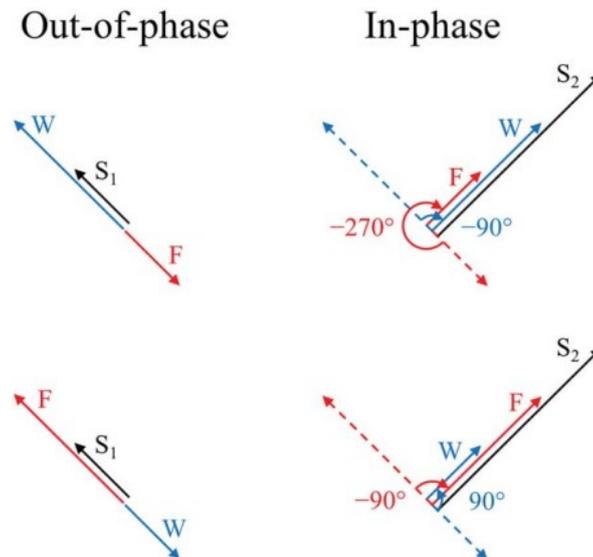


Figura 9: Configurazione in phase e out of phase dei protoni dell'acqua e del grasso [27]

- **Metodo IDEAL:**

Il metodo **IDEAL** (Iterative Decomposition of Water and Fat with Echo Asymmetry and Least-squares Estimation) è una tecnica avanzata di risonanza magnetica (MRI) sviluppata per migliorare la separazione tra acqua e grasso nei tessuti, utilizzando un approccio multi-echo. [28] A differenza del metodo Dixon, che si basa su due tempi di eco, il metodo IDEAL sfrutta acquisizioni a tre o più tempi di eco, consentendo una stima più robusta e precisa del contenuto di grasso, anche in presenza di artefatti come le disomogeneità del campo magnetico B_0 . Questo metodo utilizza algoritmi iterativi che permettono di correggere le variazioni di fase e ridurre l'errore causato da piccole differenze nel campo magnetico, migliorando così la qualità delle immagini e la quantificazione della frazione lipidica. [29]

Questo lo rende particolarmente utile per la diagnosi della steatosi epatica, in cui la quantificazione precisa della frazione di grasso nel fegato è cruciale per la valutazione e il monitoraggio della malattia, rendendo il metodo IDEAL estremamente sensibile e specifico per rilevare cambiamenti nella composizione tissutale.

1.3.2.3.2 Tecniche di identificazione del ferro epatico

La risonanza magnetica rappresenta la tecnica non invasiva più utilizzata per l'identificazione del ferro epatico, mostrando concordanza con i risultati ottenuti dalla biopsia. [18] [20]

Esistono due approcci diversi per identificare il ferro all'interno del fegato: il Signal Intensity Ratio (SIR), che usa il segnale tra il fegato e gli altri organi che solitamente non contengono ferro, e i metodi di rilassometria, che utilizzano un modello di decadimento esponenziale per il calcolo del T2*, il quale risulta essere inversamente proporzionale al sovraccarico di ferro.

Il Signal Intensity Ratio (SIR) calcola il contenuto di ferro epatico utilizzando un segnale relativo, che viene calcolato rispetto a organi con accumulo ferroso quasi o del tutto nullo.

Il metodo di analisi con il rapporto di intensità del segnale (SIR) prevede il posizionamento di tre regioni di interesse (ROI) nel fegato e due nei muscoli paraspinali destro e sinistro, sulla stessa sezione. [30] Successivamente, si calcola il rapporto fegato-muscolo per ciascun tempo di eco (TE) e per ciascun valore di ROI epatico, utilizzando la media del segnale del muscolo paraspinale. Il muscolo scheletrico è il riferimento più comunemente utilizzato, poiché il fegato tende ad avere una maggiore intensità di segnale rispetto al muscolo, permettendo così un confronto visivo che può confermare una lieve diminuzione relativa del segnale epatico.

[18]

Diversi studi hanno evidenziato una forte correlazione tra i rapporti fegato-muscolo SIR e la concentrazione di ferro nel fegato (LIC, Liver Iron Concentration) misurata tramite biopsia ($r = 0,80-0,92$). Questa correlazione ha dimostrato una relazione qualitativamente simile tra i rapporti SIR e i valori di LIC. [31]

Tuttavia, l'utilizzo di un tessuto di riferimento, come il muscolo, introduce una variabilità aggiuntiva, soprattutto nei pazienti con livelli di LIC bassi o moderati, o in quelli affetti da sarcopenia o miosteatosi. Inoltre i metodi SIR riducono il rapporto segnale-rumore e impediscono l'uso di tecniche di imaging accelerato parallelo e la copertura completa del fegato in un singolo respiro.

L'uso di tempi di eco relativamente lunghi limita anche la gamma dinamica dei metodi SIR, che possono non essere efficaci in presenza di alte concentrazioni di ferro. L'impiego di tempi di eco "in fase" è pensato per minimizzare gli effetti di confusione dovuti al grasso, che non viene completamente eliminato quando è presente nel fegato o nel muscolo, poiché il grasso ha in realtà più picchi spettrali.

Inoltre, i metodi SIR tendono a sovrastimare la LIC, in particolare nei casi di sovraccarico lieve o moderato. Con la crescente disponibilità di metodi basati sulla rilassometria, i metodi SIR non sono generalmente preferiti se sono disponibili tecniche basate sulla rilassometria. Tuttavia, i metodi SIR possono fornire informazioni complementari in caso di difficoltà tecniche dei metodi di rilassometria o quando la qualità dei risultati ottenuti con la rilassometria è discutibile. [32]

La rilassometria è una tecnica utilizzata per calcolare il tempo di rilassamento $T2^*$, sfruttando le proprietà paramagnetiche del ferro. Come già anticipato prima, il tempo di rilassamento trasversale ha un andamento di decadimento esponenziale, dovuto alle proprietà fisiche dei protoni sottoposti a un campo magnetico esterno. È stata individuata una correlazione tra il tempo di rilassamento trasversale e la concentrazione di ferro: più il $T2^*$ diminuisce più il ferro epatico aumenta, evidenziando una proporzione inversa tra il tempo $T2^*$ e la LIC.

Il fegato contiene circa il 70% del ferro corporeo totale ed è il principale sito di accumulo ferroso nel corpo. Sono stati individuati dei marcatori indiretti per il riconoscimento dell'accumulo del ferro, come la ferritina sierica e la saturazione della transferrina. Questi biomarcatori possono essere considerati buoni ma non perfetti in quanto sono sensibili ma non specifici. [33] Nonostante il contenuto di ferro nel fegato sia correlato al ferro corporeo totale, non può essere considerato un marcatore perfetto. Nelle anemie da accumulo di ferro, la maggior parte delle tossicità mediate dal ferro si verificano in organi extraepatici che rappresentano solo una frazione del ferro corporeo totale, pertanto, il LIC potrebbe non riflettere il contenuto di ferro negli organi bersaglio sensibili al ferro come cuore, ipofisi e pancreas. Alti livelli di ferro nel fegato comportano un rischio di malattia, bassi valori di ferro nel fegato invece, non escludono un sovraccarico di ferro nel miocardio o in altri tessuti target specifici.

Questa tecnica è risultata essere molto specifica e accurata, ma soprattutto riproducibile. Per evitare e minimizzare le incertezze nel calcolo del tempo di rilassamento trasversale, è importante scegliere con precisione i tempi di eco, solitamente scegliendo un valore minore o uguale a 1ms, in quanto si è potuto notare che acquisizioni con TE più bassi hanno valori di concentrazione di ferro epatico paragonabili a quelli individuati con la biopsia. [34]

Il grasso epatico intracellulare e il sovraccarico di ferro possono coesistere e influenzarsi a vicenda. In particolare, elevate riserve di ferro nel fegato sono considerate da alcuni ricercatori come un potenziale cofattore nello sviluppo dell'infiammazione e della fibrosi nella forma più aggressiva della NAFLD, ovvero la steatoepatite non alcolica (NASH). [20]

Per ridurre l'effetto confondente del grasso nella misurazione del ferro, sono state proposte acquisizioni con soppressione del grasso. Tuttavia, queste tecniche possono introdurre distorsioni nelle misurazioni del $T2^*$. Recentemente, sono stati sviluppati metodi avanzati che consentono la separazione simultanea di acqua e grasso, insieme alla mappatura del $T2^*$. Questi metodi permettono di ottenere misurazioni di $T2^*$ più accurate e prive di interferenze dovute alla presenza di grasso. [35]

La correzione per il grasso è particolarmente importante per ottenere una stima precisa del $T2^*$ in condizioni di sovraccarico di ferro lieve o moderato, mentre diventa meno rilevante (e

in alcuni casi impossibile) in situazioni di sovraccarico di ferro grave. In quest'ultimo caso, l'allargamento della larghezza di linea spettrale porta alla fusione dei picchi spettrali di grasso e acqua, rendendo difficile la separazione dei due segnali.

In aggiunta, la rilassometria $T2^*$ corretta per il grasso permette anche la quantificazione simultanea del contenuto di grasso epatico, un aspetto vantaggioso per i pazienti che presentano sovraccarico di ferro associato a dismetabolismi o a malattie epatiche diffuse coesistenti. [18]

1.4 Scopo della tesi e collaborazione ospedale

L'obiettivo principale di questo elaborato è l'analisi delle immagini di risonanza magnetica dell'addome, con particolare attenzione all'individuazione e alla caratterizzazione del fegato. Attraverso l'applicazione di modelli matematici, sono state costruite mappe del tempo di rilassamento trasversale $T2^*$, che sono state successivamente confrontate al fine di identificare il modello più accurato e rappresentativo.

La determinazione del valore di $T2^*$ riveste un ruolo fondamentale in quanto è strettamente correlata alla quantità di ferro presente nel fegato: un valore basso di $T2^*$ è indicativo di una concentrazione elevata di ferro.

Questa correlazione è di fondamentale importanza clinica, poiché consente di diagnosticare condizioni patologiche legate al sovraccarico di ferro, come l'emocromatosi o altre malattie epatiche. Inoltre, l'analisi accurata di $T2^*$ può fornire informazioni essenziali per pianificare trattamenti personalizzati, identificare strategie terapeutiche appropriate e, in alcuni casi, intervenire precocemente con misure preventive.

Un aspetto cruciale dell'analisi è rappresentato dalla segmentazione del fegato, realizzata tramite l'identificazione della componente vascolare. Questo processo permette di ottenere stime di $T2^*$ più affidabili, poiché consente di escludere la contaminazione derivante dal segnale dei vasi sanguigni. La rimozione del contributo vascolare garantisce un valore di $T2^*$ più puro, evidenziando un valore del ferro epatico più accurato.

L'intera analisi è stata resa possibile grazie alla preziosa collaborazione con l'Ospedale di Padova, che ha messo a disposizione non solo il proprio sapere clinico e scientifico, ma anche l'accesso a strumentazioni avanzate e software specializzati. Questa sinergia ha permesso di condurre un'indagine approfondita e accurata, integrando metodologie matematiche e strumenti tecnologici all'avanguardia per il miglioramento delle analisi diagnostiche del fegato.

Capitolo 2: stato dell'arte

Dopo aver esaminato le diverse tecniche disponibili per l'individuazione del ferro e del grasso epatico, si è scelto di analizzare il contenuto di ferro nel fegato utilizzando la rilassometria, concentrandosi sul calcolo del tempo di rilassamento trasversale $T2^*$. Questo parametro, derivato dall'intensità del segnale di risonanza magnetica, rappresenta un indicatore fondamentale per stimare il sovraccarico di ferro nei tessuti epatici.

Le immagini di risonanza magnetica sono state acquisite utilizzando una sequenza a tempi di eco crescenti, consentendo di modellare l'intensità del segnale del tessuto epatico come una funzione temporale. In questo modo, è stato possibile calcolare con precisione le costanti di decadimento del segnale, informazioni cruciali per caratterizzare il comportamento $T2^*$ del tessuto. [18]

L'analisi è stata condotta applicando diversi modelli matematici direttamente sulle mappe 4D del fegato, ottenute combinando le immagini di risonanza magnetica acquisite nei 10 tempi di eco. Questo processo ha permesso di costruire una rappresentazione tridimensionale (spaziale) del fegato arricchita da una dimensione temporale (eco time), fondamentale per l'elaborazione dei dati.

Nell'elaborato sono stati utilizzati tre modelli matematici non lineari esponenziali e un modello linearizzato per l'analisi del tempo di rilassamento trasversale $T2^*$. Per ciascun modello è stata applicata anche una tecnica di smoothing, che utilizza una maschera 3×3 centrata su ogni voxel. Questo approccio ha consentito di costruire quattro modelli smussati, migliorando la robustezza delle stime riducendo il rumore intrinseco nei dati di imaging.

Questo insieme di tecniche ha fornito un quadro completo e accurato per confrontare le prestazioni dei modelli nella stima di $T2^*$, garantendo risultati affidabili e utili per la caratterizzazione clinica del contenuto ferroso epatico.

2.1 Modelli non lineari

I modelli matematici adottati rappresentano con elevata precisione e naturalezza il comportamento del segnale magnetico nel tempo, poiché quest'ultimo segue intrinsecamente un decadimento di tipo esponenziale. La funzione esponenziale descrive in modo accurato la rapidità con cui l'intensità del segnale si attenua, riflettendo le caratteristiche fisiche e chimiche del tessuto analizzato.

Nel caso specifico del fegato, la concentrazione di ferro gioca un ruolo cruciale: la presenza di ferro altera localmente il campo magnetico, introducendo disomogeneità che accelerano il

decadimento del segnale. Questo fenomeno rende il tempo di rilassamento trasversale un parametro chiave per valutare il sovraccarico di ferro epatico e altre condizioni patologiche. Esistono diversi modelli matematici esponenziali per descrivere il decadimento del segnale magnetico. Nell'ambito di questa tesi sono stati utilizzati modelli non lineari che, grazie alla loro flessibilità e aderenza ai dati osservati, permettono di caratterizzare con precisione il comportamento temporale del segnale. Di seguito verranno presentati e analizzati in dettaglio i modelli non lineari adottati per la stima del $T2^*$, evidenziandone le caratteristiche principali e i metodi di applicazione.

2.1.1 Modello mono esponenziale

Il modello più semplice utilizzato per descrivere il decadimento del segnale è il modello mono-esponenziale.

$$S(t) = S_0 \times e^{-t/T2^*}$$

dove S_0 è l'intensità del segnale al tempo di eco uguale a 0 ms, t è il vettore di tempi di eco e $T2^*$ è il tempo di rilassamento trasversale.

Il modello mono-esponenziale descrive in maniera ragionevole il segnale nella parte iniziale di decadimento, ovvero durante i primi tempi di eco, mentre negli ultimi tempi di eco il decadimento del segnale viene interpretato in maniera approssimativa, questo perché il modello esponenziale presuppone una concentrazione di ferro uniforme all'interno dei voxel, quando nella realtà dei fatti il ferro epatico non è uniforme bensì può avere due componenti.

Un altro limite di questo modello è che viene trascurato l'effetto confondente del rumore delle immagini, il quale impedisce all'intensità del segnale di decadere a zero e prolunga la curva di decadimento apparente. [18]

Questi due limiti provocano una sovrastima del tempo di rilassamento trasversale $T2^*$.

2.1.2 Modello mono esponenziale con costante

Per ovviare alle limitazioni del modello mono-esponenziale è stato sviluppato il modello mono-esponenziale con costante.

$$S(t) = S_0 \times e^{-t/T2^*} + C$$

dove S_0 è l'intensità del segnale al tempo di eco uguale a 0 ms, t è il vettore di tempi di eco, $T2^*$ è il tempo di rilassamento trasversale e C è la costante di offset.

La costante C viene aggiunta in modo tale da riuscire a considerare anche il rumore additivo e le componenti lunghe del tempo di rilassamento trasversale. [18] [36]

2.1.3 Modello bi esponenziale

Il terzo modello analizzato è il modello bi-esponenziale, il quale considera il segnale originale diviso in due componenti, aumentando così la precisione della descrizione del modello e l'accuratezza nell'individuare i tempi di rilassamento trasversale.

$$S(t) = S0_1 \times e^{-t/T2*_1} + S0_2 \times e^{-t/T2*_2}$$

dove S0_1 e S0_2 sono rispettivamente l'intensità della prima componente (solitamente quella corta) e della seconda componente (solitamente quella lunga) del segnale al tempo di eco uguale a 0ms, t è il vettore di tempi di eco, T2*_1 e T2*_2 sono i tempi di rilassamento trasversale delle due componenti.

Nonostante il modello bi-esponenziale è teoricamente più preciso di altri modelli in quanto fornisce una descrizione più completa del segnale delle multicomponenti del tessuto epatico, è più difficile da usare visto che ha 4 gradi di libertà, rendendo il processo di stima abbastanza instabile a meno che non vengano imposti vincoli matematici. [37] Inoltre, molto spesso, all'interno dello stesso voxel le due componenti del segnale non sono del tutto distinte e risulta difficile separarle utilizzando solo l'ampiezza e il tempo di rilassamento trasversale.

2.2 Modello linearizzato

Il modello linearizzato è utilizzato per l'analisi del ferro epatico in quanto a differenza dei modelli esponenziali complessi che richiedono la risoluzione di equazioni non lineari, consente di semplificare l'individuazione del tempo di rilassamento trasversale.

$$\ln(S(t)) = \ln(S0) - t/T2^*$$

dove l'intercetta è pari al logaritmo naturale dell'ampiezza del segnale al tempo di eco 0 ms e il coefficiente angolare è inversamente proporzionale al tempo di rilassamento trasversale T2*.

Questa formula si ottiene attraverso il linearizzare l'equazione mono-esponenziale, ottenendo una relazione lineare tra il logaritmo del segnale e il tempo, facilitando così l'estrapolazione del T2*, attraverso l'applicazione di una regressione lineare. [38]

2.3 Segmentazione

Una volta definite le specifiche dei modelli matematici, questi vengono applicati direttamente alle mappe 4D ottenute dall'unione delle immagini di risonanza magnetica acquisite ai 10 tempi di eco. L'applicazione dei modelli permette di generare mappe rappresentative dell'addome e, in particolare, del fegato, dove i valori sono scalati in base al tempo di rilassamento trasversale $T2^*$. Queste mappe costituiscono una base fondamentale per analizzare le caratteristiche del tessuto epatico e individuare eventuali alterazioni patologiche. Per calcolare il valore di $T2^*$ e correlare i risultati con possibili malattie o condizioni patologiche, è necessario individuare una regione di interesse (ROI). In ambito clinico, i medici solitamente selezionano due o tre aree specifiche del tessuto epatico per calcolare i valori di $T2^*$ locali, utilizzando una ROI circolare che consente di valutare le variazioni all'interno del fegato. Per ottenere invece una stima globale del tempo di rilassamento trasversale, si ricorre alla segmentazione completa del fegato, effettuata mediante una ROI disegnata manualmente.

Tuttavia, la segmentazione globale del fegato può introdurre distorsioni nei valori di $T2^*$. Questo avviene perché la media dei valori all'interno della ROI include anche i voxel che rappresentano i vasi sanguigni presenti nel tessuto epatico. La contaminazione da parte del segnale vascolare altera il valore di $T2^*$, rendendo meno accurata l'analisi del contenuto di ferro nel fegato.

Per superare questa limitazione, sono state sviluppate diverse tecniche per segmentare il fegato eliminando il contributo dei vasi sanguigni, alcune delle quali elencate di seguito:

1. **Reti neurali di deep learning**, addestrate a riconoscere e segmentare i contorni dei vasi epatici con elevata precisione. [39]
2. **Segmentazioni manuali**, che però presentano limiti significativi in termini di ripetibilità sia inter-operatore che intra-operatore. [40]
3. **Filtraggio basato su soglie**, che utilizza valori prestabiliti di $T2^*$ per distinguere il tessuto epatico dai vasi. [40]

Nel presente lavoro di tesi, è stato invece sviluppato un metodo alternativo, fondato sulla generazione di mappe basate su un modello bi-esponenziale. Questo approccio consente di separare direttamente le componenti vascolari dal tessuto epatico, sfruttando le specifiche proprietà del segnale.

Nel corso dell'elaborato, saranno approfondite le tecniche che riguardano il filtraggio basato su soglie e la generazione di mappe direttamente dal modello bi-esponenziale, selezionate per l'analisi svolta durante il tirocinio presso l'Ospedale di Padova.

Capitolo 3: Database

3.1 Protocollo di acquisizione

Le immagini di risonanza magnetica sono acquisite con un protocollo specifico che cambia in base alla sede ospedaliera, alla marca del macchinario, alle necessità dell'operatore e del medico. [41] [42]

Le specifiche più importanti sono le seguenti:

- **Valore del campo magnetico:** solitamente è settato a un valore di 0.5 T, 1.5 T oppure 3.0 T [43]
- **Tempi di eco:** indicano il tempo trascorso tra l'applicazione di un impulso di radiofrequenza e la raccolta del segnale generato dal tessuto.
- **Echo spacing:** è l'intervallo di tempo che intercorre tra un tempo di eco e il successivo. Intervalli ridotti possono accelerare l'acquisizione totale, mentre intervalli maggiori possono essere usati per catturare con precisione il decadimento del segnale. [44]
- **Flip angle:** è l'angolo di rotazione a cui sono orientati i protoni rispetto al campo magnetico principale durante una sequenza di risonanza magnetica. Questo parametro determina il contrasto dell'immagine scansionata: se il valore è minore di 30° , permette la creazione di immagini pesate in $T2^*$.
- **Thickness:** indica lo spessore in millimetri della slice del corpo che viene acquisita durante la scansione. Lo spessore della slice influisce sulla risoluzione spaziale e sulla qualità dell'immagine. Solitamente per l'addome vengono scelti valori compresi tra i 4-8 mm in quanto non è necessario avere un'immagine troppo dettagliata. [42]
- **Dimensioni dell'immagine:** questo valore, espresso in matrice, rappresenta l'area che l'immagine di risonanza magnetica copre. Le due direzioni della matrice sono la frequenza (asse orizzontale) e la fase (asse verticale) dell'acquisizione.
- **Bandwidth:** rappresenta l'intervallo di frequenze che viene campionato durante l'acquisizione dei dati, influenzando sulla qualità e sulla velocità di acquisizione delle immagini. Una bandwidth più alta può ridurre il rumore di fondo nell'immagine, può consentire una rapida acquisizione dei dati, in quanto un maggior numero di informazioni vengono campionate in un tempo più breve, e consente di acquisire segnali da una gamma più ampia di frequenze, migliorando la risoluzione dell'immagine e permettendo di distinguere meglio i diversi segnali provenienti dai tessuti. [45]

Il protocollo descritto di seguito è quello utilizzato all'interno dell'Azienda Ospedaliera dell'Università di Padova, utilizzando una macchina di risonanza magnetica marca Siemens.

SPECIFICHE	VALORE
Campo Magnetico	1.5 T
Tempo di Eco (primo valore)	0.00093 s
Echo Spacing	0.00226 s
Flip Angle	20°-25°
Thickness	8 mm
Dimensioni Immagine x slice	128 x 128 x 1
Bandwidth per Pixels	1955 Hz/Px

Tabella 1: Specifiche relative all'Ospedale di Padova

3.2 Caratteristiche demografiche

Il database di soggetti sani è stato costruito arruolando 50 soggetti sani, 50% di popolazione maschile e 50% di popolazione femminile, che hanno effettuato volontariamente l'analisi con risonanza magnetica tra novembre 2021 e maggio 2022.

I criteri di inclusione nello studio sono stati:

- Età compresa tra i 20 ed i 69 anni;
- Assenza di fattori di rischio cardiovascolari;
- Anamnesi negativa per sintomi, per patologie cardiovascolari o sistemiche o per infezione da Sars-CoV-2 negli ultimi 3 mesi;
- Ciclo vaccinale anti- Sars-CoV-2 concluso almeno 3 mesi prima;
- Elettrocardiogramma recente (entro gli ultimi 3 mesi) negativo;
- Assenza di controindicazioni assolute alla risonanza magnetica.

I criteri sopra indicati sono stati verificati attraverso la raccolta anamnestica, integrata da un questionario sullo stile di vita, un'analisi antropometrica e l'esecuzione di un elettrocardiogramma, qualora fosse necessario.

I soggetti sono stati divisi in diverse classi in modo tale da garantire la presenza di entrambi i sessi in egual numero all'interno di ogni fascia di età: 20-29 anni, 30-39 anni, 40-49 anni, 50-59 anni, 60-69 anni. [46]

Il database di soggetti malati utilizzato per questa analisi è stato costruito a partire da un campione di 10 pazienti affetti da due patologie specifiche: emocromatosi con mutazione del gene HFE e talassemia major. Queste condizioni sono accomunate da un accumulo patologico di ferro nei tessuti, con implicazioni significative sulla funzionalità epatica e sulla distribuzione del ferro nell'organismo.

I pazienti inclusi coprono un'ampia fascia di età, variando dai 10 anni circa ai 80 anni. Tutti i soggetti sono stati sottoposti a trattamento per la gestione delle rispettive patologie.

La presenza di pazienti in trattamento garantisce che i dati raccolti riflettano sia lo stato patologico che gli effetti delle terapie in corso.

Tutti i soggetti e i pazienti hanno firmato un consenso informato ed hanno ricevuto informazioni in merito al protocollo svolto, seguendo la dichiarazione di Helsinki.

Capitolo 4: Metodi

4.1 Implementazione modelli scelti

I codici utilizzati per l'elaborazione delle analisi, il confronto tra i modelli e le segmentazioni necessarie sono stati sviluppati all'interno di un ambiente Python, integrato con il sistema operativo Ubuntu e il gestore di ambienti virtuali Anaconda. Questa configurazione ha garantito un ambiente di sviluppo flessibile e modulare, facilitando l'esecuzione e il testing delle varie procedure.

I database utilizzati per lo studio, contenenti sia soggetti sani sia pazienti, sono stati costruiti a partire da immagini di risonanza magnetica (MRI) dell'addome, acquisite mediante un macchinario ospedaliero durante i dieci tempi di eco previsti dal protocollo di acquisizione. Per ogni soggetto e paziente, le immagini acquisite inizialmente in formato DICOM sono state convertite nel formato NIFTI, più adatto per le analisi successive.

Le sequenze convertite sono state successivamente elaborate per generare mappe volumetriche 4D dell'addome. Questa operazione è stata effettuata utilizzando la funzione *fslmerge*, uno strumento della suite FSL che consente di combinare più immagini tridimensionali (3D) in una sequenza temporale, generando una mappa 4D in cui le dimensioni (x, y, z, t) rappresentano, rispettivamente, le coordinate spaziali e temporali.

Nel caso specifico, le mappe 4D sono state create con dimensioni $x = 128$, $y = 128$, $z = 1$ (essendo il dataset limitato a una singola slice rappresentativa del fegato) e $t = 10$, corrispondente ai dieci tempi di eco. Queste mappe costituiscono la base dati per le successive analisi e modellazioni.

Dopo il caricamento delle mappe 4D e dei relativi tempi di eco, sono state inizializzate matrici vuote di dimensioni (128, 128, 1, 10). Queste matrici sono state poi popolate con le informazioni relative a:

- Il tempo di rilassamento trasversale $T2^*$, calcolato per ogni voxel.
- L'intensità del segnale $S(t)$, per ciascun tempo di eco.
- Il tempo di esecuzione delle analisi, per monitorare l'efficienza computazionale.
- I residui, utilizzati per valutare la bontà del fitting e determinare i criteri di confronto tra modelli.

Per il modello mono-esponenziale con costante, è stata costruita una mappa aggiuntiva relativa al valore della costante.

Analogamente, per il modello bi-esponenziale sono state realizzate quattro mappe distinte, corrispondenti ai due tempi di rilassamento $T2_{*1_initial}$ e $T2_{*2_initial}$ delle componenti, e alle relative intensità dei segnali $A_{initial}$ e $B_{initial}$.

L'insieme delle mappe finali e dei parametri derivati è stato successivamente utilizzato per valutare e confrontare le prestazioni dei modelli, al fine di identificare il modello più adeguato per descrivere i fenomeni di rilassamento trasversale $T2^*$ in ambito clinico e sperimentale.

```
# Inizializza le matrici per salvare i valori interessanti
t2_star_map_liver = np.zeros(data_4d.shape[:3])
t2_star_map_blood = np.zeros(data_4d.shape[:3])
t2_star_map = np.zeros(data_4d.shape[:3])
S0_map_liver = np.zeros(data_4d.shape[:3])
S0_map_blood = np.zeros(data_4d.shape[:3])
S0_map = np.zeros(data_4d.shape[:3])

ex_time = np.zeros(data_4d.shape[:3])
residuals = np.zeros(data_4d.shape)
```

Figura 10: Esempio inizializzazione mappe del modello bi esponenziale

Per ciascun modello considerato è stata definita una funzione specifica che descrive il comportamento scelto per il decadimento esponenziale, nel caso dei modelli non lineari, oppure il comportamento della retta di regressione lineare per il modello linearizzato. Queste funzioni rappresentano le basi teoriche utilizzate per il fitting dei dati sperimentali relativi al segnale di risonanza magnetica.

Per i modelli esponenziali, è stato implementato un ciclo iterativo che, per ogni singolo voxel dell'immagine, seleziona i dati relativi all'intensità del segnale $S(t)$ corrispondenti ai vari tempi di echo e procede con il fitting della curva esponenziale. Tale procedura viene avviata a partire da un set di parametri iniziali, scelti sulla base di considerazioni fisiologiche e sperimentali. I valori ottimali ottenuti dal fitting sono quindi assegnati alle rispettive mappe:

- $T2^*$, rappresentativa del tempo di rilassamento trasversale calcolato per il voxel.
- $S(t)$, intensità del segnale calcolata in funzione del tempo di eco.
- Costante C , dove applicabile (ad esempio, nel caso del modello mono-esponenziale con costante).

La procedura garantisce che ogni voxel venga analizzato in modo indipendente, consentendo una stima spazialmente risolta dei parametri di interesse. I risultati del fitting sono poi memorizzati nelle mappe 4D, che costituiscono l'output finale del processo di modellazione.

Nella tabella sottostante sono riportati i parametri iniziali utilizzati per il fitting nei modelli mono-esponenziale e mono-esponenziale con costante. Questi valori iniziali sono stati utilizzati sia nella versione smooth che non smooth, sia per i dati relativi ai soggetti sani che

per quelli dei pazienti. Tali parametri sono stati scelti per garantire la convergenza del fitting verso soluzioni fisiologicamente plausibili e sono stati ottimizzati per adattarsi alle caratteristiche specifiche di ciascun dataset.

	MONO ESPONENZIALE	MONO ESPONENZIALE CON COSTANTE
Ampiezza del segnale S	S0 (valore iniziale)	S0 (valore iniziale)
Tempo di rilassamento T2*	0.02	0.02
Costante	-	Media degli ultimi 3 segnali

Per quanto riguarda il modello linearizzato, non è stato necessario definire in maniera esplicita un set di parametri iniziali. In questo caso, infatti, i parametri ottimali vengono calcolati direttamente tramite il metodo della regressione lineare, applicato ai dati relativi all'intensità del segnale $S(t)$ nei diversi tempi di eco.

La regressione lineare consente di determinare i coefficienti che meglio descrivono il comportamento del decadimento del segnale in maniera analitica, riducendo il margine di errore associato alla scelta di valori iniziali arbitrari.

Questa metodologia è stata applicata sia alle versioni smooth che non smooth del modello, nonché ai dati relativi a pazienti e soggetti sani, garantendo un approccio uniforme e diretto nella stima dei parametri.

La semplicità e l'efficienza computazionale del modello linearizzato lo rendono particolarmente adatto per confronti preliminari e per l'analisi di dataset di grandi dimensioni, mantenendo comunque un buon livello di accuratezza nelle stime dei parametri T2* e dell'intensità del segnale.

```
# Calcolare il T2* dalla pendenza e S0 dall'intercetta
T2_star = -1 / slope
S0 = np.exp(intercept)
```

Il modello bi-esponenziale è stato impiegato con due obiettivi principali, ciascuno dei quali richiedeva un approccio specifico e una diversa configurazione dei parametri iniziali:

1. Distinzione tra il contributo dell'acqua e del grasso nel tessuto epatico:

In questo caso, il modello è stato utilizzato per separare le componenti del segnale relative all'acqua e al grasso presenti nel fegato, al fine di ottenere una caratterizzazione dettagliata della composizione tessutale. I valori iniziali dei

parametri per questa applicazione sono stati selezionati sulla base di dati riportati in letteratura, garantendo una base fisiologicamente plausibile per il fitting. [47]

	Valore T2* iniziale	Valore ampiezza iniziale
Prima componente (grasso)	0.010 s	$S_0 * 0.3$
Seconda componente (acqua)	0.030 s	$S_0 * 0.7$

2. Individuazione della componente vascolare per la segmentazione del fegato:

Per questo scopo, il modello è stato configurato per identificare e quantificare il contributo dei vasi sanguigni all'interno del fegato. Questa analisi ha richiesto un approccio più complesso per la determinazione dei parametri iniziali, poiché si è scelto di privilegiare l'accuratezza dei dati adottando una procedura di stima personalizzata basata sulle caratteristiche specifiche dei dati raccolti. Tale stima customizzata è stata effettuata con l'obiettivo di ottimizzare i risultati del fitting, adattando i parametri iniziali alle peculiarità dei dataset analizzati e migliorando così la convergenza del modello verso soluzioni fisiologicamente e statisticamente rilevanti. I valori iniziali sono stati quindi stimati utilizzando un Gaussian Mixture Model (GMM), un modello statistico che rappresenta la distribuzione di un insieme di dati come una combinazione di più distribuzioni gaussiane.

L'implementazione del GMM è stata effettuata in un secondo momento rispetto al confronto dei modelli matematici descritti in precedenza. Questo approccio ha permesso di sfruttare la capacità del GMM di identificare cluster nei dati, assegnando ogni voxel alle componenti gaussiane predominanti, associate rispettivamente al tessuto vascolare e alle altre componenti del fegato. Tale distinzione ha facilitato l'elaborazione di una segmentazione accurata del fegato e ha migliorato la precisione nell'identificazione delle caratteristiche fisiologiche rilevanti.

4.2 Criteri di valutazione e confronto modelli: AIC, BIC, R2 Adjusted e RMSE

Una volta ottenute le mappe del tempo di rilassamento trasversale T2* per i modelli mono-esponenziale, mono-esponenziale con costante e linearizzato, si è effettuato un confronto di

modelli attraverso l'analisi e l'utilizzo di criteri di valutazione specifici che tengono conto della bontà dell'adattamento, della complessità del modello e della capacità predittiva.

I criteri impiegati in questo studio sono quattro e sono:

- L'Akaike Information Criterion (AIC) è una misura che bilancia la qualità dell'adattamento di un modello ai dati con la complessità del modello stesso. Un valore di AIC più basso indica un miglior compromesso tra bontà del fit e semplicità del modello. L'AIC è utile per confrontare diversi modelli, penalizzando quelli eccessivamente complessi al fine di evitare overfitting. La formula è:

$$AIC = 2k - 2 \ln(L)$$

con k rappresenta il numero di parametri del modello e L la massima verosimiglianza stimata.

- Il Bayesian Information Criterion (BIC) è simile all'AIC ma introduce una penalizzazione più severa per la complessità del modello, specialmente in presenza di dataset di grandi dimensioni. Un valore di BIC più basso indica un modello preferibile. Rispetto all'AIC, il BIC tende a favorire modelli più semplici, risultando particolarmente adatto quando l'obiettivo è selezionare un modello con un forte fondamento bayesiano. La formula è:

$$BIC = k \ln(n) - 2 \ln(L)$$

con n è la dimensione del campione, k rappresenta il numero di parametri del modello e L la massima verosimiglianza stimata.

- Il coefficiente di determinazione adjusted (R_{adj}^2), tiene conto del numero di variabili indipendenti incluse nel modello. Esso misura la proporzione di variabilità spiegata dal modello, penalizzando l'aggiunta di variabili non significative. Questo criterio è utile per valutare la bontà dell'adattamento del modello, tenendo conto del suo livello di complessità. La formula è:

$$R_{adj}^2 = 1 - \left(\frac{1 - R^2}{n - p - 1} \right) (n - 1)$$

con n è la dimensione del campione e p il numero di predittori.

- Il Root Mean Square Error (RMSE) rappresenta una misura dell'errore medio quadratico commesso dal modello rispetto ai dati osservati. Esso quantifica la differenza media tra i valori osservati y_i e quelli predetti \hat{y}_i . Un valore più basso di RMSE indica una maggiore accuratezza predittiva del modello. Questo criterio è particolarmente indicato per valutare modelli con obiettivi predittivi. La formula è:

$$RMSE = \sqrt{\left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2\right)}$$

I criteri descritti in precedenza sono stati utilizzati per effettuare un confronto dettagliato tra i tre modelli matematici, con l'obiettivo di individuare quello più accurato nel rappresentare il comportamento del tempo di rilassamento trasversale $T2^*$. Per garantire una valutazione robusta e quantitativa, i criteri sono stati adattati utilizzando il Residual Sum of Squares (RSS), una misura diretta della discrepanza tra i valori osservati e quelli predetti. L'utilizzo dell'RSS consente di valutare con precisione la qualità del fitting, rendendolo particolarmente adatto per questa analisi.

Utilizzando il software MATLAB, è stata definita manualmente una regione di interesse (ROI) per generare una maschera bidimensionale di dimensioni 128x128. La maschera assegna valore 1 ai pixel all'interno della regione corrispondente al fegato e valore 0 ai pixel esterni, consentendo di isolare esclusivamente il tessuto epatico.

Per ogni paziente e per ogni voxel, i valori dei residui calcolati sono stati salvati in una mappa 4D all'interno di ogni singolo codice per ciascun modello. Queste mappe permettono di eseguire analisi comparative per tutte le regioni del fegato incluse nella maschera.

Le formule dei criteri modificate con l'introduzione dell'RSS sono riportate di seguito:

- Akaike Information Criterion

$$AIC = n \ln \left(\frac{RSS}{n} \right) + 2k$$

- Bayesian Information Criterion

$$BIC = n \ln \left(\frac{RSS}{n} \right) + k \ln(n)$$

- Coefficiente di determinazione adjusted

$$R_{adj}^2 = 1 - \left(\frac{\frac{RSS}{n - p - 1}}{\frac{TSS}{n - 1}} \right)$$

dove TSS è il Total Sum of Squares.

- Root Mean Square Error

$$RMSE = \sqrt{\frac{RSS}{n}}$$

Un codice è stato implementato per calcolare tutti i quattro criteri per ciascun voxel all'interno della maschera epatica. Per ogni voxel:

1. I valori dei criteri sono calcolati per ciascun modello all'interno della maschera del fegato.
2. I risultati sono confrontati per determinare il modello che meglio rappresenta il comportamento del tempo di rilassamento trasversale.
3. Il modello migliore per il voxel viene registrato in una lista associata a quello specifico modello. Contemporaneamente, un contatore tiene traccia del numero totale di voxel assegnati a ciascun modello.

Al termine dell'elaborazione per tutti i voxel, i dati aggregati vengono utilizzati per generare un istogramma che rappresenta il numero di voxel assegnati a ciascun modello per ogni soggetto. Questo istogramma fornisce una rappresentazione visiva e quantitativa della distribuzione dei modelli migliori nei vari dataset, consentendo un confronto chiaro delle prestazioni tra i tre approcci matematici.

Il confronto è stato esteso anche al database dei pazienti, replicando il medesimo approccio utilizzato per il database dei soggetti sani. Per garantire la coerenza tra i due database, sono state mantenute le stesse metodologie di pre-processing e calcolo dei parametri (vedi capitolo "Risultati").

L'identificazione del modello migliore non si è limitata alla valutazione della sua performance, ma è stata utilizzata come base per determinare i valori a priori necessari all'implementazione del modello bi-esponenziale. In particolare, il modello mono-esponenziale ha fornito informazioni cruciali per distinguere le componenti del tessuto epatico da quelle del tessuto vascolare.

È stato creato un istogramma che rappresenta la distribuzione dei valori di $T2^*$ aggregati per tutti i soggetti. Questo istogramma ha consentito di osservare la variabilità inter-soggettiva e le caratteristiche principali della distribuzione dei tempi di rilassamento trasversale.

Successivamente, il Gaussian Mixture Model (GMM) è stato applicato a questi dati per identificare due valori distinti del tempo di rilassamento trasversale: uno associato al tessuto epatico e l'altro ai vasi sanguigni. Il GMM, grazie alla sua capacità di rappresentare distribuzioni come combinazioni di più gaussiane, ha permesso di separare in modo statistico e robusto le due componenti principali, fornendo così i parametri necessari per la successiva segmentazione del fegato e per una caratterizzazione più accurata delle componenti fisiologiche.

I valori di media e deviazione standard ottenuti attraverso il GMM sono stati utilizzati come informazioni preliminari fondamentali nell'analisi quantitativa del modello bi-esponenziale. Questi parametri sono stati considerati come valori a priori all'interno di un metodo di stima Maximum A Posteriori (MAP).

Il metodo MAP combina i priori derivati dal GMM con le informazioni osservate nei dati di risonanza magnetica, integrandoli in un quadro probabilistico per calcolare i valori ottimali dei parametri del modello bi-esponenziale. Questo approccio garantisce che la stima dei parametri non solo sia stata guidata dai dati osservati, ma anche vincolata da conoscenze fisiologiche e statistiche incorporate nei priori, riducendo l'influenza di rumore o degli outliers presenti.

L'utilizzo dei valori di media e deviazione standard come priori nel MAP ha permesso di migliorare l'affidabilità del fitting, specialmente nelle regioni con segnali meno definiti o con una maggiore sovrapposizione tra le componenti di tessuto e vascolari. Questo approccio ha contribuito a una migliore separazione delle due componenti principali del segnale nel modello bi-esponenziale, rafforzando la robustezza dell'analisi e la precisione nella stima dei parametri, e contribuendo a migliorare l'accuratezza della segmentazione successiva.

4.3 Segmentazione del fegato

DATABASE DEI SOGGETTI

La segmentazione del fegato è stata implementata con l'obiettivo di distinguere il contributo del tessuto epatico da quello dei vasi sanguigni, garantendo così un segnale più puro e rappresentativo del tempo di rilassamento trasversale $T2^*$. Questa distinzione è cruciale per migliorare l'accuratezza dell'analisi, eliminando la contaminazione introdotta dal segnale dei vasi sanguigni e consentendo una stima più precisa del contenuto ferroso all'interno del tessuto epatico.

Nell'ambito dell'analisi, sono state applicate diverse tipologie di segmentazione, ciascuna con un approccio unico per isolare il tessuto epatico. I risultati delle diverse segmentazioni sono stati successivamente confrontati tra loro e valutati rispetto alle segmentazioni ottenute con il software HIPPO, un sistema di analisi epatica pixel-wise utilizzato in ambiente ospedaliero.

Le quattro tipologie di segmentazione adottate sono descritte di seguito:

1. **Mappa segmentata del fegato senza vasi, generata dal modello bi-esponenziale:**

Questa tecnica sfrutta direttamente i risultati dell'analisi bi-esponenziale per generare una mappa del fegato priva del contributo dei vasi sanguigni. Il modello separa le componenti del segnale in base al tempo di rilassamento $T2^*$ e all'intensità diverse, distinguendo il tessuto epatico dalle strutture vascolari.

2. **Algoritmo di soglia basato su MAP (Maximum A Posteriori):**

Questo metodo utilizza un approccio statistico per individuare due gaussiane rappresentative: una associata al tessuto epatico e l'altra ai vasi sanguigni. Applicando una soglia, l'algoritmo elimina la componente vascolare, preservando esclusivamente i voxel corrispondenti al tessuto epatico.

3. **Algoritmo di soglia basato su MCMC (Markov Chain Monte Carlo):**

Simile al metodo MAP, questo algoritmo utilizza una tecnica di inferenza bayesiana più complessa, basata su simulazioni MCMC, per individuare le due gaussiane. Anche in questo caso, la soglia viene applicata per eliminare i voxel associati ai vasi sanguigni, mantenendo quelli del tessuto epatico.

4. **Clusterizzazione mediante k-means:**

Questo approccio utilizza un algoritmo di clustering per identificare gruppi distinti di voxel in base ai valori di $T2^*$. Una volta individuati i cluster, quelli associati ai vasi sanguigni vengono esclusi dall'analisi, consentendo di ottenere una mappa segmentata del tessuto epatico.

Il confronto tra le diverse segmentazioni e il metodo standard offerto dal software HIPPO ha permesso di valutare l'efficacia e la robustezza di ciascun approccio, contribuendo a identificare la tecnica più adatta per garantire un'analisi accurata del fegato.

Ciascuna di queste tecniche è stata analizzata in termini di vantaggi e svantaggi, al fine di valutare la loro applicabilità e robustezza nei diversi scenari.

1. **Mappa segmentata del fegato senza vasi, generata dal modello bi-esponenziale**

Pro:

- Permette di sfruttare direttamente i risultati del modello bi-esponenziale, integrando l'analisi della segmentazione con la modellazione del T2*.
- Riduce il rischio di sovrastima del tempo di rilassamento trasversale dovuto alla contaminazione del segnale vascolare, poiché i vasi vengono distinti in base al comportamento del decadimento esponenziale.
- Automatica e non richiede intervento manuale, riducendo la possibilità di errori inter- e intra-operatore.

Contro:

- L'accuratezza della segmentazione dipende strettamente dalla qualità dei dati di input e dalla capacità del modello di distinguere le due componenti.
- Non tiene conto di possibili variazioni fisiologiche o anatomiche che possono alterare i parametri del modello bi-esponenziale.
- Può risultare meno robusta in presenza di rumore o artefatti nelle immagini di risonanza magnetica.

2. **Algoritmo di soglia basato su MAP (Maximum A Posteriori)**

Pro:

- Utilizza un approccio statistico che integra informazioni a priori, migliorando l'accuratezza della segmentazione soprattutto in dataset con una buona separazione tra tessuto epatico e vasi sanguigni.
- Consente una gestione relativamente semplice dei dati grazie all'implementazione diretta di gaussiane.
- È meno influenzato da variazioni locali del segnale rispetto alle tecniche manuali o di clustering.

Contro:

- Dipende dalla corretta scelta dei valori a priori, che potrebbero non riflettere accuratamente le condizioni fisiologiche del soggetto.
- Può risultare meno efficace in dataset con sovrapposizioni significative tra le gaussiane del tessuto epatico e dei vasi sanguigni.

- La soglia impostata potrebbe introdurre una segmentazione parziale o eccessiva in caso di distribuzioni non gaussiane.

3. Algoritmo di soglia basato su MCMC (Markov Chain Monte Carlo)

Pro:

- Offre una maggiore flessibilità rispetto al metodo MAP, grazie alla capacità del MCMC di esplorare in modo più accurato lo spazio dei parametri e individuare gaussiane anche in presenza di sovrapposizioni significative.
- Riduce il rischio di errori sistematici derivanti da ipotesi a priori troppo rigide.
- Più adatto a dataset complessi o rumorosi, dove la separazione tra tessuto e vasi è meno evidente.

Contro:

- In termini computazionali è più costoso rispetto al metodo MAP, con tempi di elaborazione significativamente più lunghi.
- Richiede una calibrazione accurata dei parametri di input per garantire una convergenza affidabile delle catene Markov.
- Può introdurre variabilità nei risultati in funzione della qualità delle simulazioni e della configurazione iniziale.

4. Clusterizzazione mediante k-means

Pro:

- Approccio che non richiede ipotesi a priori sulla distribuzione del segnale, risultando particolarmente utile in dataset con distribuzioni complesse o multimodali.
- Semplice da implementare e meno costoso rispetto ai metodi bayesiani in termini computazionali.
- Permette una visualizzazione intuitiva dei cluster, facilitando l'interpretazione dei risultati.

Contro:

- La scelta del numero di cluster k influisce significativamente sull'accuratezza della segmentazione e richiede spesso un'ottimizzazione preliminare, motivo per cui è stato eseguito un algoritmo con silhouette in modo tale da individuare il numero di cluster ottimale.
- Sensibile alla presenza di outliers e rumore, che possono alterare la corretta identificazione dei cluster.

- Non considera la distribuzione statistica sottostante dei dati, rendendo meno efficace l'identificazione dei vasi sanguigni in dataset con segnali sovrapposti o debolmente separati.

Di seguito verranno descritte nei dettagli ciascuna di queste tecniche, evidenziando i parametri utilizzati e gli algoritmi adoperati.

1. **Mappa segmentata del fegato senza vasi, generata dal modello bi-esponenziale**

Nel contesto della costruzione del modello bi-esponenziale, è stato implementato un processo dettagliato per generare e combinare diverse mappe al fine di ottenere una rappresentazione segmentata del fegato priva del contributo dei vasi sanguigni. In particolare, il ciclo di analisi ha prodotto quattro mappe distinte: due dedicate ai valori $T2^*$ e due relative alle ampiezze del segnale, rispettivamente per il fegato e per i vasi sanguigni.

Le mappe $T2^*$ sono state utilizzate per rappresentare il tempo di rilassamento trasversale del tessuto epatico e delle strutture vascolari, mentre le mappe delle ampiezze forniscono informazioni sull'intensità relativa del segnale per ciascuna componente. Questi dati, calcolati voxel per voxel, hanno consentito un'analisi granulare e precisa del comportamento del segnale nelle diverse regioni del fegato.

La mappa segmentata finale è stata costruita integrando queste quattro mappe attraverso un processo iterativo. Per ciascun voxel, il valore del $T2^*$ del vaso sanguigno e la corrispondente ampiezza del segnale sono stati confrontati con i valori della componente epatica. Se il valore del $T2^*$ dei vasi e la relativa ampiezza del segnale risultavano maggiori rispetto a quelli del tessuto epatico, il voxel in questione è stato identificato come appartenente a un vaso sanguigno. In tali casi, il valore del voxel nella mappa segmentata è stato impostato a zero, segnalando l'assenza di tessuto epatico e indicando la presenza di un vaso.

Il risultato finale di questo processo è una mappa segmentata del fegato in cui i vasi sanguigni sono rappresentati come "buchi" (valori pari a zero) all'interno del tessuto epatico.

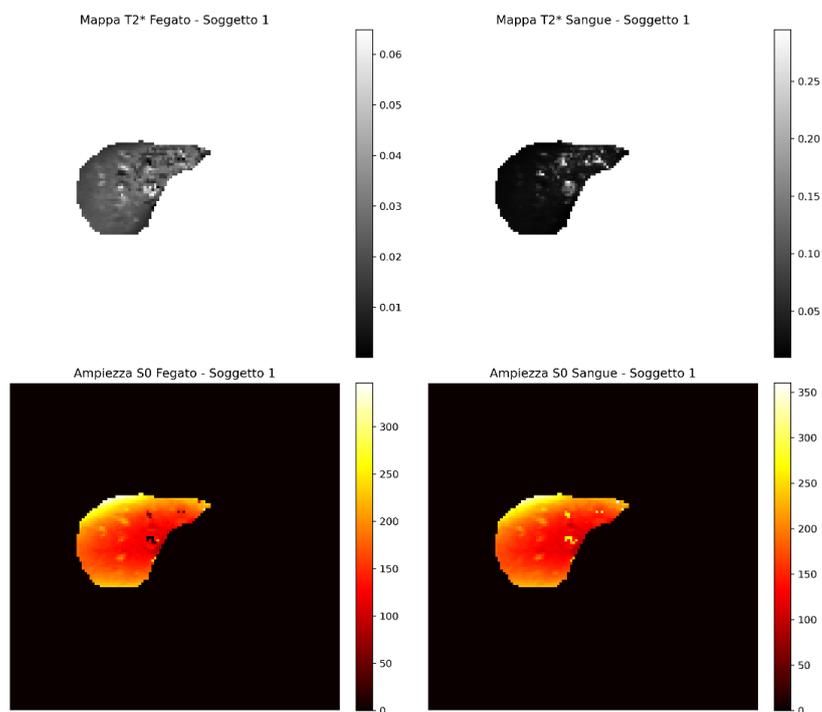


Figura 11: Mappe del T2* della componente epatica e della componente sanguigna e relative mappe delle ampiezze.

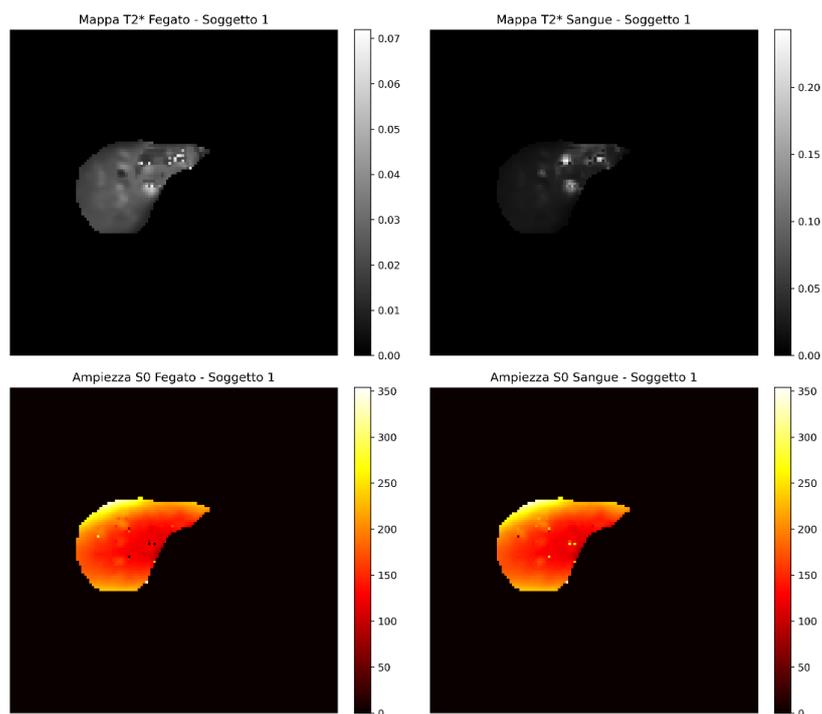


Figura 12: Mappe del T2* della componente epatica e della componente sanguigna e relative mappe delle ampiezze (versione smooth)

2. Algoritmo di soglia basato su MAP (Maximum A Posteriori)

Riguardo all'algoritmo sviluppato per la segmentazione del fegato, il processo è iniziato con il caricamento delle mappe derivate dal modello bi-esponenziale. Queste mappe rappresentano una combinazione voxel per voxel delle due componenti

principali: quella epatica e quella sanguigna. Tale configurazione iniziale ha permesso di integrare informazioni dettagliate sia sul tessuto epatico sia sui vasi sanguigni, fornendo una base robusta per la successiva analisi.

Una volta caricate le mappe, è stato applicato un algoritmo basato sul metodo di stima Maximum A Posteriori (MAP). Questo metodo utilizza prior iniziali, ovvero stime preliminari derivate dai valori ottenuti tramite il Gaussian Mixture Model (GMM) applicato al modello mono-esponenziale. Il GMM ha permesso di identificare e separare i dati in due distribuzioni gaussiane: una rappresentante il tessuto epatico e l'altra rappresentante i vasi sanguigni, fornendo stime iniziali per i parametri delle distribuzioni. Questi prior vengono quindi integrati nel metodo MAP, che, attraverso un processo di ottimizzazione, aggiorna tali parametri per generare gaussiane più precise e rappresentative del dataset analizzato.

Una volta ottenuti i parametri ottimizzati tramite il MAP, viene implementata una fase di sogliatura (thresholding). In questa fase, si utilizza la media della seconda gaussiana, associata ai vasi sanguigni, come valore soglia: tutti i voxel con valori superiori a tale soglia vengono considerati parte della componente vascolare e sostituiti con 0. Questo procedimento consente di rimuovere il contributo dei vasi sanguigni, generando mappe segmentate in cui il fegato viene rappresentato senza interferenze vascolari, con i voxel associati ai vasi sostituiti da “buchi” (valori pari a zero).

Il risultato finale è una mappa segmentata del fegato che offre una rappresentazione più fedele del tessuto epatico, libera dalle contaminazioni dovute ai vasi sanguigni.

3. **Algoritmo di soglia basato su MCMC (Markov Chain Monte Carlo)**

Per effettuare un altro confronto, si è deciso di adottare anche un approccio basato sul Markov Chain Monte Carlo (MCMC) per distinguere le componenti del tessuto epatico da quelle dei vasi sanguigni. Il processo inizia sempre con il caricamento delle mappe generate dal modello bi-esponenziale, che contengono informazioni voxel per voxel sulle caratteristiche del segnale epatico e vascolare.

Il metodo MCMC è stato utilizzato per stimare i parametri delle distribuzioni gaussiane che rappresentano rispettivamente il fegato e i vasi sanguigni. A differenza dei metodi deterministici, l'MCMC effettua una stima iterativa dei parametri campionando da distribuzioni di probabilità condizionate, sfruttando un processo iterativo che converge verso una soluzione ottimale. I prior iniziali utilizzati per il campionamento derivano dall'analisi preliminare condotta con il Gaussian Mixture Model (GMM) sul modello mono-esponenziale. Questo step preliminare fornisce

valori di partenza per le medie e le varianze delle gaussiane, fondamentali per guidare il processo di campionamento.

Durante l'esecuzione dell'MCMC, le catene di Markov esplorano lo spazio delle possibili combinazioni di parametri, generando una distribuzione a posteriori che riflette in modo accurato la separazione tra le componenti epatiche e vascolari. Il risultato finale è l'identificazione di due gaussiane ottimizzate: una rappresentativa del tessuto epatico e l'altra dei vasi sanguigni. Questo permette una caratterizzazione più precisa delle due componenti rispetto ai metodi basati esclusivamente su approcci deterministici o statici.

Successivamente, si procede alla fase di sogliatura (thresholding). La media della seconda gaussiana, associata ai vasi sanguigni, viene utilizzata come valore soglia: tutti i voxel con valori superiori a questa soglia vengono classificati come appartenenti alla componente vascolare e vengono sostituiti con 0.

In questo modo, analogamente al metodo MAP, si ottiene una mappa segmentata del fegato in cui i voxel corrispondenti ai vasi sanguigni sono rappresentati come "buchi" (valori nulli), eliminando il contributo dei vasi e lasciando solo il tessuto epatico puro.

4. Clusterizzazione mediante k-means

Questo metodo di segmentazione inizia, come i precedenti, con il caricamento delle mappe generate dal modello bi-esponenziale. Queste mappe contengono le informazioni voxel per voxel relative alle componenti epatiche e vascolari. Per garantire che l'analisi sia circoscritta al fegato, si utilizza una maschera anatomica che permette di isolare esclusivamente i valori del T2* all'interno del tessuto epatico, escludendo regioni esterne.

I valori del T2* così estratti vengono organizzati in una lista, che rappresenta l'insieme dei dati da sottoporre a un algoritmo di clusterizzazione. Prima di eseguire il clustering, viene calcolato il numero ottimale di cluster in cui suddividere i dati utilizzando il metodo della silhouette. Questo indice fornisce una misura di coerenza interna dei cluster, consentendo di determinare il numero di gruppi che meglio rappresentano la distribuzione dei valori del tempo di rilassamento trasversale.

Una volta stabilito il numero di cluster, l'algoritmo procede a suddividere i valori del T2* in due gruppi distinti. Il primo cluster è associato ai valori più bassi di T2*, corrispondenti al tessuto epatico vero e proprio, mentre il secondo cluster raccoglie i valori più alti di T2*, attribuibili ai vasi sanguigni.

Successivamente, tutti i voxel appartenenti al secondo cluster (quelli con valori di T2* maggiori) vengono eliminati dalla mappa, impostando il loro valore a zero.

Il risultato finale di questo processo è una mappa segmentata che rappresenta esclusivamente il tessuto epatico, in cui i vasi sanguigni sono sostituiti da "buchi" di valore nullo.

DATABASE DEI PAZIENTI

Le segmentazioni sono state applicate anche al database dei pazienti, mantenendo un approccio analogo a quello utilizzato per il database dei soggetti sani. Tuttavia, prima di procedere con l'esecuzione delle segmentazioni è stato osservato che, nei pazienti, il comportamento del segnale magnetico presentava peculiarità non evidenti nei soggetti sani, come un decadimento molto rapido seguito da un plateau costante. Questa caratteristica del segnale, se non trattata, potrebbe introdurre distorsioni nelle mappe T2* finali e compromettere l'efficacia delle tecniche di segmentazione.

Per migliorare l'accuratezza dell'analisi e garantire mappe T2* più descrittive e affidabili, è stata introdotta una fase di pre-processing specifica: il troncamento delle immagini di risonanza magnetica. Questo processo consiste nella rimozione dei punti temporali in cui il segnale raggiunge un plateau costante, al fine di ridurre il contributo del rumore di fondo e ottenere dati più rappresentativi del reale comportamento del tessuto epatico. Tale correzione ha consentito di ottenere risultati più affidabili, migliorando la qualità delle mappe T2* e rendendo il confronto tra i pazienti più uniforme, riducendo le discrepanze derivanti da segnali anomali o da variazioni introdotte dal rumore costante.

L'approccio si è basato sull'identificazione dei tempi di eco validi attraverso il calcolo del coefficiente di variazione (CV) per ogni voxel e per ciascun tempo di eco acquisito. Il coefficiente di variazione, espresso come:

$$CV = 100 \times \frac{\sigma}{\mu}$$

con σ deviazione standard del segnale e μ media del segnale, è stato utilizzato per quantificare la stabilità del segnale. Una soglia di riferimento, fissata al 100%, è stata definita per distinguere i segnali affidabili da quelli caratterizzati da variazioni eccessive, spesso associate a rumore o a componenti non rappresentative del tessuto epatico.

Per ciascun paziente, è stato identificato il primo valore di CV che superava la soglia prefissata, e il corrispondente tempo di eco è stato considerato come indicativo del punto in cui il segnale inizia a stabilizzarsi, segnando l'inizio del plateau. Sono state quindi create nuove mappe di T2* utilizzando esclusivamente i tempi di eco validi, garantendo una rappresentazione più accurata delle proprietà epatiche.

4.4 Calcolo del T2* Globale e Confronto con HIPPO

Dopo aver ottenuto le mappe relative ai diversi modelli matematici e aver completato le segmentazioni con le metodologie descritte, è stato eseguito un confronto con i risultati generati da HIPPO, un software clinico ampiamente utilizzato presso l'Ospedale di Padova per l'analisi di immagini di risonanza magnetica.

HIPPO consente di effettuare la segmentazione del fegato attraverso un approccio manuale. In particolare, i medici identificano una ROI (Region of Interest) selezionando manualmente le aree del fegato che ritengono rappresentative. Una volta disegnata la ROI, il software elimina automaticamente i voxel corrispondenti ai vasi sanguigni presenti nella regione selezionata, utilizzando un algoritmo interno progettato per questa finalità.

Il confronto è stato condotto per valutare le differenze tra le mappe T2* ottenute con i modelli matematici sviluppati in questo studio e quelle generate da HIPPO.

In particolare, sono stati analizzati i seguenti aspetti:

1. **Accuratezza della segmentazione:** Si è verificato se le tecniche automatiche applicate in questo studio fossero in grado di eliminare i vasi sanguigni in modo comparabile a quanto effettuato dal software HIPPO.
2. **Consistenza dei valori di T2*:** Sono stati calcolati e confrontati i valori globali di T2* nelle mappe segmentate per valutare eventuali differenze significative tra le due metodologie.
3. **Robustezza delle tecniche:** Si è analizzata la ripetibilità e l'affidabilità delle tecniche proposte rispetto alla segmentazione manuale, la quale, per sua natura, può essere soggetta a variabilità intra- e inter-operatore.

Per questa analisi comparativa sono stati utilizzati due approcci statistici: il test di correlazione tramite retta di regressione, per valutare la relazione lineare tra i due set di dati, e l'analisi di Bland-Altman, per verificare l'accordo tra i valori calcolati, identificando eventuali bias sistematici o discrepanze significative. Questi metodi hanno permesso di validare l'affidabilità dei risultati ottenuti e di evidenziare eventuali differenze tra le due tecniche di segmentazione.

Capitolo 5: Risultati ottenuti

5.1 Risultati implementazione modelli scelti

Le mappe mostrate di seguito illustrano i risultati dell'analisi dei dati di risonanza magnetica, rappresentando diverse informazioni chiave relative al $T2^*$ e all'intensità del segnale. Queste rappresentazioni sono state ottenute applicando tutti i modelli matematici analizzati.

Per il modello mono-esponenziale con costante è stata inserita anche la mappa che raffigura la distribuzione della costante C .

Le mappe relative al modello bi-esponenziale sono state generate utilizzando come base i parametri iniziali individuati tramite il metodo GMM (Gaussian Mixture Model). Questo approccio ha permesso di ottenere una stima preliminare dei cluster che riflettono le componenti principali del segnale, fornendo un punto di partenza per l'ottimizzazione successiva.

Per garantire un'analisi completa e affidabile, sono stati considerati tre diversi database:

1. **Database dei soggetti sani:** Include esclusivamente i valori di $T2^*$ calcolati dal modello mono-esponenziale per i soggetti sani, senza evidenza di patologie epatiche.
2. **Database dei pazienti malati:** Contiene i valori di $T2^*$ derivati dal modello mono-esponenziale per i pazienti affetti da emocromatosi e talassemia major.
3. **Database unificato:** Questo database è stato creato unendo i valori di $T2^*$ dei soggetti sani e dei pazienti malati, per fornire una base dati più generale e versatile. L'obiettivo di questa opzione era quello di considerare un'analisi che potesse essere applicabile in situazioni cliniche reali, in cui non è noto a priori se il fegato analizzato appartenga a un soggetto sano o malato.

Le mappe finali ottenute attraverso l'utilizzo di ciascun database sono state sottoposte a un'analisi comparativa per valutarne l'accuratezza e la precisione. I risultati hanno mostrato che le mappe generate utilizzando il database unificato non erano significativamente diverse da quelle prodotte dai database separati.

Tuttavia, si è scelto di mantenere l'utilizzo di due database distinti (soggetti sani e pazienti), per garantire una maggiore accuratezza e precisione nei risultati finali.

Questa scelta è stata presa a seguito di tre diverse motivazioni.

1. Separare i dati ha consentito di ottimizzare il modello per i due gruppi specifici, migliorando la rappresentazione delle caratteristiche fisiologiche e patologiche rispettive.

2. Si è notato che l'unione dei dati di soggetti sani e malati aumentava di poco la variabilità complessiva, rendendo più difficile distinguere le peculiarità delle due popolazioni.
3. Sebbene il database unificato sia più rappresentativo di una situazione clinica in cui non è noto a priori lo stato di salute del paziente, l'analisi separata offre una maggiore affidabilità per studi mirati su specifici gruppi di pazienti.

Le tabelle sottostanti riportano i parametri iniziali individuati tramite GMM per ciascun database, a conferma della coerenza dei dati utilizzati come punto di partenza per la costruzione delle mappe.

DATABASE SANI	Valore T2* iniziale	Standard Deviation di T2*	Valore ampiezza iniziale
Prima componente (fegato)	0.02694 s	0.00684	S0 * 0.5
Seconda componente (vasi sanguigni)	0.05950 s	0.02947	S0 * 0.5

DATABASE PAZIENTI	Valore T2* iniziale	Standard Deviation di T2*	Valore ampiezza iniziale
Prima componente (fegato)	0.01284 s	0.00646	S0 * 0.5
Seconda componente (vasi sanguigni)	0.04261 s	0.03061	S0 * 0.5

DATABASE SANI + PAZIENTI	Valore T2* iniziale	Standard Deviation di T2*	Valore ampiezza iniziale
Prima componente (fegato)	0.02474 s	0.00896	S0 * 0.5
Seconda componente (vasi sanguigni)	0.06254 s	0.03302	S0 * 0.5

Le mappe generate da ciascun modello consentono un confronto diretto delle loro prestazioni. Analizzando i risultati, è possibile identificare il modello che descrive meglio il comportamento del segnale, fornendo mappe T2* e di intensità più coerenti con le caratteristiche attese del tessuto epatico.

Le mappe finali rappresentano uno strumento visivo potente per interpretare i risultati e confrontare le differenze tra soggetti sani e pazienti, facilitando l'analisi diagnostica e l'individuazione di anomalie patologiche.

SOGGETTI

Le mappe sottostanti illustrano la distribuzione dei valori di T2* in due soggetti distinti, con due configurazioni di analisi: a sinistra sono rappresentati i risultati ottenuti senza smoothing, mentre a destra quelli elaborati con smoothing.

Le mappe senza smoothing mostrano una maggiore granularità e una distribuzione più dettagliata dei valori di T2*. Questa configurazione consente di preservare le variazioni locali del segnale, mettendo in evidenza anche le piccole differenze tra voxel adiacenti.

Tuttavia, l'assenza di smoothing può enfatizzare il rumore presente nei dati, rendendo l'immagine meno uniforme e più suscettibile alle fluttuazioni casuali o al rumore di acquisizione.

Le mappe risultanti dal modello con smoothing appaiono visibilmente più uniformi e meno affette dal rumore. Questo risultato è dovuto all'applicazione della maschera 3x3, che attenua le variazioni locali tra voxel, "sfumando" le differenze. Sebbene l'immagine risulti meno dettagliata e più sfocata, questa configurazione offre il vantaggio di migliorare la coerenza visiva e ridurre l'impatto del rumore, facilitando l'interpretazione complessiva della mappa.

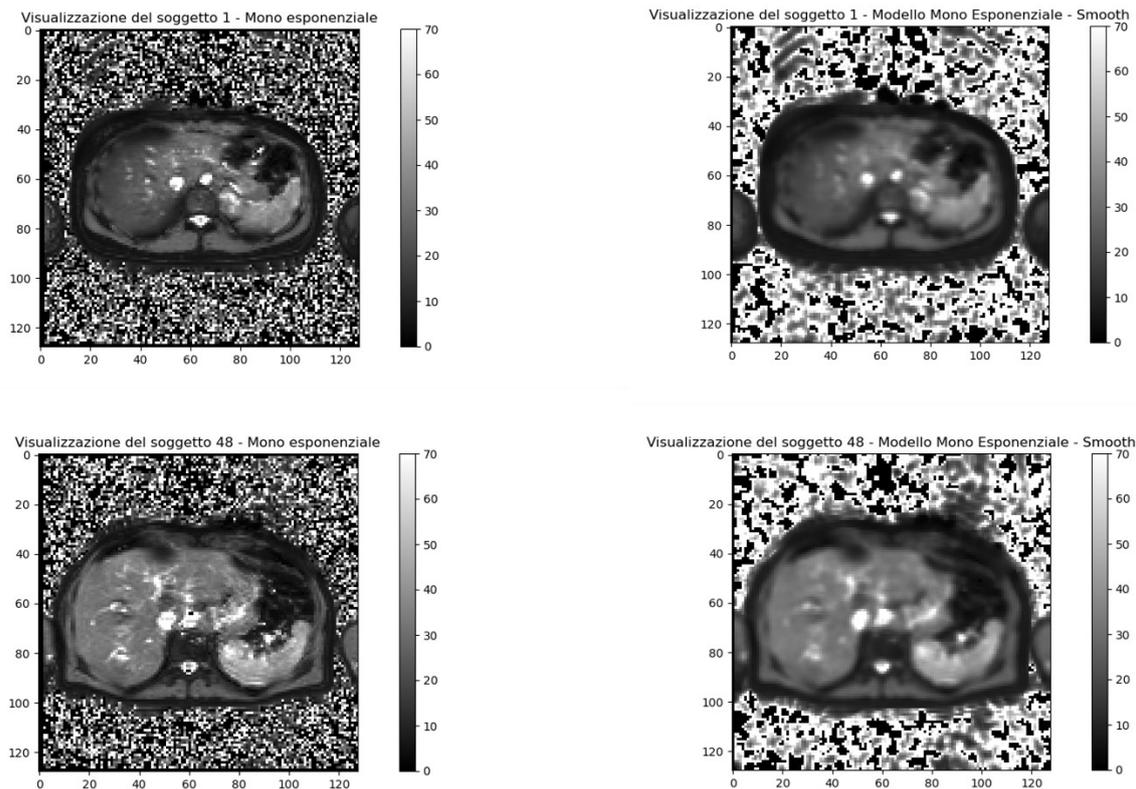


Figura 13: Visualizzazione delle mappe relative al T2*, create dall'applicazione del modello mono esponenziale, del soggetto 1 e del soggetto 48 in versione non smooth e smooth

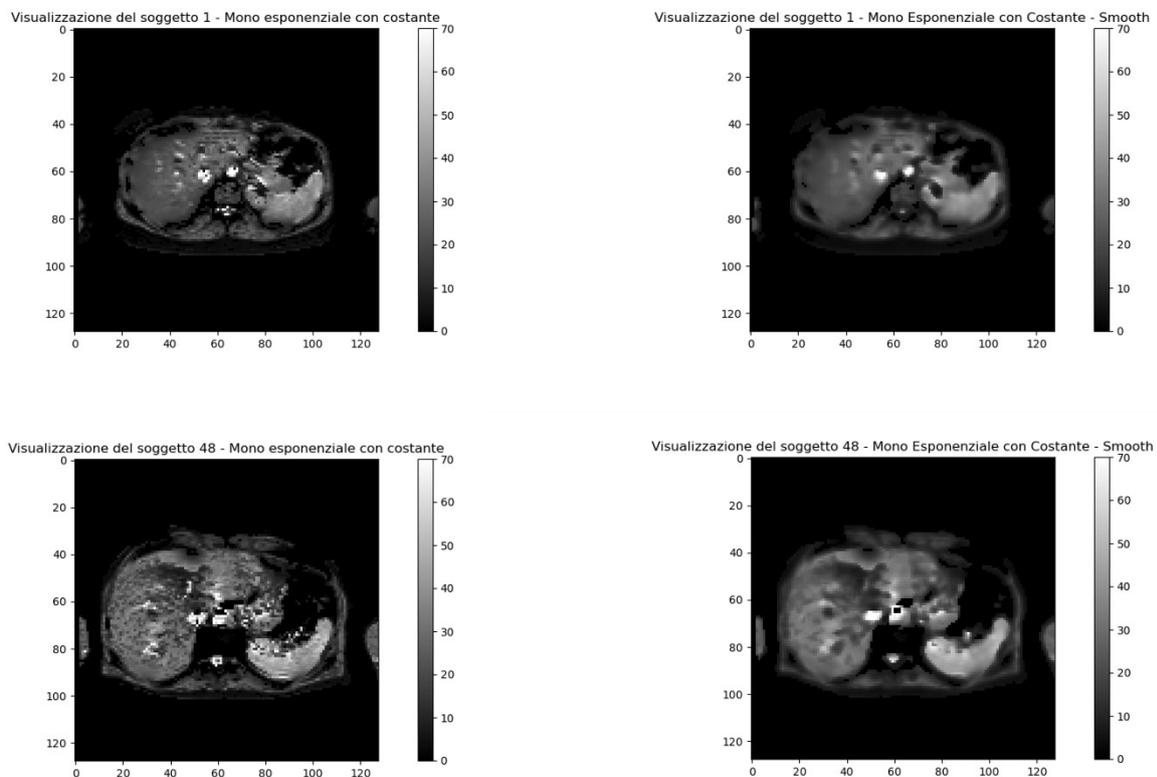


Figura 14: Visualizzazione delle mappe relative al T2*, create dall'applicazione del modello mono esponenziale con costante, del soggetto 1 e del soggetto 48 in versione non smooth e smooth

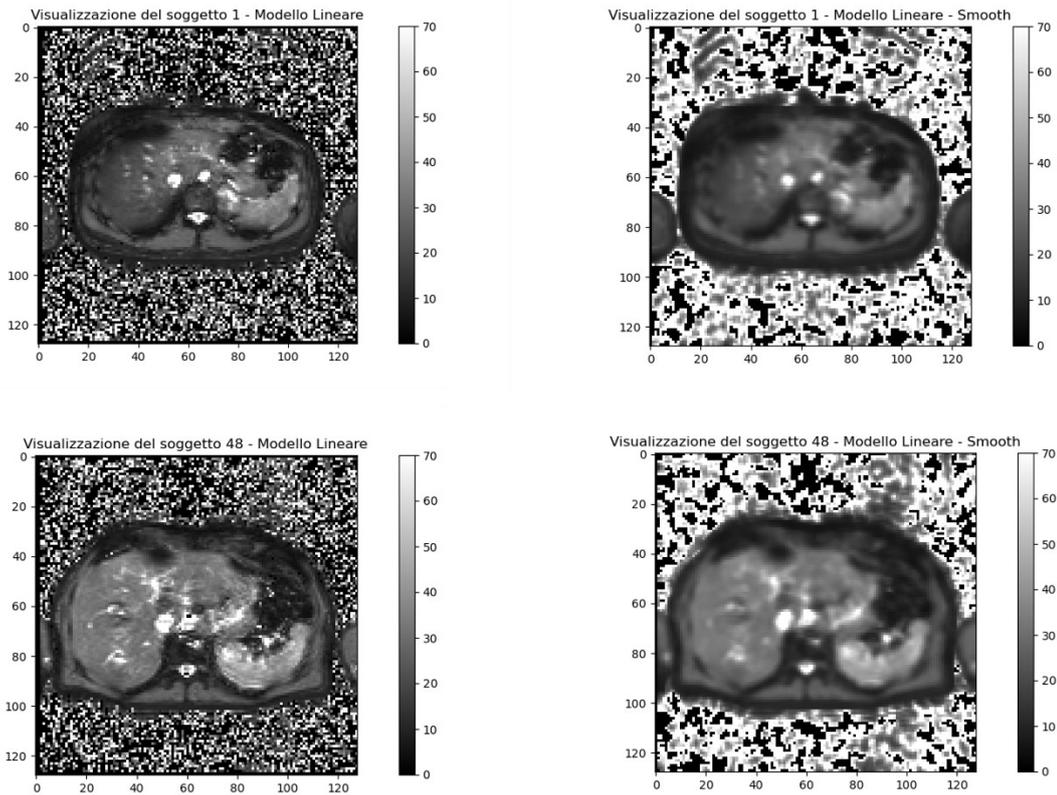


Figura 15: Visualizzazione delle mappe relative al T2*, create dall'applicazione del modello lineare, del soggetto 1 e del soggetto 48 in versione non smooth e smooth

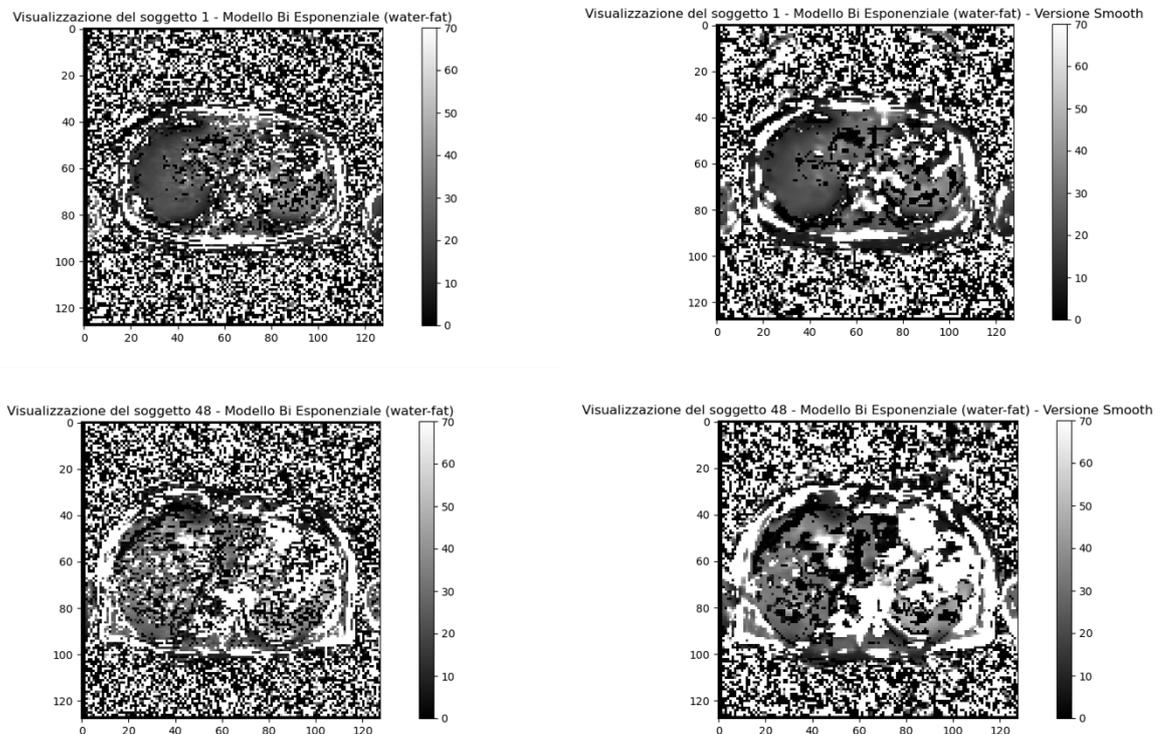


Figura 16: Visualizzazione delle mappe relative al T2*, create dall'applicazione del modello bi-esponenziale (componenti acqua e grasso epatico) del soggetto 1 e del soggetto 48 in versione non smooth e smooth

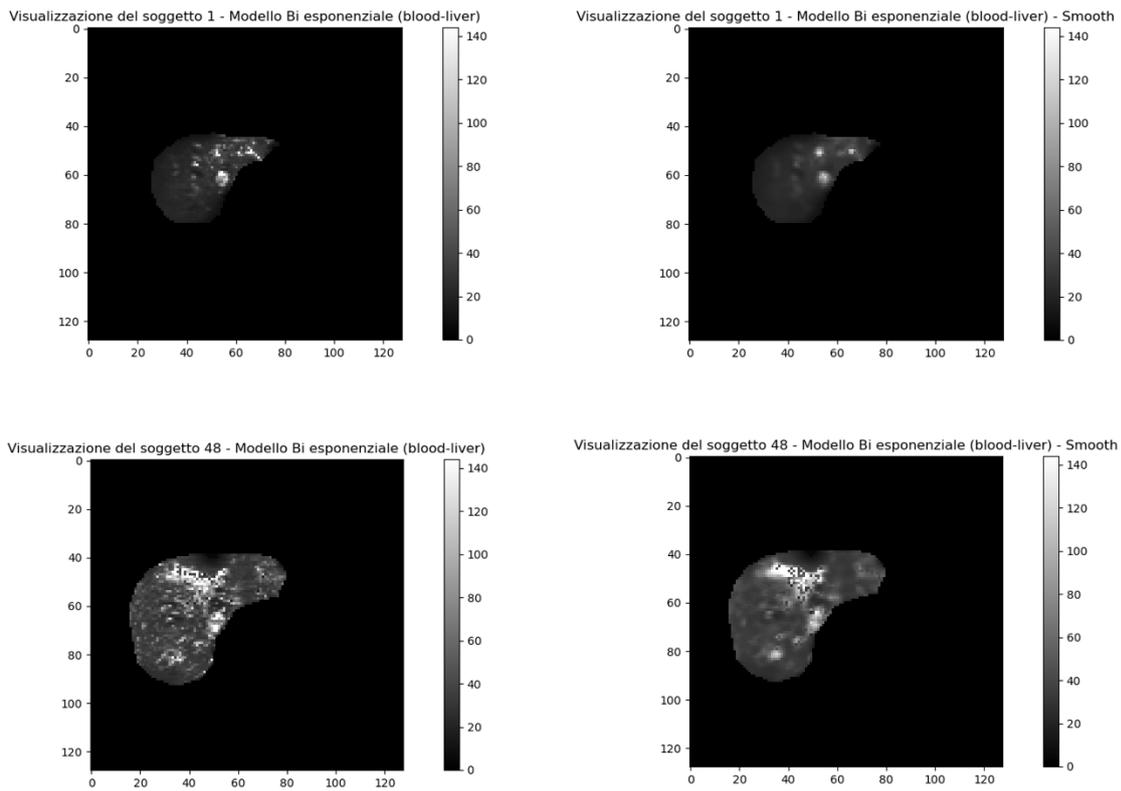


Figura 17: Visualizzazione delle mappe relative al T2*, create dall'applicazione del modello bi-esponenziale (componenti tessuto epatico e vasi sanguigni) del soggetto 1 e del soggetto 48 in versione non smooth e smooth

PAZIENTI

Le mappe costruite per i pazienti sono state ottenute seguendo lo stesso procedimento utilizzato per i soggetti sani. Questo approccio garantisce una coerenza metodologica tra i due gruppi, permettendo un confronto diretto tra i risultati e assicurando la comparabilità delle analisi.

Si osserva una differenza significativa nei valori riportati nelle mappe dei pazienti rispetto a quelle dei soggetti. In particolare, i valori nelle mappe dei pazienti risultano sensibilmente più bassi, differenza che è attribuibile alla maggiore concentrazione di ferro nel fegato dei pazienti, una condizione frequentemente associata alla presenza di patologie epatiche.

Questa differenza sottolinea l'importanza dell'analisi quantitativa delle mappe, che non solo permette di distinguere tra soggetti sani e pazienti patologici, ma può anche contribuire alla caratterizzazione della gravità e dell'estensione della patologia.

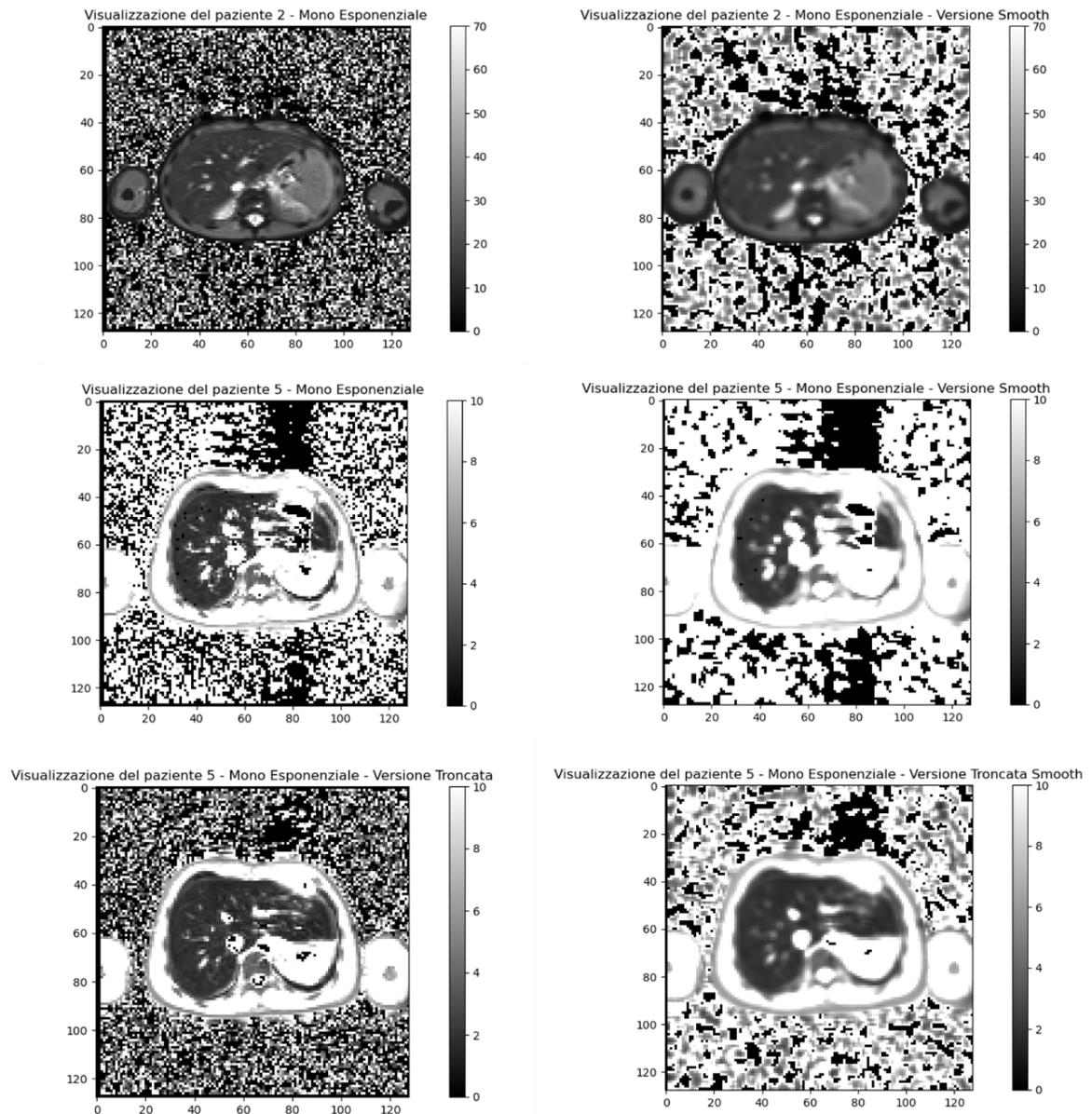


Figura 18: Visualizzazione delle mappe relative al T2*, create dall'applicazione del modello mono esponenziale, del paziente 2 e del paziente 5, in versione smooth e non smooth. La terza immagine rappresenta la mappa del T2* del paziente 5, realizzata dopo il troncamento.

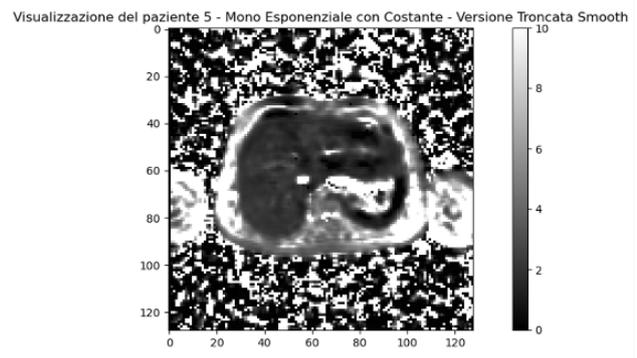
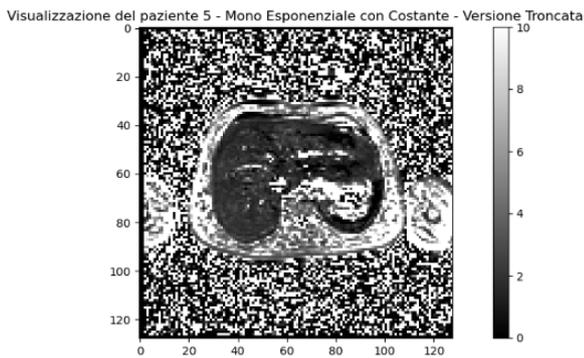
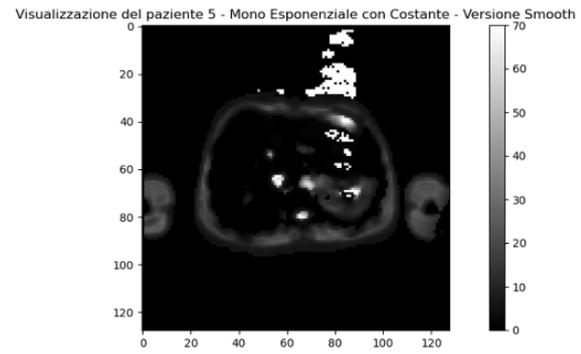
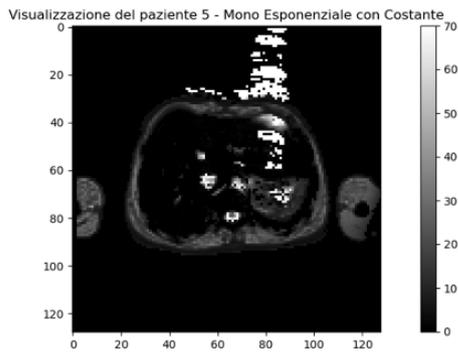
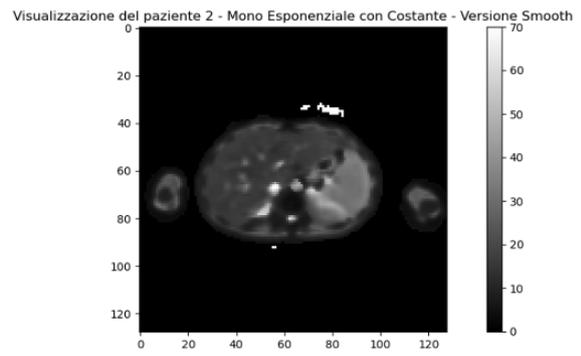
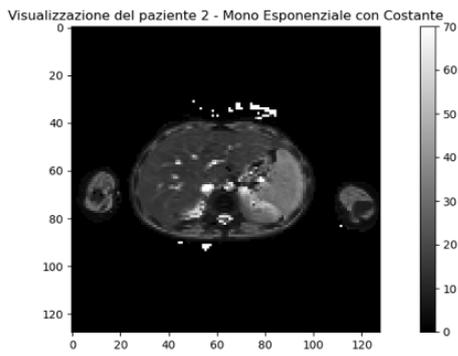


Figura 19: Visualizzazione delle mappe relative al $T2^*$, create dall'applicazione del modello mono esponenziale con costante, del paziente 2 e del paziente 5, in versione smooth e non smooth. La terza immagine rappresenta la mappa del $T2^*$ del paziente 5, realizzata dopo il troncamento.

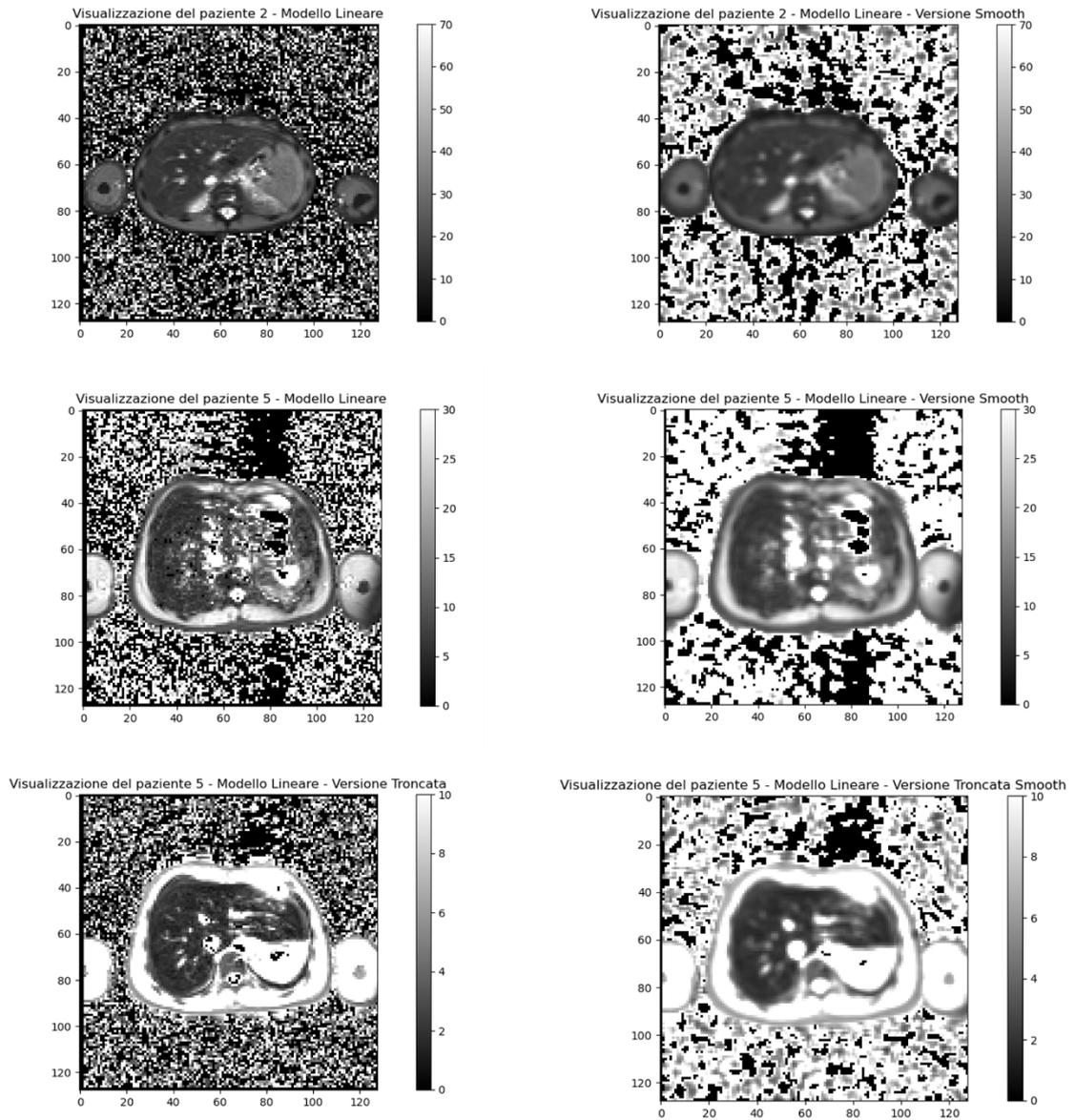


Figura 20: Visualizzazione delle mappe relative al T2*, create dall'applicazione del modello lineare, del paziente 2 e del paziente 5, in versione smooth e non smooth. La terza immagine rappresenta la mappa del T2* del paziente 5, realizzata dopo il troncamento.

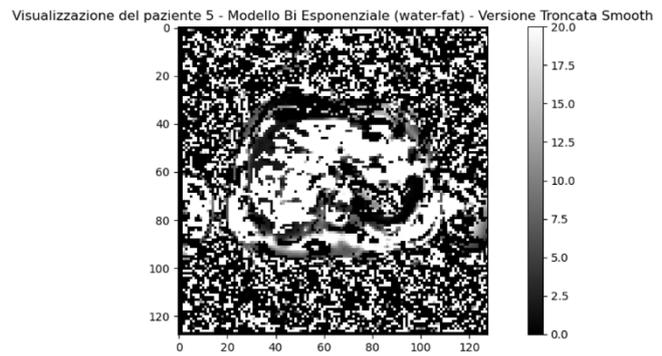
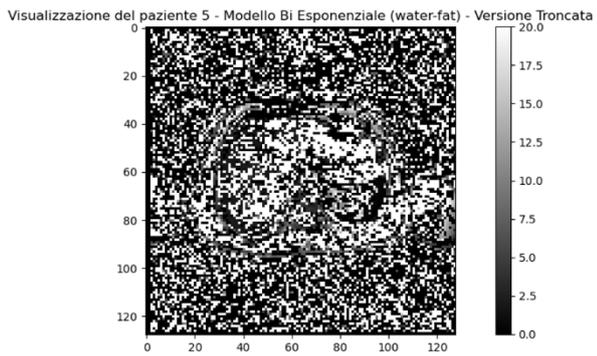
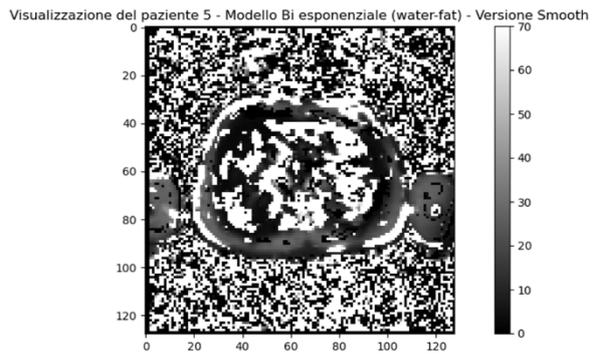
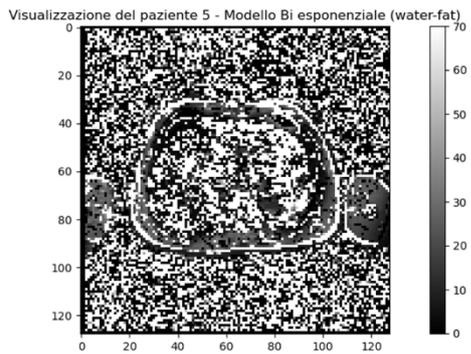
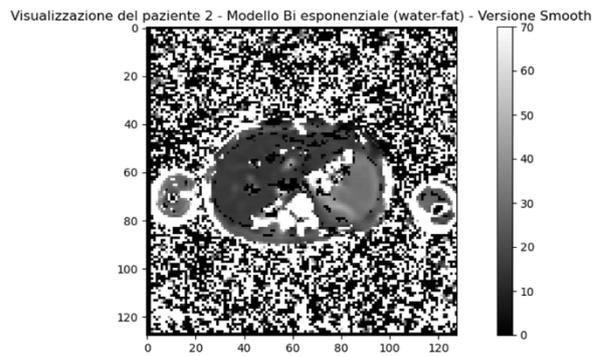
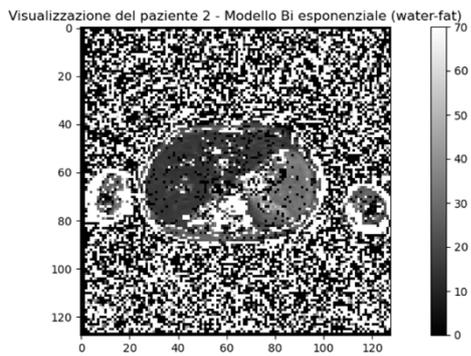


Figura 21: Visualizzazione delle mappe relative al T2*, create dall'applicazione del modello bi-esponenziale (componenti acqua e grasso epatico), del paziente 2 e del paziente 5, in versione smooth e non smooth. La terza immagine rappresenta la mappa del T2* del paziente 5, realizzata dopo il troncamento.

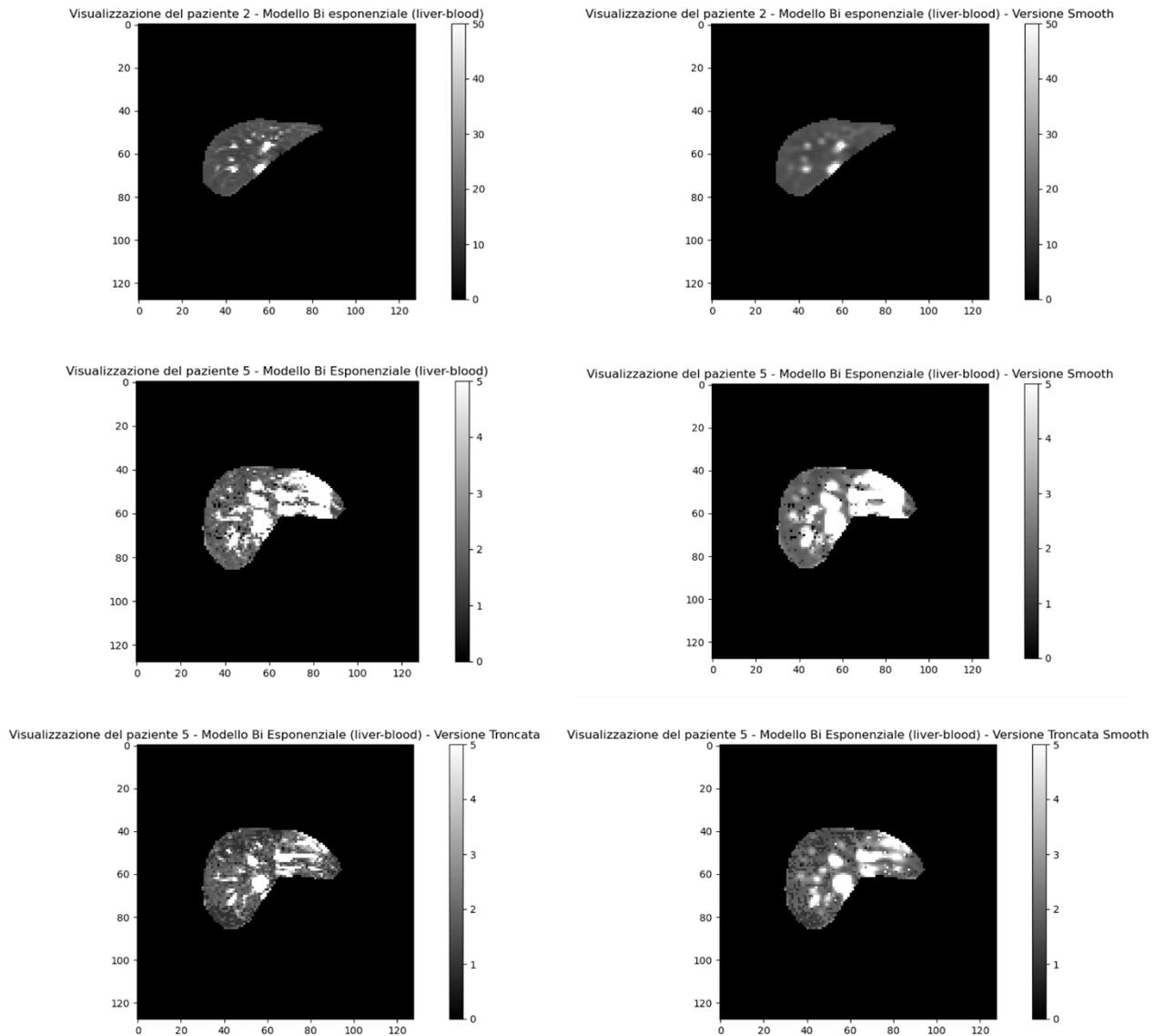


Figura 22: Visualizzazione delle mappe relative al T2*, create dall'applicazione del modello bi-esponenziale (componenti tessuto epatico e vasi sanguigni), del paziente 2 e del paziente 5, in versione smooth e non smooth. La terza immagine rappresenta la mappa del T2* del paziente 5, realizzata dopo il troncamento.

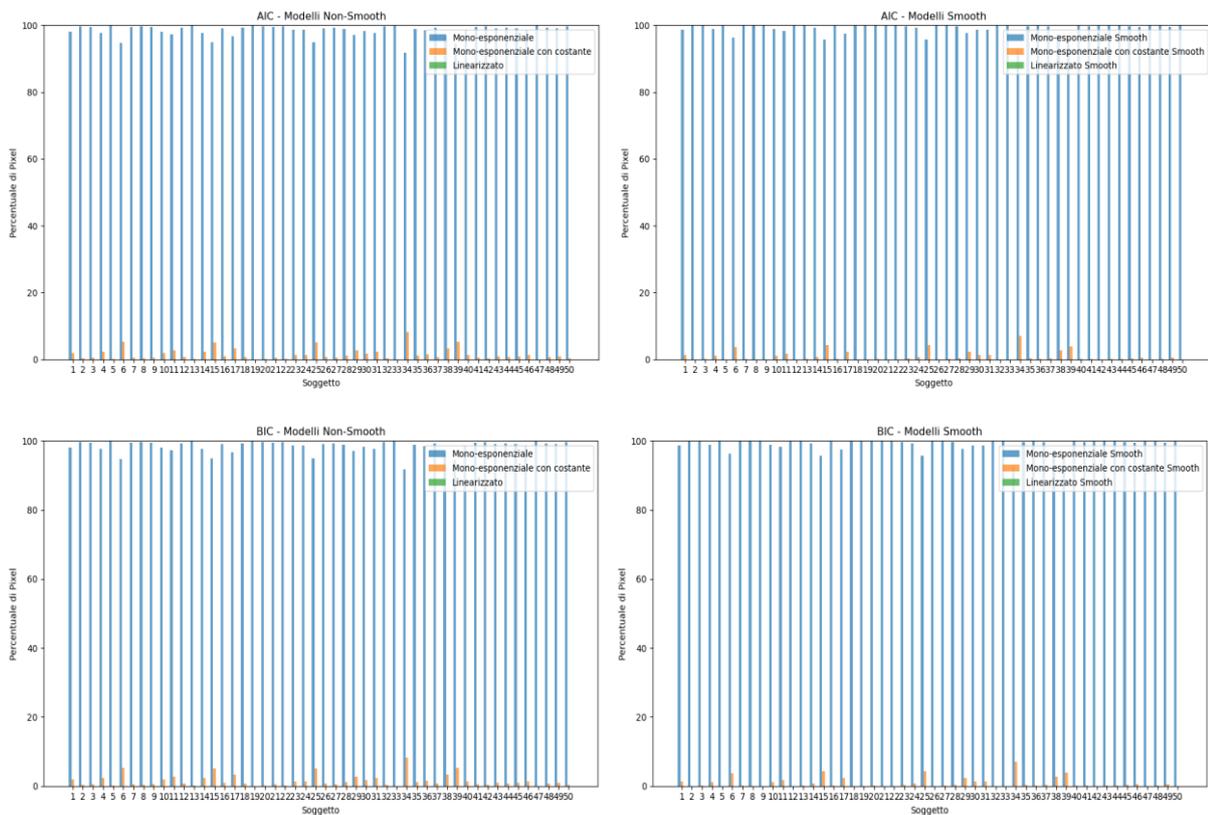
5.2 Risultati confronto modelli tramite criteri AIC, BIC, R2 Adjusted e RMSE

Negli istogrammi presentati nelle figure sottostanti, viene illustrato il confronto tra i tre modelli analitici più semplici utilizzati nell'elaborazione dei dati: il modello mono-esponenziale, il modello mono-esponenziale con aggiunta di una costante e il modello linearizzato. L'analisi è stata condotta considerando l'intero campione di soggetti, sia nelle versioni di dati grezzi (non smooth) sia nelle versioni sottoposte a un processo di smoothing.

L'obiettivo di questa analisi comparativa è valutare l'efficacia e la precisione di ciascun modello nell'adattarsi ai dati sperimentali e nel rappresentare i fenomeni biologici studiati. In particolare, si è indagato se il processo di smoothing influenzi significativamente i risultati e, di conseguenza, la capacità di ciascun modello di descrivere adeguatamente i dati.

Gli istogrammi permettono di visualizzare in modo immediato e quantitativo eventuali differenze tra i modelli nei vari contesti analizzati, evidenziando il comportamento di ciascun approccio in relazione alle specifiche caratteristiche dei dati. Questa valutazione è essenziale per selezionare il modello più idoneo a rispondere agli obiettivi dell'analisi.

SOGGETTI



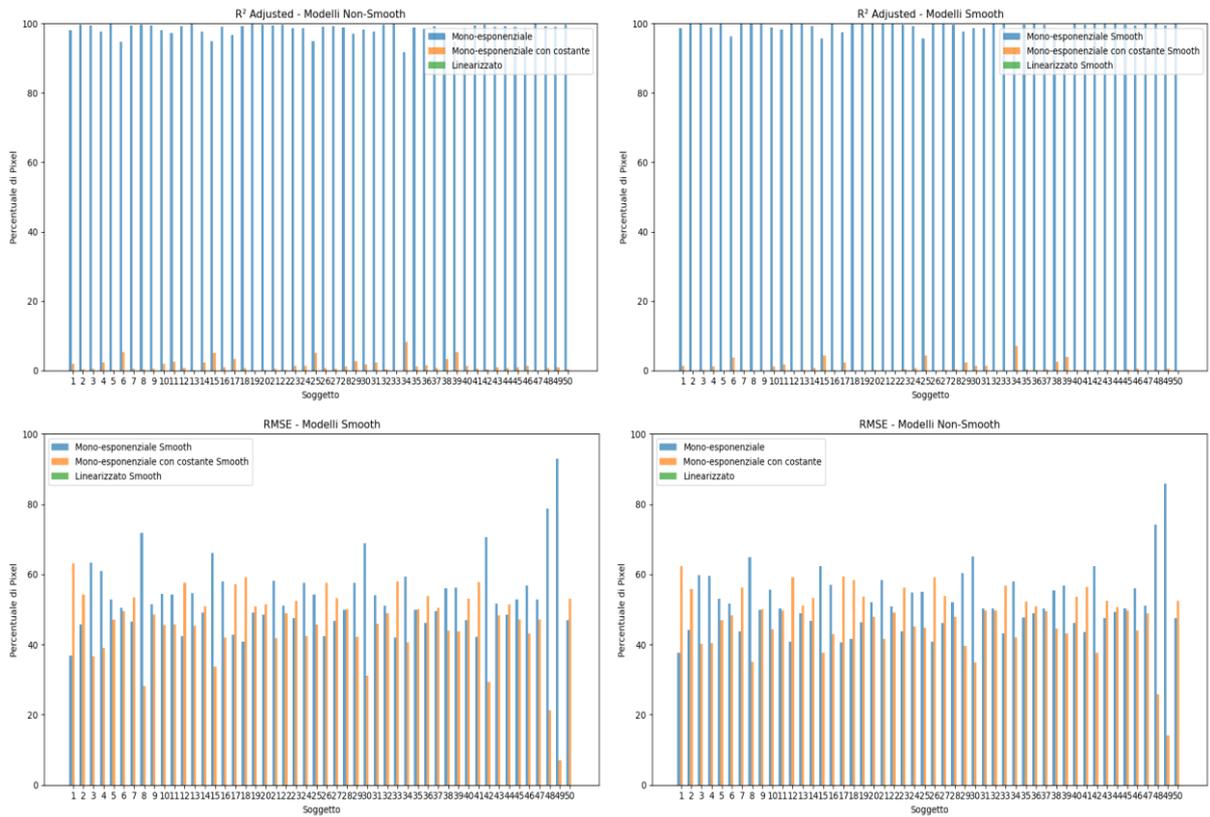
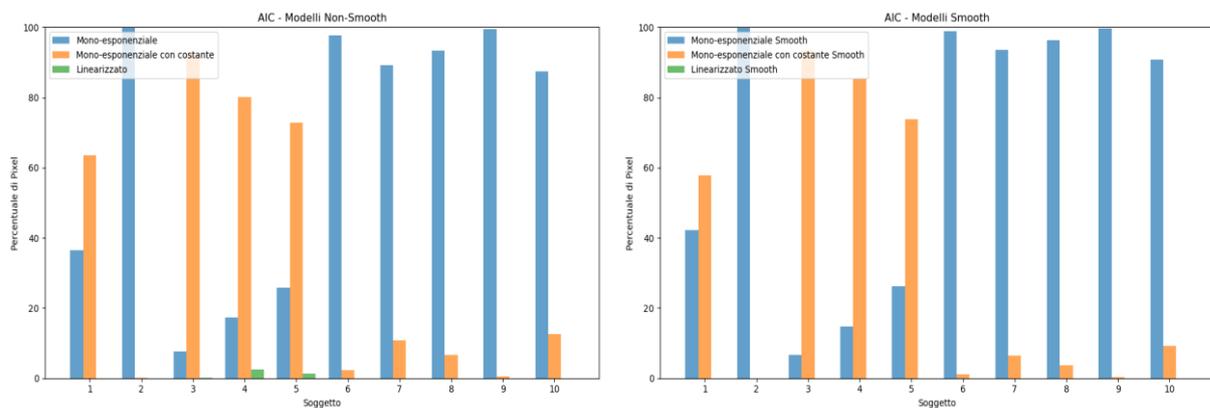


Figura 23: Istogrammi rappresentanti il confronto dei modelli all'interno del database dei soggetti secondo i 4 criteri

Dall'analisi delle immagini ottenute si può osservare che, in base a tre dei quattro criteri di valutazione considerati, il modello mono-esponenziale risulta essere il più accurato nel descrivere il comportamento del tempo di rilassamento trasversale $T2^*$, sottolineando l'efficacia del modello mono-esponenziale nel rappresentare le caratteristiche principali del tessuto epatico nei dati analizzati.

PAZIENTI



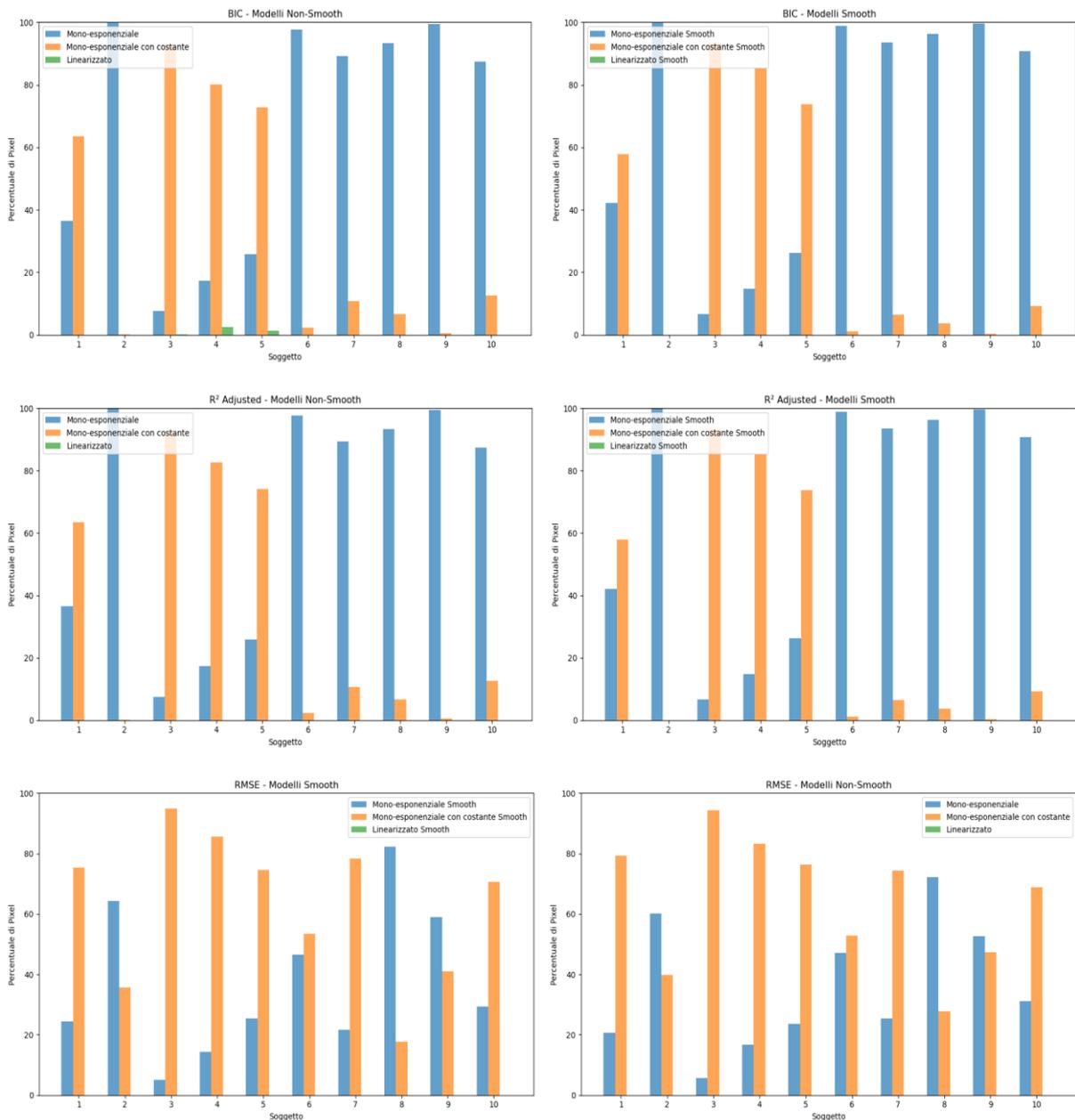


Figura 24: Istogrammi rappresentanti il confronto tra i modelli all'interno del database dei pazienti secondo i 4 criteri

Dall'analisi delle immagini si conferma che, nella maggior parte dei soggetti, il modello mono-esponenziale risulta essere il più accurato per descrivere il comportamento del tempo di rilassamento trasversale $T2^*$. Tuttavia, come verrà approfondito maggiormente nel capitolo successivo *'Discussione dei Risultati'*, in alcuni casi specifici è emerso che il modello mono-esponenziale con costante offre una descrizione migliore.

Per analizzare in dettaglio l'evoluzione del segnale, si è scelto di rappresentare graficamente i dati di ciascun paziente rispetto ai tempi di eco. Questo approccio consente di osservare

l'andamento specifico del segnale e di evidenziare eventuali variazioni o peculiarità nel comportamento individuale dei pazienti.

Nelle figure sottostanti sono riportati i grafici relativi ai pazienti 4 e 5. La scelta di analizzare questi due soggetti è motivata dall'intento di mostrare esempi rappresentativi delle dinamiche osservate, che possono includere sia variazioni regolari sia potenziali anomalie rispetto al modello teorico atteso.

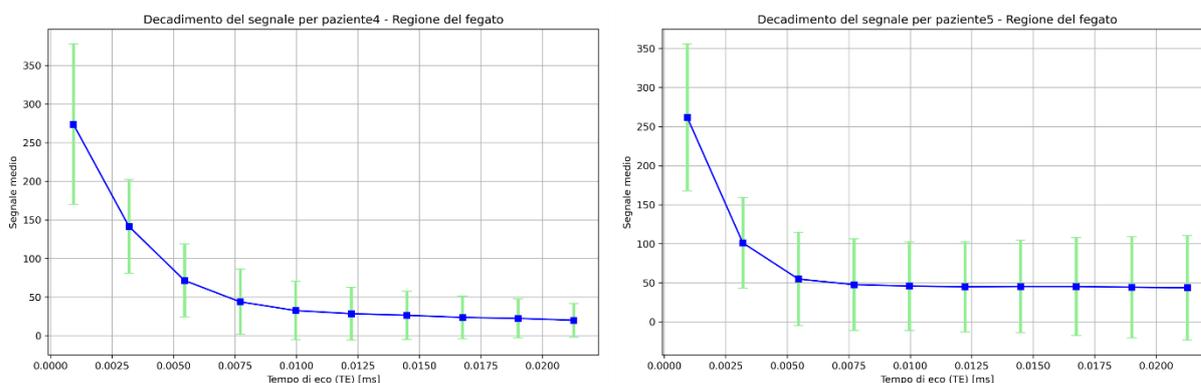


Figura 25: Rappresentazione del decadimento del segnale per due pazienti. Si può notare il plateau costante dopo un certo tempo di eco

Per approfondire questa analisi, è stato calcolato il coefficiente di variazione (CV) per ogni tempo di eco. Il coefficiente di variazione, definito come il rapporto tra la deviazione standard e il valore medio del segnale (espresso in percentuale), consente di valutare la dispersione relativa dei dati rispetto al loro valore medio.

Inoltre, è stato identificato il primo tempo di eco in cui il coefficiente di variazione supera la soglia imposta del 100%. Questo parametro è fondamentale per determinare il punto oltre il quale la variabilità del segnale diventa significativamente elevata rispetto al valore medio, indicando potenziali limitazioni nell'affidabilità dei dati raccolti.

Nella tabella riportata di seguito, sono indicati per ciascun tempo di eco i valori del coefficiente di variazione calcolati in percentuale. Questi risultati forniscono un'ulteriore evidenza quantitativa dell'andamento del segnale e contribuiscono alla comprensione delle caratteristiche specifiche dei pazienti analizzati.

	Paziente 1	Paziente 2	Paziente 3	Paziente 4	Paziente 5	Paziente 6	Paziente 7	Paziente 8	Paziente 9	Paziente 10
TE 1	30.61	28.87	35.28	37.93	35.89	38.90	28.82	21.45	25.30	36.84
TE 2	31.08	29.16	34.37	42.93	57.64	41.63	27.83	23.14	24.71	36.65
TE 3	31.62	29.04	34.93	66.11	109.00	36.58	27.96	23.24	24.42	35.07
TE 4	32.58	29.86	35.02	96.40	123.34	39.73	27.80	25.00	24.87	35.86
TE 5	35.17	30.63	39.85	116.10	123.98	36.85	28.87	26.21	24.82	35.31
TE 6	38.29	32.10	46.39	119.98	129.59	39.13	30.44	30.15	25.81	36.58
TE 7	42.69	34.01	56.09	118.04	131.44	37.91	33.33	31.71	26.82	37.17
TE 8	48.58	36.24	69.54	116.45	139.10	39.96	37.03	36.56	28.30	39.28
TE 9	55.25	39.22	80.25	111.72	146.07	39.78	41.41	37.70	30.77	42.11
TE 10	62.88	42.71	95.75	110.16	153.95	42.74	47.03	40.73	33.57	45.59

Tabella 2: La tabella rappresenta per ogni paziente, per ogni tempo di eco il valore del coefficiente di variazione in percentuale. In rosso sono evidenziati i primi tempi di eco in cui il valore del CV supera la soglia impostata

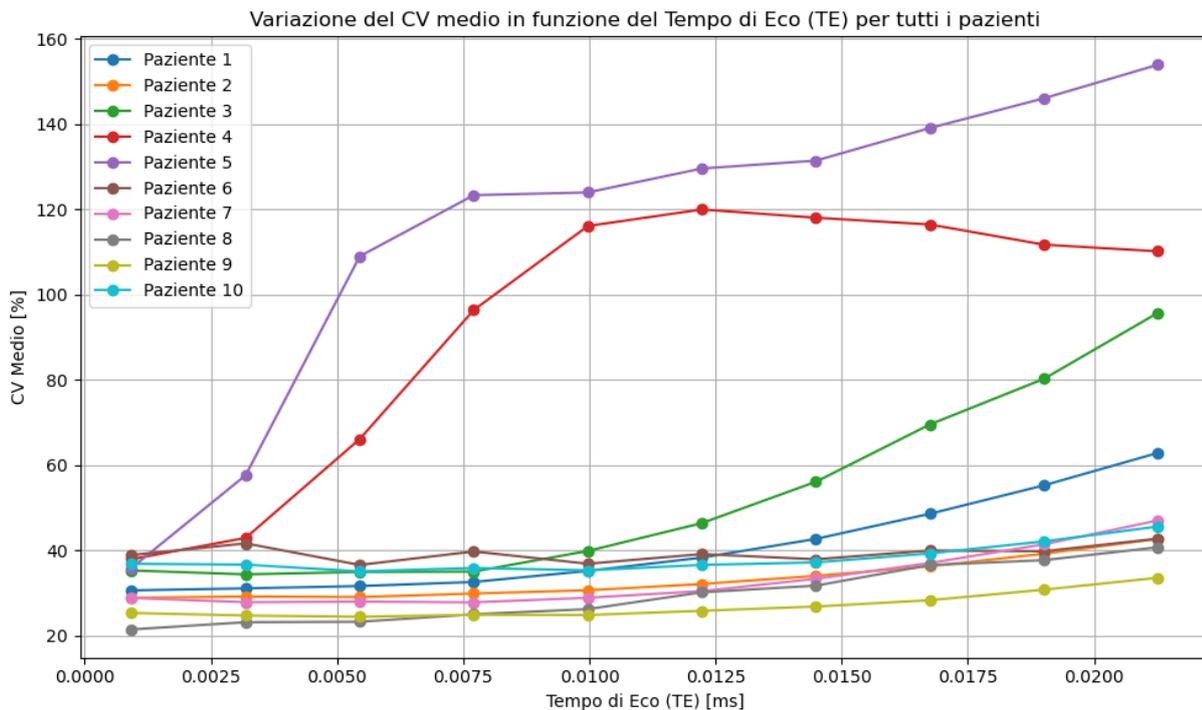


Figura 26: Visualizzazione dell'andamento del Coefficiente di Variazione per ogni tempo di eco per ogni paziente

La figura sovrastante rappresenta l'andamento del coefficiente di variazione rispetto ai dieci tempi di eco, per ogni paziente, evidenziando chiaramente due cluster principali in cui si suddividono i pazienti.

5.3 Risultati Segmentazione

Dopo aver effettuato il confronto tra i diversi modelli analitici, il modello mono-esponenziale è stato identificato come il più adatto per descrivere il comportamento dei dati. Questa scelta si è basata sui risultati delle analisi precedenti, che hanno evidenziato una maggiore accuratezza e coerenza del modello mono-esponenziale rispetto agli altri considerati.

Una volta stabilita la superiorità del modello mono-esponenziale, questo è stato impiegato per determinare i valori a priori necessari per la successiva applicazione dei metodi di stima bi-esponenziale. L'approccio seguito si è basato sull'utilizzo dei parametri stimati tramite il modello mono-esponenziale come punto di partenza per il calcolo dei parametri più complessi richiesti nel modello bi-esponenziale.

Questa strategia si è rivelata particolarmente utile nella segmentazione del fegato, poiché ha permesso di migliorare l'accuratezza della stima iniziale dei parametri bi-esponenziali, riducendo la dipendenza dalle condizioni iniziali e minimizzando il rischio di convergenza a soluzioni locali errate. L'utilizzo dei parametri derivati dal modello mono-esponenziale ha quindi facilitato una stima più robusta e coerente nei successivi processi analitici.

SOGGETTI

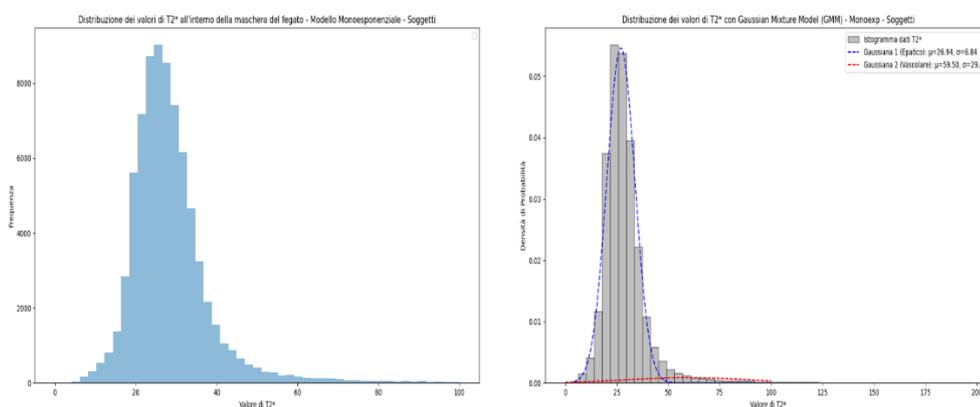


Figura 27: Individuazione tramite il GMM dei valori di T2* del fegato e dei vasi sanguigni con le rispettive deviazioni standard sui soggetti

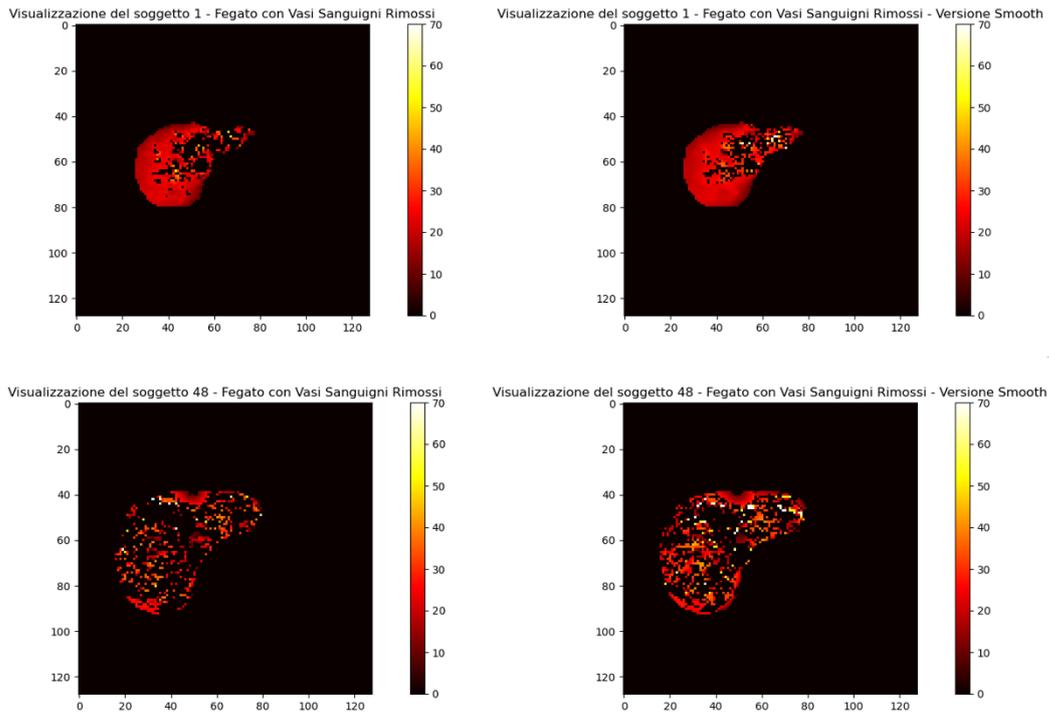


Figura 28: Visualizzazione delle mappe relative alla segmentazione creata direttamente dal modello bi-esponenziale, del soggetto 1 e del soggetto 48, in versione smooth e non smooth

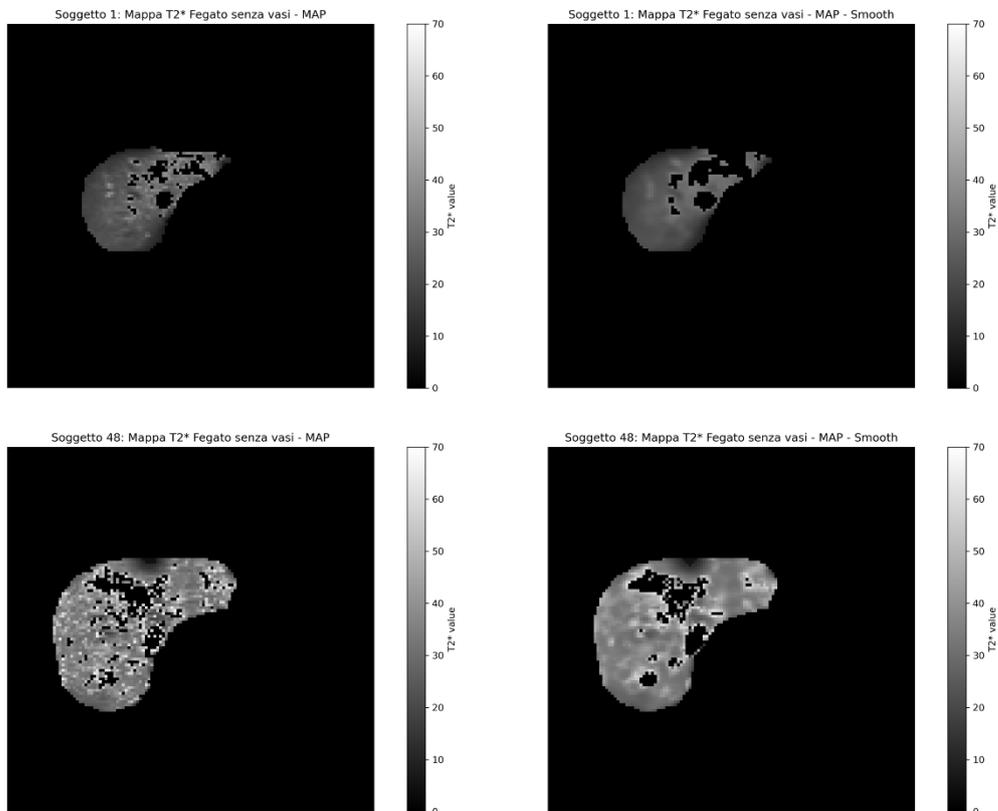


Figura 29: Visualizzazione delle mappe relative alla segmentazione creata con il metodo di stima MAP, del soggetto 1 e del soggetto 48, in versione smooth e non smooth

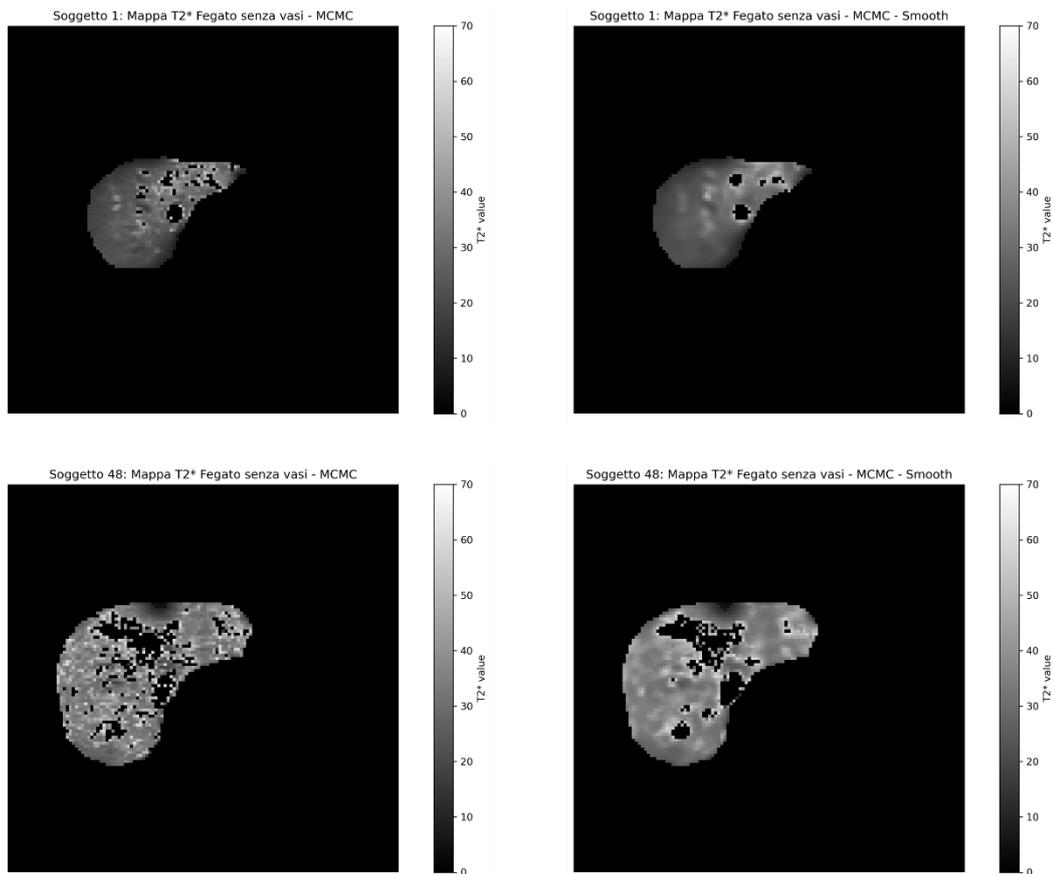


Figura 30: Visualizzazione delle mappe relative alla segmentazione creata con il metodo di stima MCMC, del soggetto 1 e del soggetto 48, in versione smooth e non smooth

Per quanto riguarda la segmentazione attraverso l'algoritmo di clusterizzazione con il k-means, è stato effettuato uno studio preliminare volto a determinare il numero ottimale di cluster per la suddivisione dei valori di T2*. Questa analisi, condotta separatamente per ogni soggetto e per ogni paziente, ha avuto l'obiettivo di identificare la struttura intrinseca dei dati e ottimizzare il processo di segmentazione.

Per il database dei soggetti, i risultati dell'analisi hanno indicato che il numero ottimale di cluster è pari a 2, valore determinato utilizzando l'indice silhouette, che consente di valutare la coerenza interna dei cluster e la separabilità tra di essi.

```
Silhouette Score per k=2: 0.8420533731322054
Silhouette Score per k=3: 0.7102703792447311
Silhouette Score per k=4: 0.6236296562669861
Silhouette Score per k=5: 0.5707773910267125
Il miglior numero di cluster è k=2 con un Silhouette Score di 0.8420533731322054
```

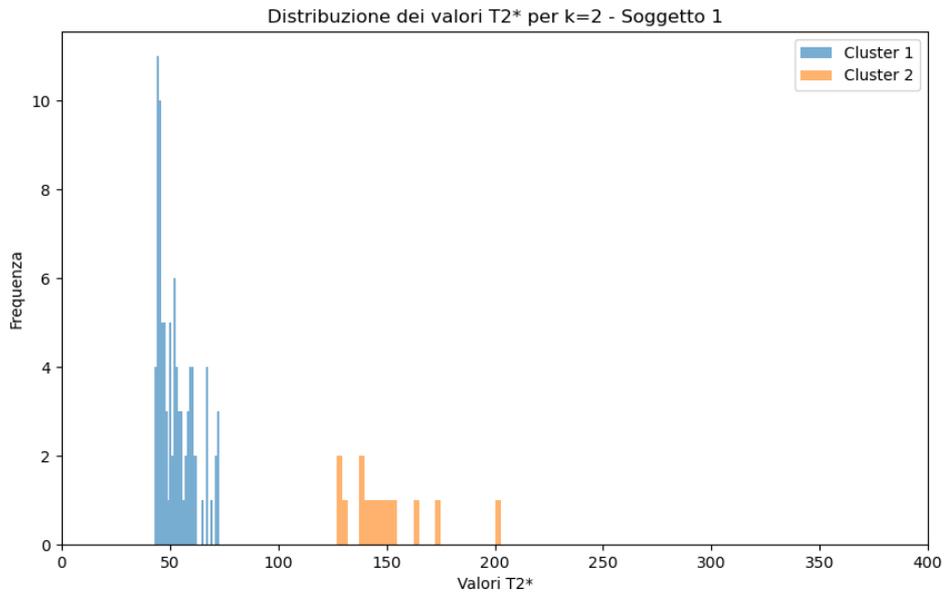


Figura 31: Rappresentazione dei valori di T2* divisi nel numero di cluster ottimale trovato con il metodo della silhouette per il soggetto 1

```

Silhouette Score per k=2: 0.7788843608251721
Silhouette Score per k=3: 0.7171473932211916
Silhouette Score per k=4: 0.6636043108303439
Silhouette Score per k=5: 0.6332826860026963
Il miglior numero di cluster è k=2 con un Silhouette Score di 0.7788843608251721
  
```

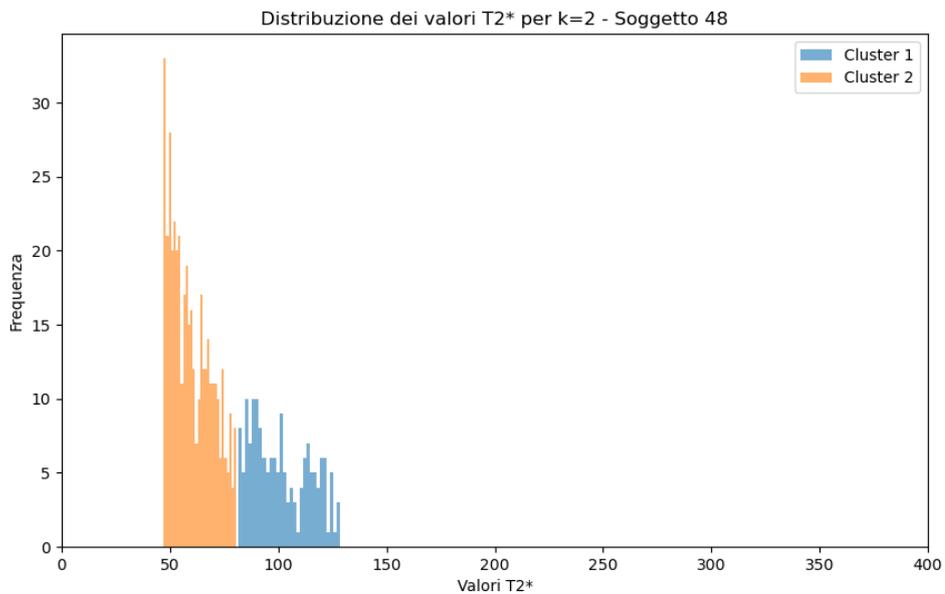
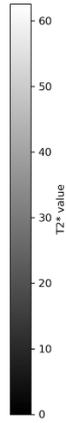
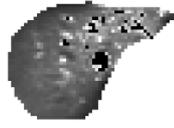


Figura 32: Rappresentazione dei valori di T2* divisi nel numero di cluster ottimale trovato con il metodo della silhouette per il soggetto 48

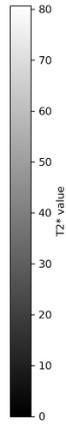
Segmentazione per il Soggetto 1: Fegato senza vasi - K-means



Segmentazione per il Soggetto 1: Fegato senza vasi - K-means - Versione Smooth



Segmentazione per il Soggetto 48: Fegato senza vasi - K-means



Segmentazione per il Soggetto 48: Fegato senza vasi - K-means - Versione Smooth

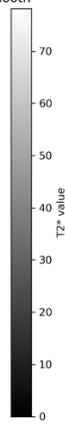


Figura 33: Visualizzazione delle mappe relative alla segmentazione creata dall'algoritmo con clusterizzazione k-means del soggetto 1 e del soggetto 48, in versione smooth e non smooth

PAZIENTI

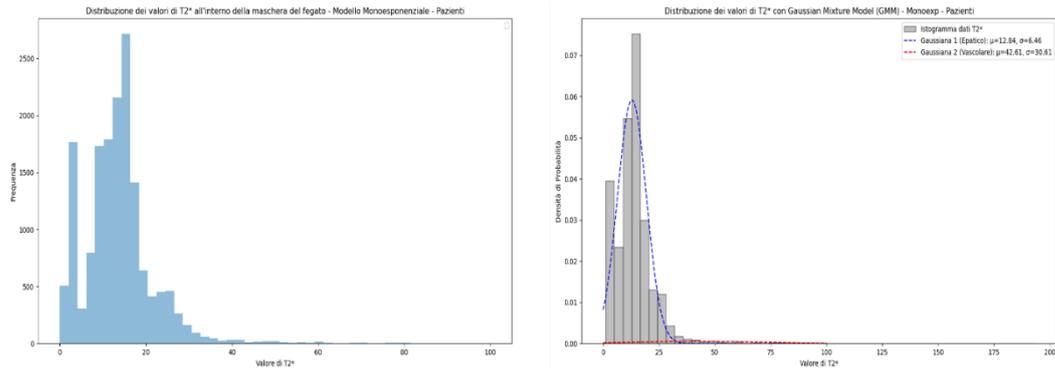


Figura 34: Individuazione tramite il GMM dei valori di T2* del fegato e dei vasi sanguigni con le rispettive deviazioni standard sui pazienti.

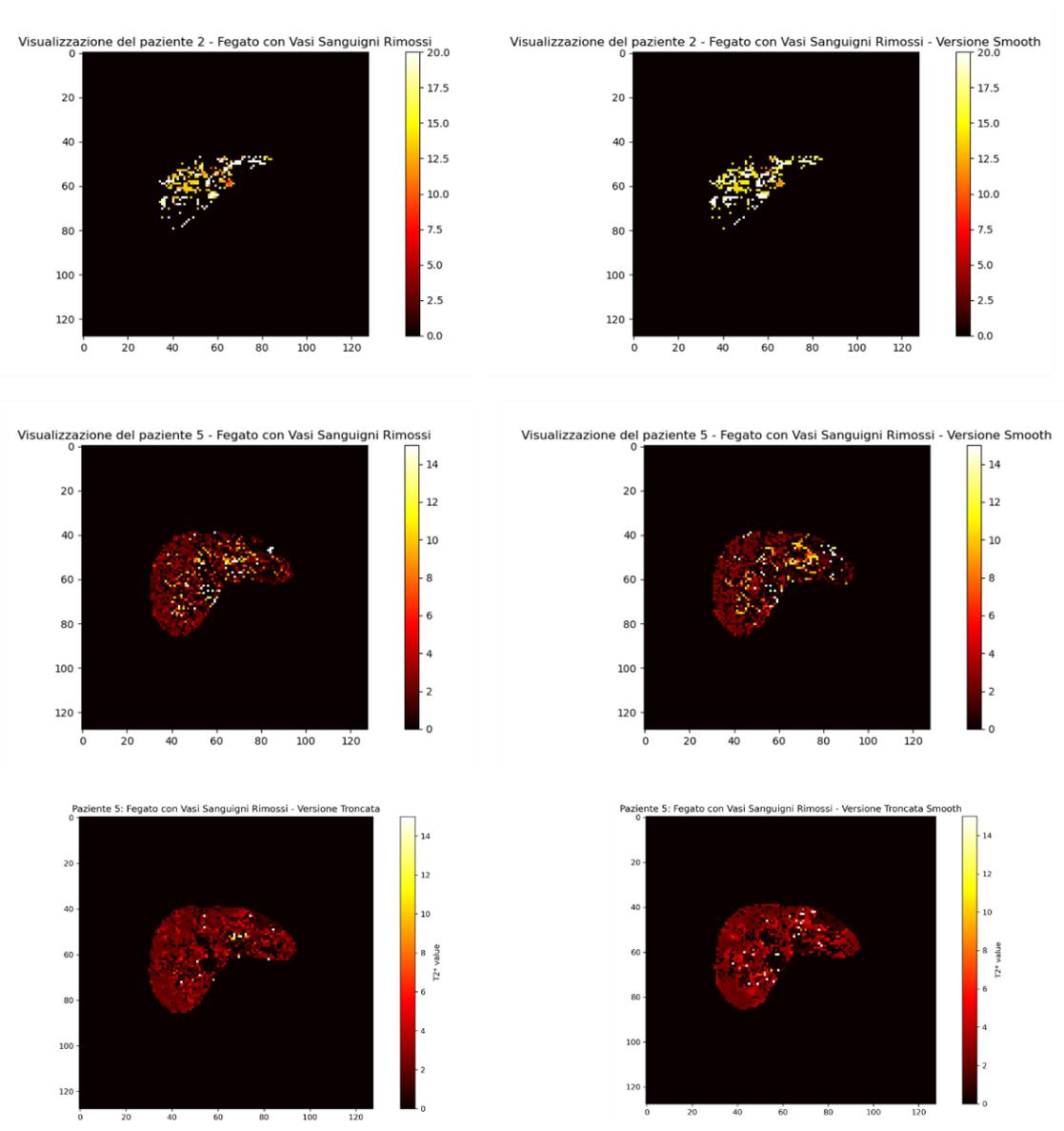


Figura 35: Visualizzazione delle mappe relative alla segmentazione creata direttamente dal modello bi-esponenziale, del paziente 2 e del paziente 5, in versione smooth e non smooth. La terza immagine rappresenta la segmentazione creata con la mappa in versione troncata.

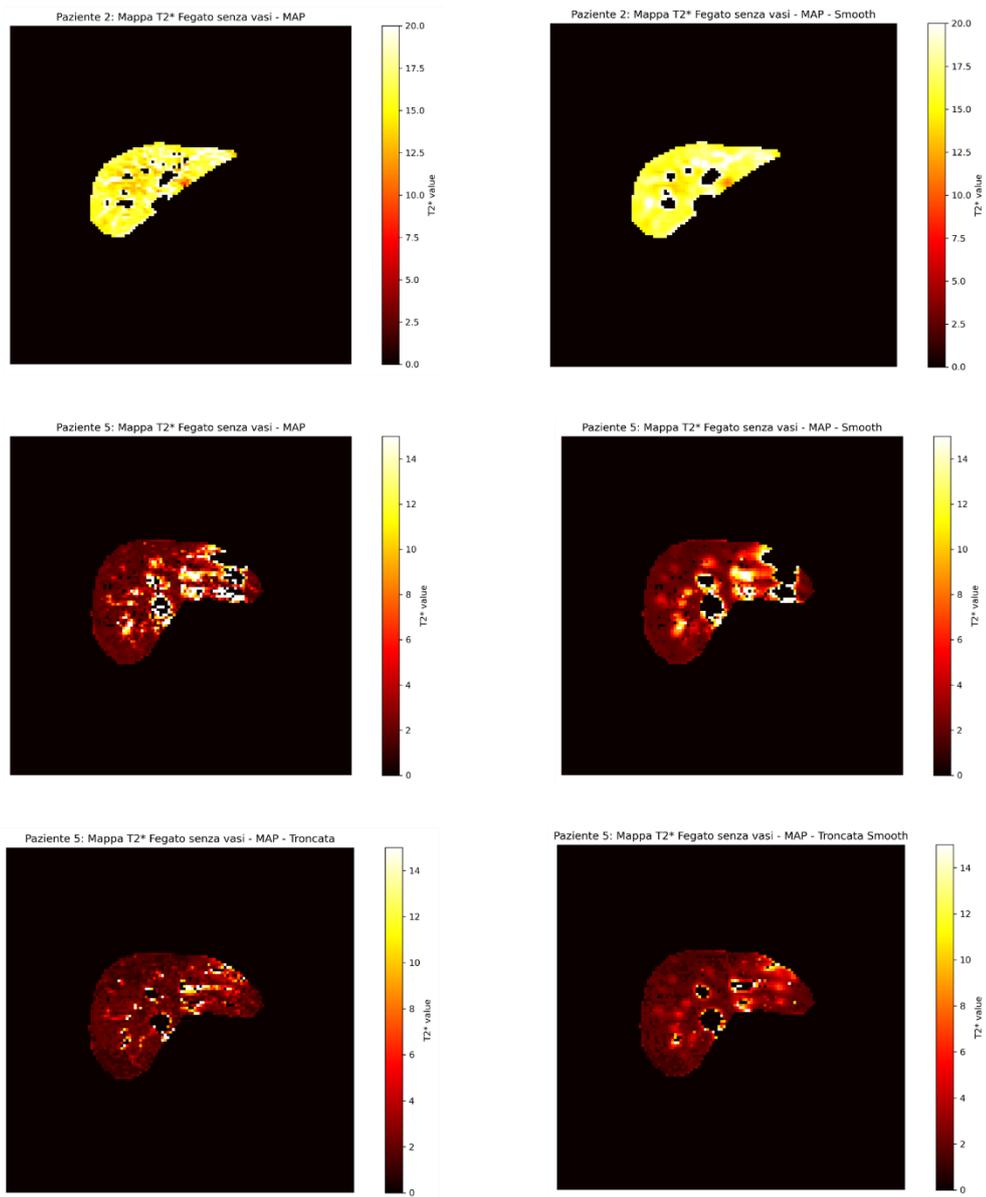


Figura 36: Visualizzazione delle mappe relative alla segmentazione creata dall' algoritmo con metodo di stima MAP, del paziente 2 e del paziente 5, in versione smooth e non smooth. La terza immagine rappresenta la segmentazione creata con la mappa in versione troncata.

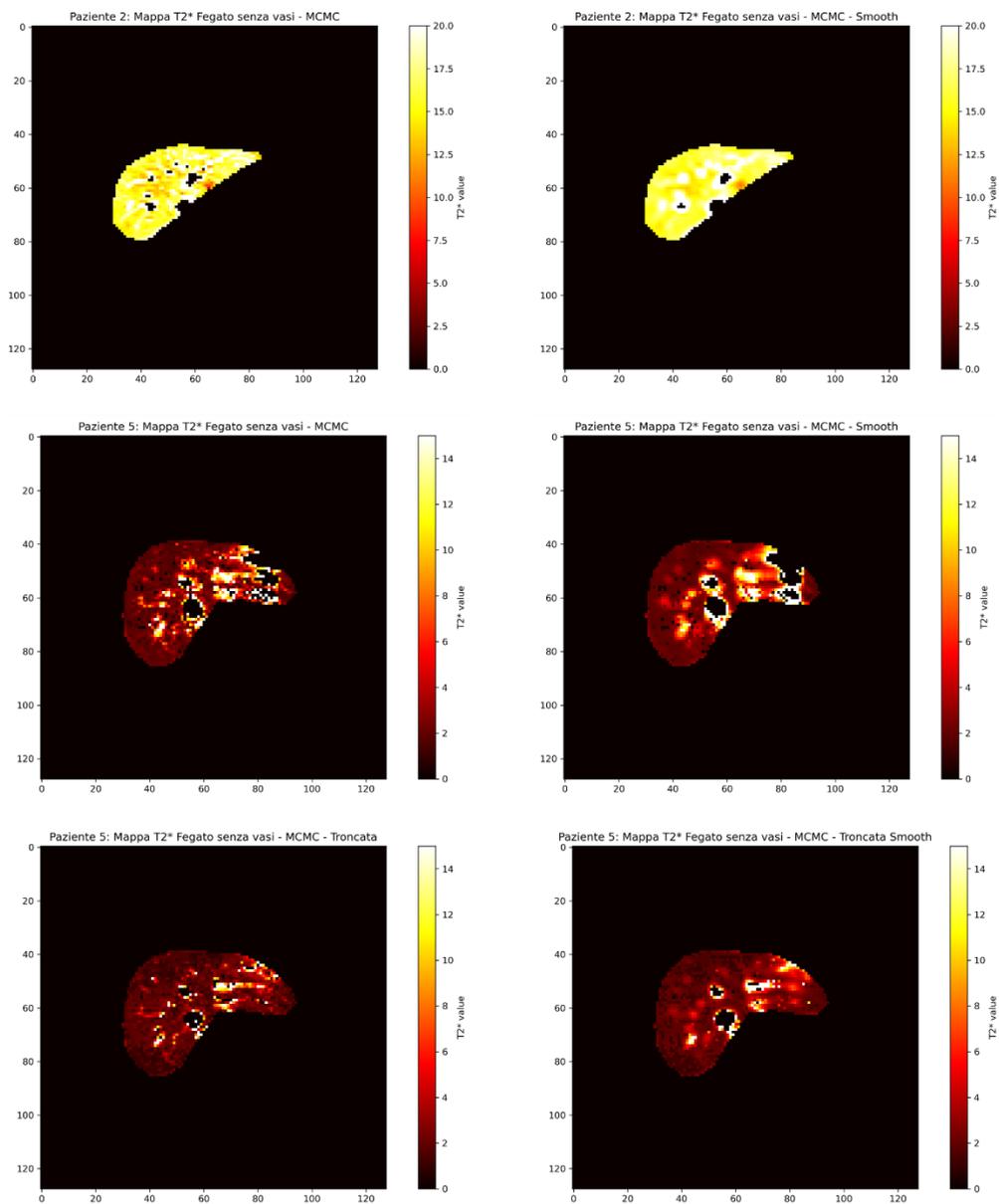


Figura 37: Visualizzazione delle mappe relative alla segmentazione creata dall' algoritmo con metodo di stima MCMC, del paziente 2 e del paziente 5, in versione smooth e non smooth. La terza immagine rappresenta la segmentazione creata con la mappa in versione troncata.

Prima di procedere con la segmentazione delle mappe mediante la tecnica di clusterizzazione k-means, è stata effettuata un'analisi preliminare per determinare il numero ottimale di cluster per ciascun paziente. Questo passaggio si è reso necessario al fine di garantire che la clusterizzazione riflettesse accuratamente la distribuzione dei valori nei dati del paziente, ottimizzando così la qualità e l'utilità della segmentazione.

```
Silhouette Score per k=2: 0.9016804721631692
Silhouette Score per k=3: 0.8755201228366525
Silhouette Score per k=4: 0.7548111461919005
Silhouette Score per k=5: 0.7355791801163787
Il miglior numero di cluster è k=2 con un Silhouette Score di 0.9016804721631692
```

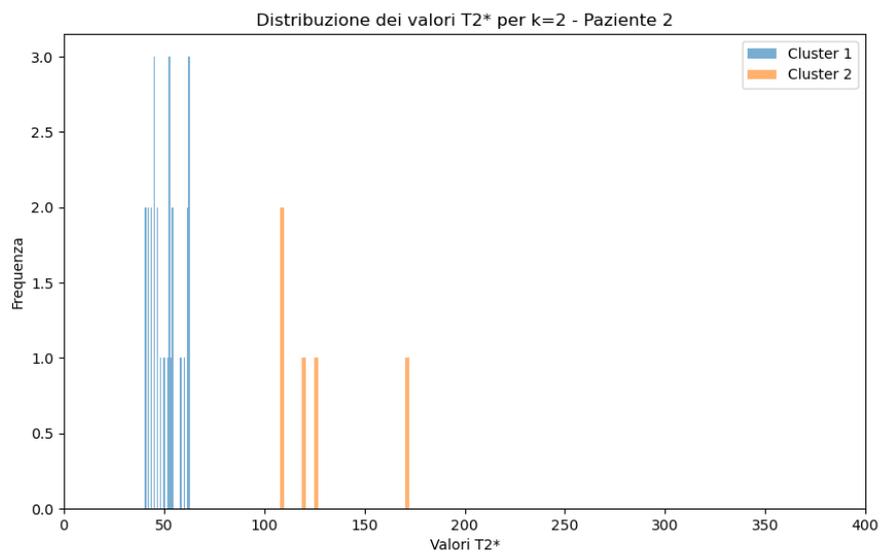


Figura 38: Rappresentazione dei valori di T2* divisi nel numero di cluster ottimale trovato con il metodo della silhouette per il paziente 2

```
Silhouette Score per k=2: 0.9585548302688933
Silhouette Score per k=3: 0.9486339034592817
Silhouette Score per k=4: 0.9277983288903611
Silhouette Score per k=5: 0.9168636605476368
Il miglior numero di cluster è k=2 con un Silhouette Score di 0.9585548302688933
```

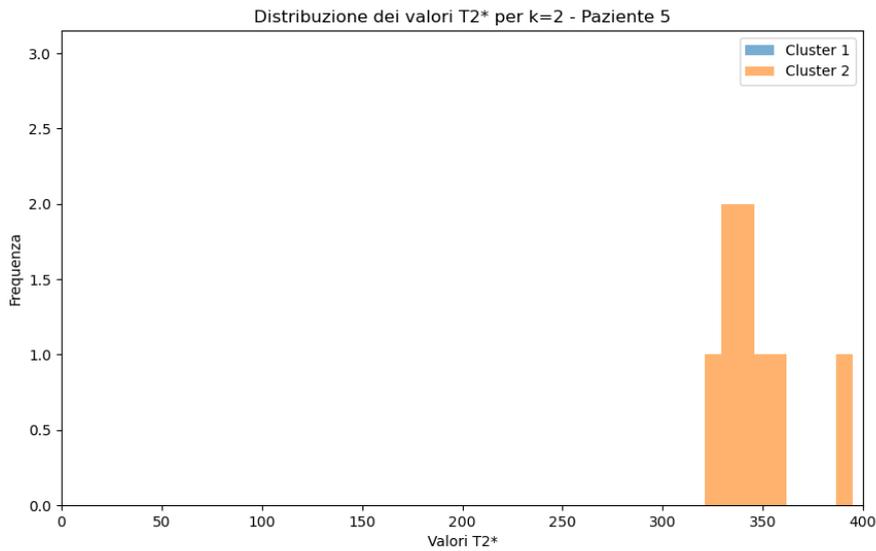


Figura 39: Rappresentazione dei valori di T2* divisi nel numero di cluster ottimale trovato con il metodo della silhouette per il paziente 5

```

Silhouette Score per k=2: 0.9453142382107911
Silhouette Score per k=3: 0.9130574914109335
Silhouette Score per k=4: 0.873873069591379
Silhouette Score per k=5: 0.8757664041809015
Il miglior numero di cluster è k=2 con un Silhouette Score di 0.9453142382107911

```

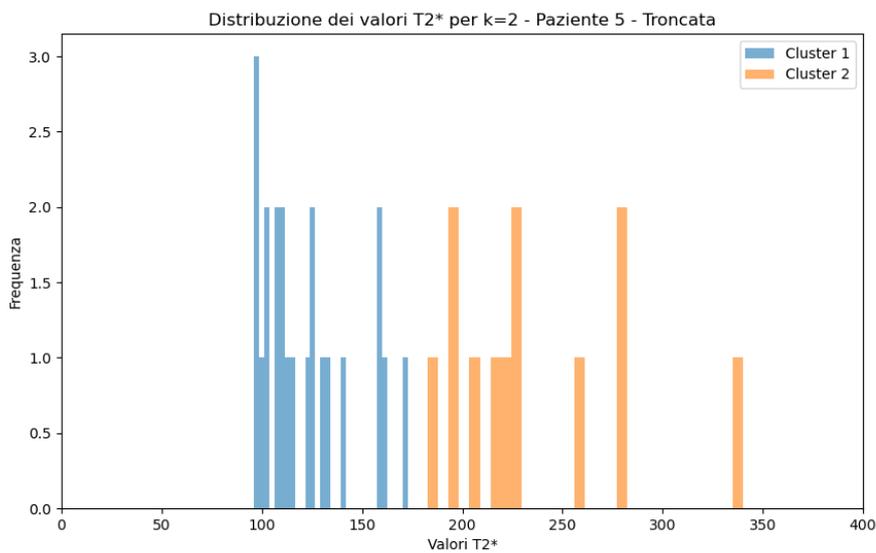


Figura 40: Rappresentazione dei valori di T2* divisi nel numero di cluster ottimale trovato con il metodo della silhouette per il paziente 5 (mappa troncata)

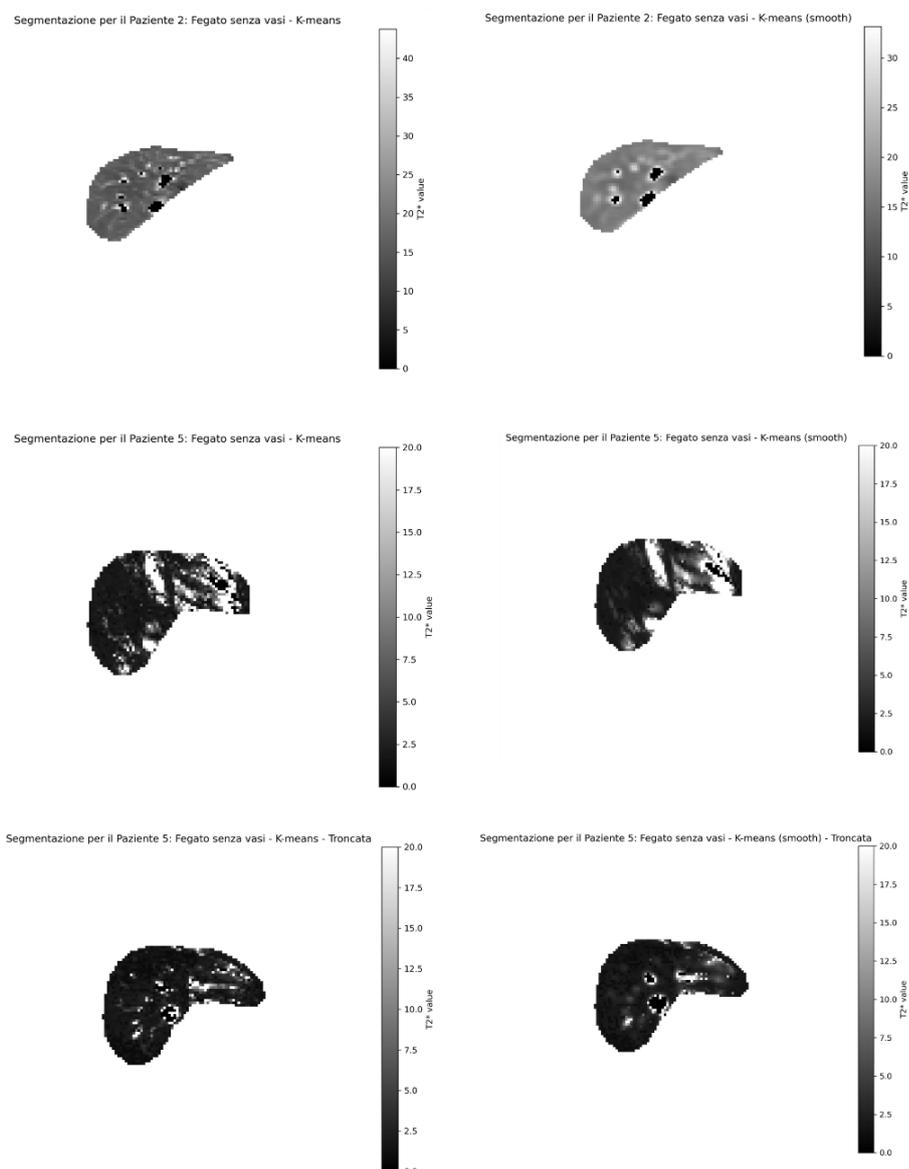


Figura 41: Visualizzazione delle mappe relative alla segmentazione creata dall' algoritmo con clusterizzazione k-means del paziente 2 e del paziente 5, in versione smooth e non smooth. La terza immagine rappresenta la segmentazione effettuata con la mappa troncata

5.4 Risultati T2* Globale e Confronto con HIPPO

Una volta completata la segmentazione delle mappe per ciascun soggetto e per ciascun paziente, è stato calcolato il valore globale di T2* per ogni mappa segmentata. Questo valore rappresenta una stima complessiva derivata dalla segmentazione, sintetizzando l'informazione contenuta nei dati in un unico parametro rappresentativo.

Successivamente, i valori globali di T2* ottenuti sono stati confrontati con quelli derivati dalla segmentazione pixel-wise effettuata tramite il metodo HIPPO attraverso due test

statistici, il test di correlazione tramite retta di regressione e l'analisi Bland-Altman. Questo confronto è stato condotto per valutare le differenze tra i vari approcci e per verificare la coerenza e la precisione dei quattro metodi di segmentazione rispetto alla metodologia pixel-wise del software.

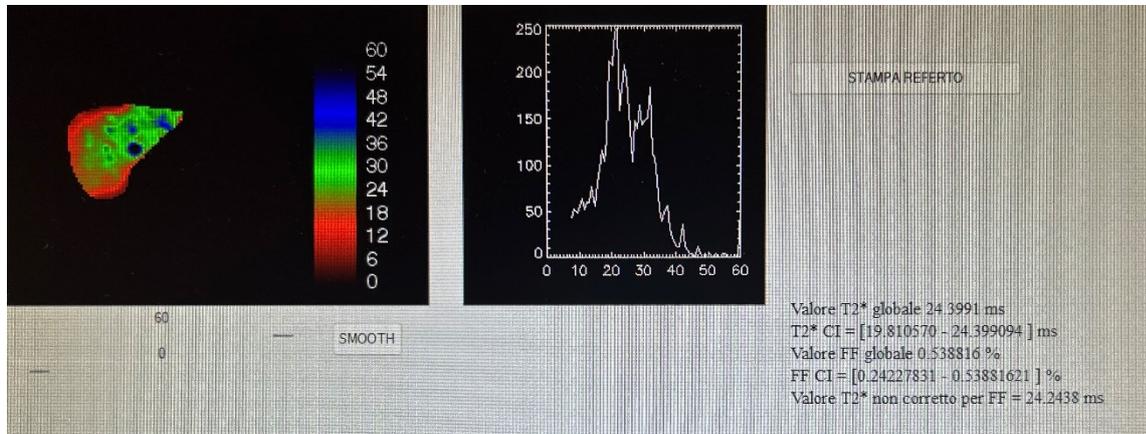


Figura 42: Visualizzazione della schermata del software HIPPO, con valore globale del T2* e tecnologia pixel-wise del soggetto 1

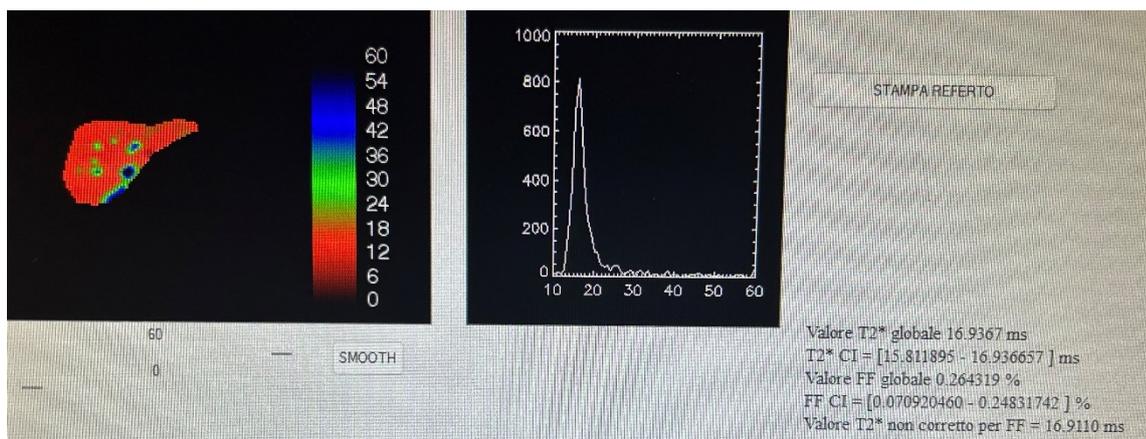


Figura 43: Visualizzazione della schermata del software HIPPO, con valore globale del T2* e tecnologia pixel-wise del paziente 2

Le tabelle riportate in appendice sintetizzano i risultati ottenuti per ciascun soggetto e paziente, evidenziando, per ogni caso, il valore di T2* globale derivato dalle mappe segmentate e quello calcolato tramite il metodo HIPPO. Questo confronto rappresenta una base solida per valutare le prestazioni dei metodi proposti, fornendo un quadro chiaro delle discrepanze tra i valori e supportando un'interpretazione critica dei risultati. Per ogni gruppo, sia per il database dei soggetti sani sia per quello dei pazienti, sono stati calcolati i coefficienti di correlazione, che indicano il grado di linearità tra i due set di dati. Inoltre, mediante l'analisi di Bland-Altman, sono state determinate la differenza media e la deviazione standard delle differenze, offrendo una misura dell'accordo tra i due metodi e

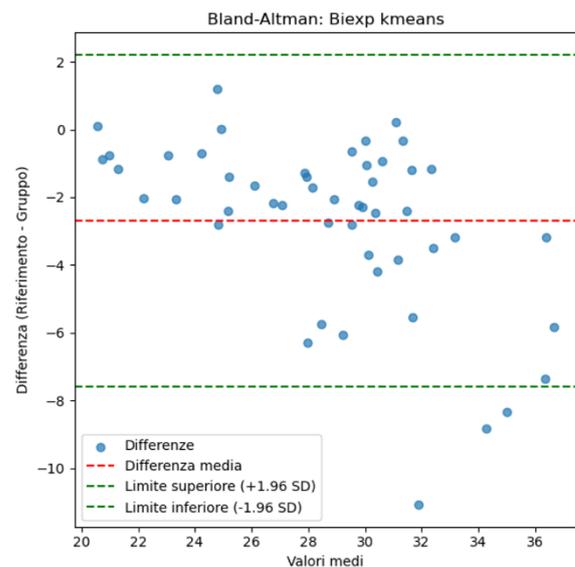
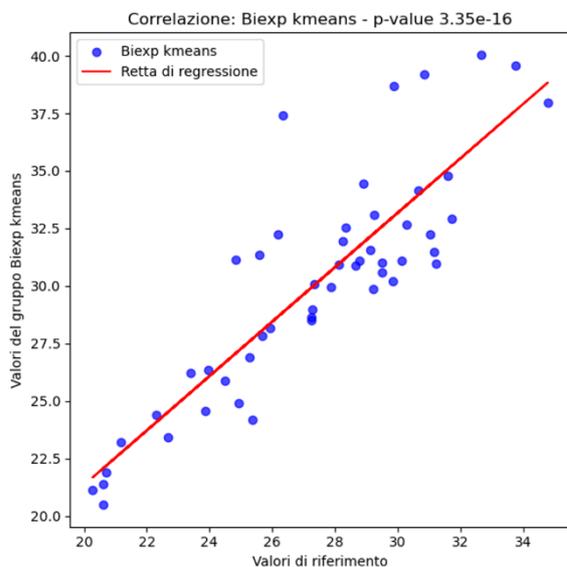
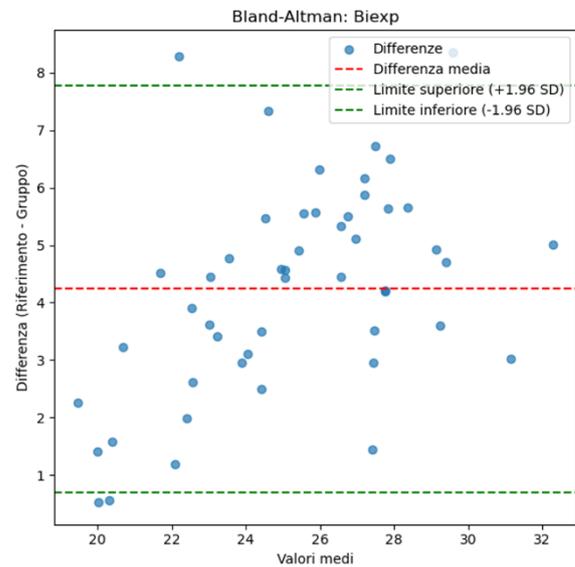
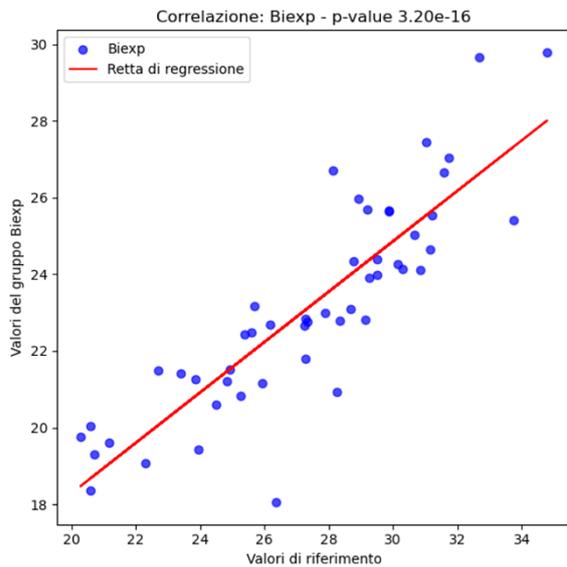
mettendo in evidenza eventuali bias sistematici. Combinando questi tre parametri è stato possibile individuare il metodo di segmentazione che garantisce le migliori prestazioni e la maggiore affidabilità nella stima del valore globale di T2*.

SOGGETTI

```

=== Coefficienti di correlazione per ciascun gruppo ===
Gruppo Biexp: r = 0.868
Gruppo Biexp MAP: r = 0.939
Gruppo Biexp MCMC: r = 0.945
Gruppo Biexp kmeans: r = 0.868

=== Miglior gruppo ===
Nome: Biexp MCMC
Coefficiente di correlazione (r): 0.945
Differenza media (Bland-Altman): -0.870
Deviazione standard delle differenze: 1.170
    
```



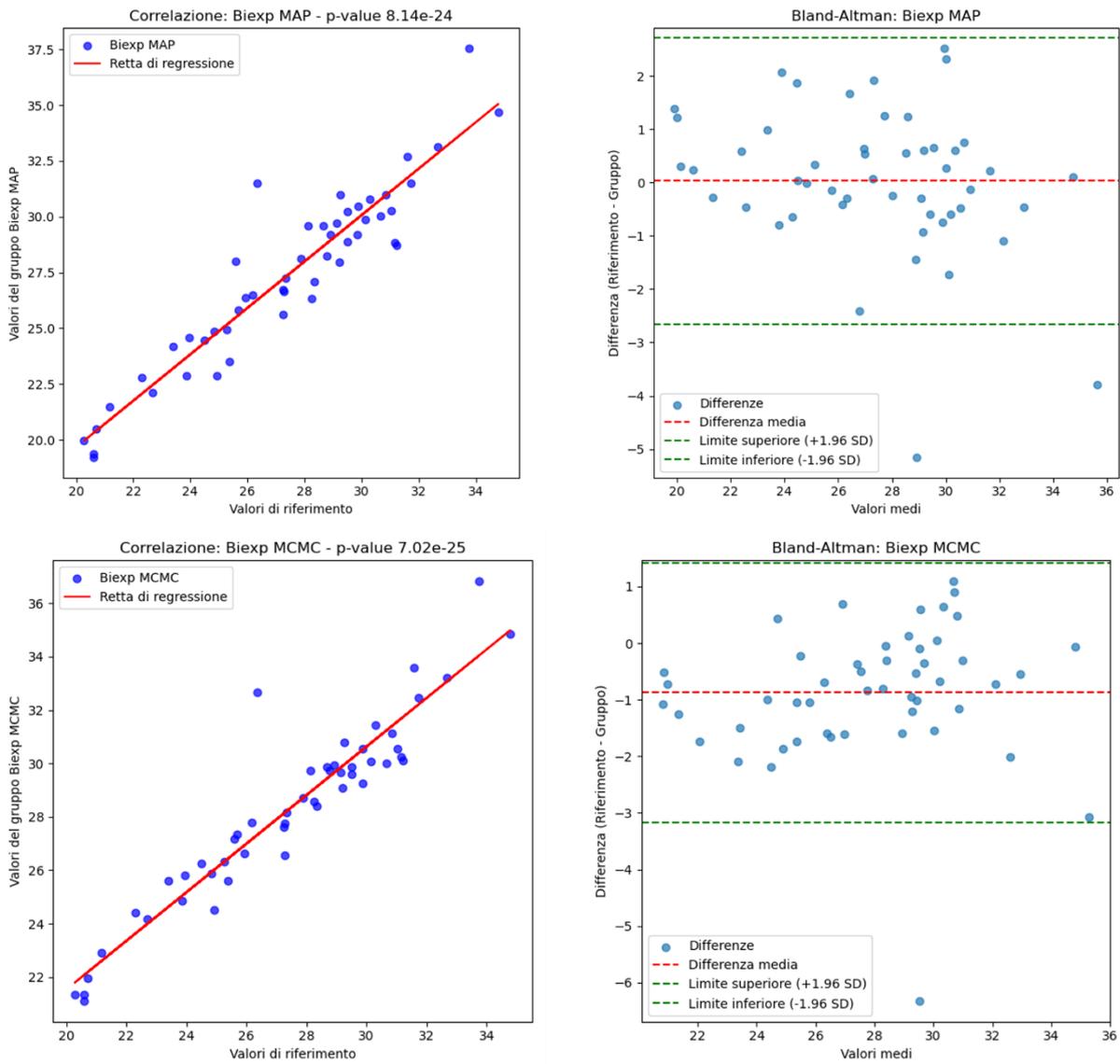


Figura 44: Visualizzazione Correlazione tramite retta di regressione e Analisi di Bland-Altman di ogni metodo di segmentazione, per il database dei soggetti

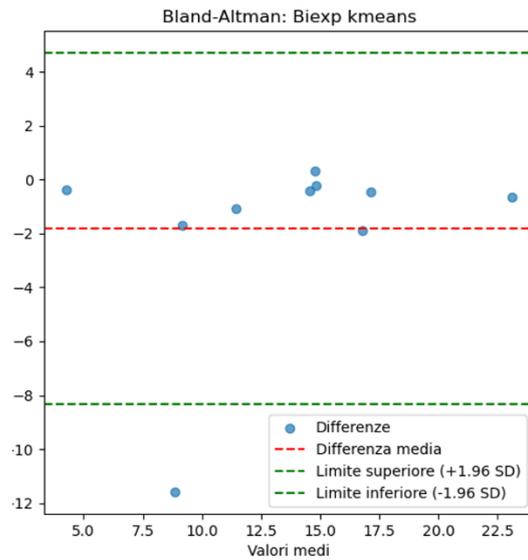
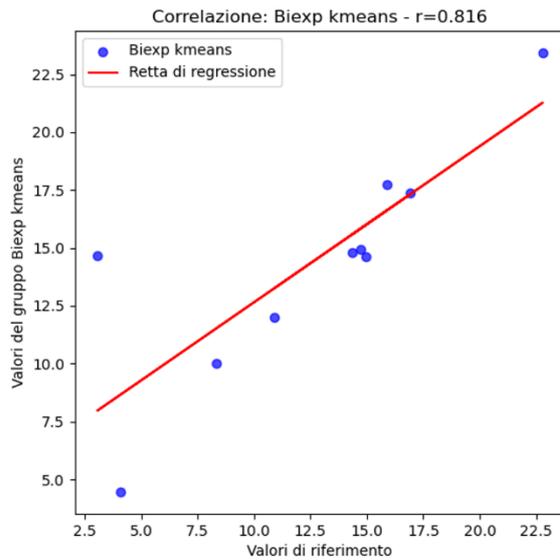
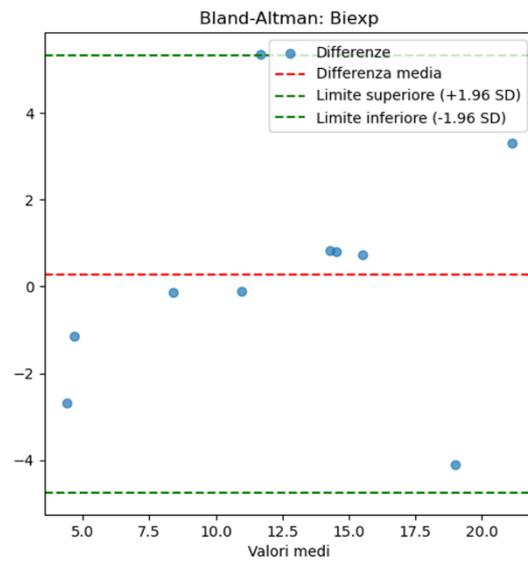
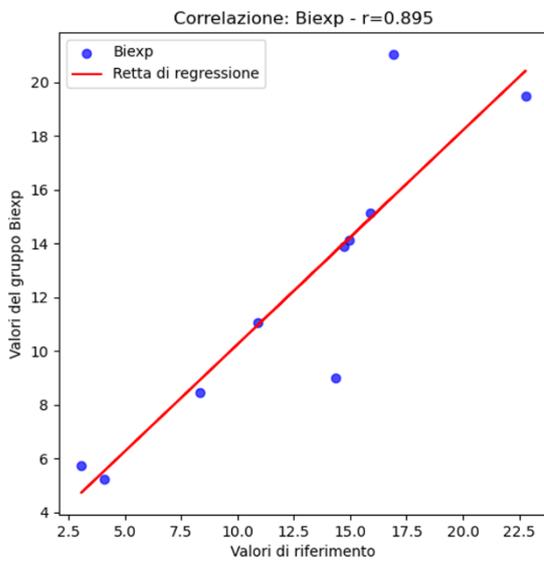
PAZIENTI

=== Coefficienti di correlazione per ciascun gruppo ===

Gruppo Biexp: $r = 0.895$
 Gruppo Biexp MAP: $r = 0.987$
 Gruppo Biexp MCMC: $r = 0.998$
 Gruppo Biexp kmeans: $r = 0.816$
 Gruppo Biexp kmeans: $r = 0.816$
 Gruppo Biexp kmeans: $r = 0.816$

=== Miglior gruppo ===

Nome: Biexp MCMC
 Coefficiente di correlazione (r): 0.998
 Differenza media (Bland-Altman): -0.559
 Deviazione standard delle differenze: 0.580



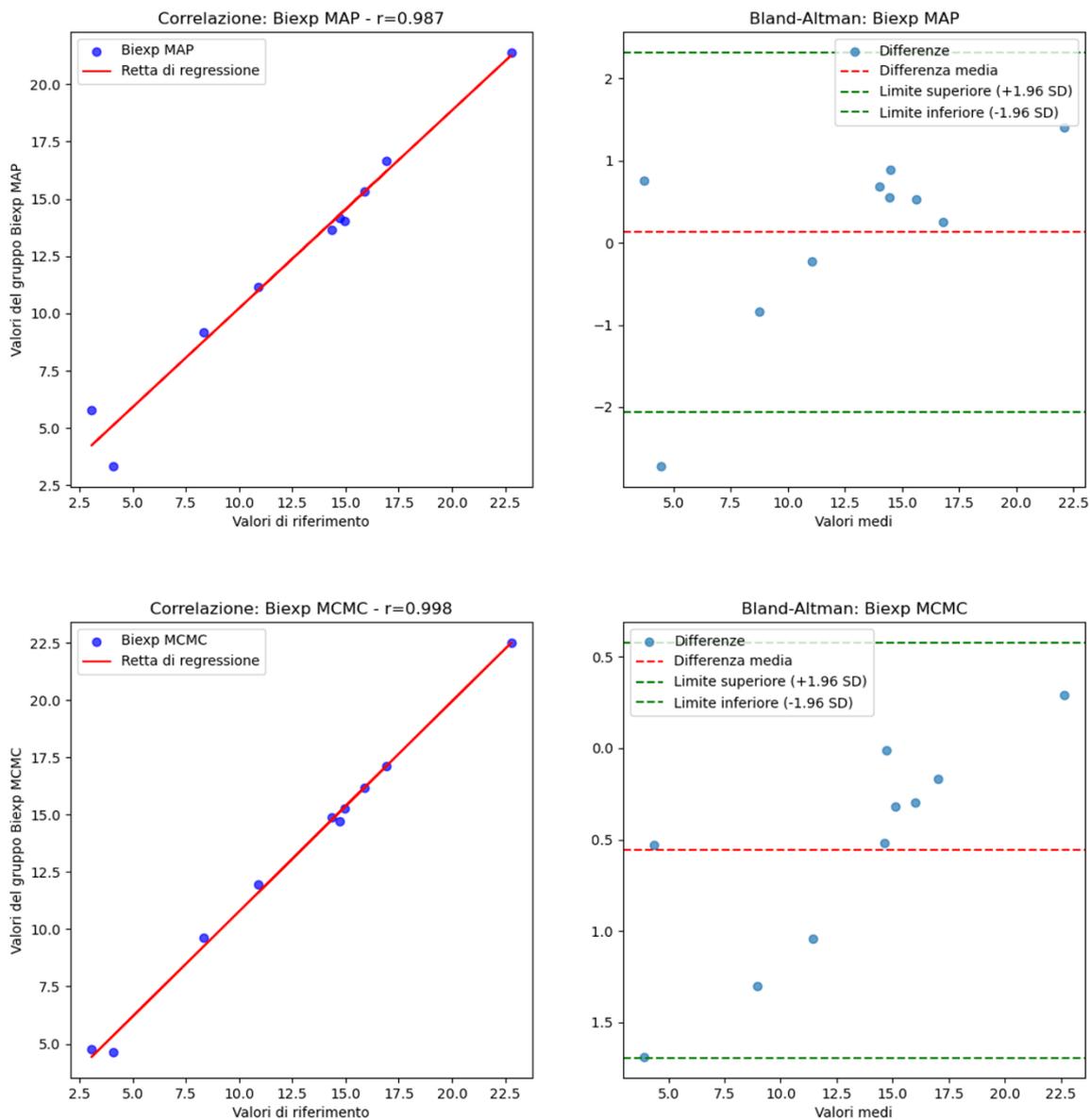


Figura 45: Visualizzazione Correlazione tramite retta di regressione e Analisi di Bland-Altman di ogni metodo di segmentazione, per il database dei pazienti

Capitolo 6: Discussione dei Risultati

6.1 Confronto modelli

Dopo aver rappresentato i risultati ed elaborato le mappe per ciascun soggetto, è possibile trarre alcune considerazioni sui modelli analizzati e sul loro comportamento.

Per il database dei soggetti, ogni modello analizzato ha generato mappe con caratteristiche ben definite, evidenziando differenze significative in termini di rappresentazione visiva, coerenza fisiologica e semplicità di implementazione.

- **Modello mono-esponenziale**

Il modello mono-esponenziale si è rivelato quello più performante, generando immagini che risultano accurate e coerenti con le caratteristiche fisiologiche dell'addome. Questa superiorità è stata confermata anche dall'analisi degli istogrammi, che hanno evidenziato come il mono-esponenziale riesca a bilanciare in modo ottimale rappresentazione visiva, aderenza ai dati fisiologici e semplicità computazionale.

Il modello è quindi il più indicato per descrivere in modo fedele il comportamento del segnale e rappresentare la distribuzione dei parametri.

- **Modello mono-esponenziale con costante**

Questo modello, pur non essendo il più performante in generale, si è dimostrato utile in specifiche situazioni. In particolare, è risultato efficace in alcuni voxel, specialmente in presenza di artefatti o rumore di fondo. La sua capacità di gestire tali condizioni lo rende un'opzione interessante per analisi locali o in dataset affetti da variabilità nei segnali.

- **Modello linearizzato**

Il modello linearizzato si è dimostrato il meno adatto per rappresentare i dati. La sua eccessiva semplificazione, rispetto alla complessità fisiologica e al decadimento reale del segnale, lo rende inappropriato per descrivere accuratamente i fenomeni analizzati. Questo è evidente sia nella rappresentazione visiva delle mappe che nei risultati in percentuale di successo degli istogrammi.

MODELLI	PRO	CONTRO
Mono-esponenziale	<ul style="list-style-type: none"> • Rappresentazione visiva accurata e fedele. • Coerenza con i dati fisiologici. • Semplicità di calcolo e implementazione. 	<ul style="list-style-type: none"> • Potrebbe non essere troppo adatto in presenza di artefatti significativi o elevati livelli di rumore di fondo.
Mono-esponenziale con costante	<ul style="list-style-type: none"> • Maggiore robustezza in voxel con artefatti o rumore. • Utile in situazioni di segnale alterato. 	<ul style="list-style-type: none"> • Maggiore complessità rispetto al mono-esponenziale. • Meno accurato per voxel regolari senza rumore.
Linearizzato	<ul style="list-style-type: none"> • Semplicità computazionale estrema e relativa velocità di calcolo elevata. • Utile per una rappresentazione preliminare molto approssimativa. 	<ul style="list-style-type: none"> • Poca coerenza con la rappresentazione del decadimento esponenziale. • Rappresentazione poco fedele.

L'analisi è stata condotta sia su dati originali (non smoothing) sia su versioni smoothed. Nella versione smoothing, si osservano le stesse tendenze rilevate nei dati non smoothed, ma con alcune differenze. L'applicazione di una maschera 3x3 per il filtraggio genera mappe leggermente sfocate e meno precise, in quanto il processo di smoothing introduce un effetto di media che tende ad attenuare le variazioni locali del segnale. Tuttavia, questa tecnica offre anche dei vantaggi: le mappe risultanti sono più compatte, omogenee e meno pixelate, migliorando l'aspetto visivo generale.

Nonostante ogni modello presenti vantaggi e svantaggi, il modello mono-esponenziale è stato selezionato per la costruzione dei priori del modello bi-esponenziale. Questo modello si è dimostrato il migliore in tutti i soggetti, offrendo un equilibrio ottimale tra accuratezza, coerenza fisiologica e semplicità computazionale, vincendo di gran lunga rispetto agli altri due modelli analizzati.

Nell'implementazione del modello bi-esponenziale, si è resa necessaria una distinzione tra le due principali variabili considerate:

1. La separazione tra acqua e grasso.
2. La distinzione tra vasi sanguigni e tessuto epatico.

1. Separazione tra acqua e grasso

La separazione tra acqua e grasso si è rivelata più complessa del previsto, mostrando significative limitazioni metodologiche. Le mappe risultanti da questa analisi presentano un aspetto pixelato e una variabilità estremamente elevata nei valori dei singoli voxel, che spaziano da valori negativi nell'ordine di decine di migliaia a valori positivi altrettanto estremi. Sebbene, escludendo i valori outliers, i $T2^*$ risultino complessivamente accettabili, la qualità delle mappe e la loro precisione non sono sufficienti per analisi affidabili.

La principale causa di questa scarsa accuratezza è l'utilizzo esclusivo delle mappe della *magnitude* del segnale, senza informazioni sulla fase. La distinzione tra acqua e grasso si basa infatti in larga misura sulla differenza di fase tra le due componenti molecolari, e l'assenza di questa informazione rende il modello implementato eccessivamente semplificato rispetto alla complessità reale del segnale. Di conseguenza, le mappe generate risultano inadeguate per analisi successive, indi per cui la versione relativa alla separazione tra acqua e grasso è stata scartata dalle analisi successive per la sua scarsa accuratezza e precisione.

Per migliorare questo approccio in futuro, sarà fondamentale integrare le informazioni sulla fase, che potrebbero consentire una distinzione più affidabile tra le due componenti molecolari.

2. Separazione tra vasi sanguigni e tessuto epatico

La seconda applicazione del modello bi-esponenziale, relativa alla distinzione tra vasi sanguigni e tessuto epatico, ha avuto esiti decisamente più soddisfacenti. Questa analisi si è basata sull'utilizzo dei priori calcolati dal modello mono-esponenziale, personalizzati sui dati specifici del database dei soggetti. Questa customizzazione ha garantito maggiore precisione e accuratezza sin dall'inizio del processo, migliorando l'affidabilità dei risultati.

Le mappe generate evidenziano chiaramente i vasi sanguigni, inclusi quelli di piccole dimensioni, distinguendoli dal tessuto epatico circostante. Ciò ha permesso di ottenere successivamente delle mappe segmentate accurate e di conseguenza un valore globale di $T2^*$ più rappresentativo, eliminando il contributo dei vasi e garantendo una stima più "pulita" e veritiera.

6.2 Segmentazione

Diverse tecniche di segmentazione sono state impiegate per separare le componenti ematica ed epatica, ciascuna con i propri vantaggi e svantaggi.

1. Segmentazione diretta dal modello bi-esponenziale

La segmentazione diretta basata sul modello bi-esponenziale ha prodotto risultati accettabili, ma con alcune limitazioni significative. Sebbene i valori globali di $T2^*$

ottenuti fossero coerenti, sono stati leggermente sottostimati rispetto ad altre tecniche. Questo risultato evidenzia la difficoltà di distinguere chiaramente tra le due componenti. In molti voxel si è osservato una sovrapposizione delle due componenti (sangue e tessuto epatico), rendendo difficile una separazione netta. Questo ha portato alla creazione di mappe segmentate con un contributo epatico ridotto, poiché i voxel misti sono stati considerati come vasi sanguigni e quindi posti a zero.

Nonostante i risultati accettabili, questa tecnica non è ideale per ottenere una segmentazione precisa.

2. **Metodi di stima MAP e MCMC**

I metodi di stima basati su MAP (Maximum A Posteriori) e MCMC (Markov Chain Monte Carlo) hanno prodotto le mappe segmentate più accurate e coerenti. L'approccio basato sul metodo di stima MAP si è dimostrato meno conservativo rispetto al MCMC, eliminando una quantità maggiore di tessuto epatico.

Sebbene ciò possa sembrare una limitazione, risulta vantaggioso per garantire l'eliminazione completa della componente ematica, evitando che questa "contamini" il valore globale di T2*.

Il metodo di stima basato su MCMC ha prodotto mappe altamente precise e ben segmentate, mostrando una maggiore conservatività rispetto al MAP. Tuttavia, il contributo ematico residuo nelle mappe potrebbe introdurre un leggero errore nella stima finale del T2*.

Entrambi i metodi si sono dimostrati molto efficaci, con il MAP che offre una segmentazione più netta e il MCMC che mantiene maggiore cautela nella separazione delle componenti.

3. **Clusterizzazione con k-means**

La clusterizzazione basata sull'algoritmo k-means ha fornito risultati accurati. Il suo vantaggio principale è la capacità di creare cluster personalizzati per ciascun soggetto. Mentre i prior utilizzati nelle altre tecniche erano applicati uniformemente a tutti i soggetti, il k-means consente di generare cluster specifici per ogni individuo, migliorando ulteriormente la precisione della segmentazione. Questa tecnica rappresenta la soluzione più promettente per la segmentazione, grazie alla sua flessibilità e adattabilità ai dati individuali.

In conclusione si può notare come l'analisi delle variabili e delle tecniche di segmentazione ha evidenziato vantaggi e limiti di ciascun approccio. La separazione tra acqua e grasso si è rivelata troppo semplificata per le informazioni disponibili, mentre la distinzione tra vasi

sanguigni e tessuto epatico ha fornito risultati di grande utilità, contribuendo a stime più accurate del T2* globale.

All'interno del database dei pazienti è emersa la necessità di effettuare un'analisi approfondita per interpretare alcune anomalie osservate nei segnali magnetici. In particolare, per alcuni pazienti, i segnali presentano valori che si discostano significativamente da quelli attesi, generando mappe finali che non rispecchiano fedelmente la realtà fisiologica.

Dall'analisi dettagliata (vedi *Figura 25*), è stato evidenziato che in determinati pazienti, come i pazienti 4 e 5, il segnale magnetico mostra una rapida decrescita iniziale, seguita dal raggiungimento di un plateau costante dopo pochi tempi di eco. Per il paziente 4, il plateau si stabilizza al quinto tempo di eco, mentre per il paziente 5, questo comportamento si manifesta già al terzo tempo di eco. Tale peculiarità si può attribuire a specifiche condizioni del tessuto epatico, che determinano un decadimento del segnale troppo rapido per essere adeguatamente modellato dal classico modello mono-esponenziale.

In questi casi, la presenza di una componente costante nel segnale giustifica l'adozione di un modello mono-esponenziale con costante, che si dimostra più adatto a descrivere l'andamento dei dati. Questo modello riesce infatti a catturare la componente stabile del segnale che si manifesta nei tempi di eco successivi al plateau.

Per supportare questa osservazione, è stato calcolato il coefficiente di variazione (CV) del segnale per ciascun tempo di eco e per ciascun paziente. Questo parametro rappresenta un indicatore fondamentale per individuare il tempo di eco a partire dal quale il segnale diventa meno affidabile, a causa della maggiore variabilità relativa rispetto al valore medio.

In figura 26 è riportato l'andamento del coefficiente di variazione in funzione dei dieci tempi di eco per tutti i pazienti. Dall'analisi dei dati emergono due gruppi distinti, definiti sulla base dei valori del CV:

1. **Gruppo 1:** comprende i pazienti 3, 4 e 5, caratterizzati da valori di CV che superano la soglia prefissata..
2. **Gruppo 2:** costituito da tutti gli altri pazienti, che mostrano valori di CV generalmente più bassi e un andamento generalmente più stabile.

Questa suddivisione in cluster riflette fedelmente i risultati evidenziati nell'analisi precedente, basata sugli istogrammi dei modelli. In particolare:

- Per i pazienti del **Gruppo 1** (3, 4 e 5), il modello mono-esponenziale con costante si dimostra nettamente superiore rispetto al modello mono-esponenziale semplice.

- Per i pazienti del **Gruppo 2** il modello mono-esponenziale semplice risulta più adeguato rispetto a quello con costante, con l'eccezione del paziente 1 in cui entrambi i modelli hanno prestazioni simili.

Questa corrispondenza tra la suddivisione dei pazienti in gruppi e le prestazioni dei modelli sottolinea la capacità dei parametri analizzati, come il coefficiente di variazione, di fornire informazioni significative per la scelta del modello più appropriato.

Inoltre, la coerenza tra i risultati ottenuti dai grafici e quelli derivanti dagli istogrammi rafforza la validità dell'analisi e offre un'ulteriore conferma dell'adeguatezza del metodo impiegato.

Il confronto tra le mappe del T2* ottenute con tutti i 10 tempi di eco e quelle realizzate utilizzando solo i tempi di eco validi ha evidenziato un miglioramento nella qualità dei dati, sottolineando l'efficacia del troncamento come strategia di pre-elaborazione. I risultati, visualizzati graficamente, hanno mostrato una significativa riduzione delle variazioni e un incremento della coerenza nei valori di T2* ottenuti, confermando l'utilità di questo approccio nella gestione di segnali affetti da rumore o caratteristiche atipiche.

6.3 Confronto con HIPPO

Un'analisi comparativa è stata condotta per confrontare i risultati ottenuti dalle segmentazioni generate nel presente studio con quelli prodotti dal software HIPPO. Quest'ultimo rappresenta uno standard di riferimento nella segmentazione epatica all'interno dell'Ospedale di Padova, particolarmente per l'analisi di immagini di risonanza magnetica volte a stimare i valori di T2*.

Dai confronti effettuati, per entrambi i database, emerge una elevata coerenza tra i risultati ottenuti utilizzando il metodo di segmentazione basato sull'algoritmo MCMC e quelli forniti da HIPPO. Questa somiglianza è stata osservata sia a livello globale, considerando il valore medio di T2*, in quanto entrambi i metodi forniscono stime comparabili per il T2* globale, con differenze minime che rientrano nell'errore standard accettabile, sia nella distribuzione spaziale delle regioni segmentate. Si può notare infatti che le mappe segmentate ottenute con MCMC mostrano una distinzione chiara e precisa tra tessuto epatico e vasi sanguigni, in linea con i risultati di HIPPO e che le regioni identificate come epatiche o vascolari presentano una notevole sovrapposizione spaziale tra i due metodi, evidenziando la validità dell'approccio implementato.

Il confronto tra i risultati ottenuti con il metodo MCMC e quelli derivati dall'analisi tramite HIPPO ha evidenziato l'affidabilità del primo, dimostrando un'elevata coerenza sia nei valori calcolati, con coefficienti di correlazione prossimi all'1, sia nella qualità delle segmentazioni.

La notevole somiglianza tra i due approcci sottolinea la robustezza del metodo MCMC, che si è rivelato capace di fornire stime accurate e consistenti.

Questa affidabilità rende il metodo MCMC un'alternativa altamente competitiva e personalizzabile rispetto ai metodi tradizionali. In particolare, la sua capacità di adattarsi in modo flessibile ai dati specifici di ciascun paziente lo rende uno strumento promettente per applicazioni cliniche, dove la precisione e la personalizzazione del trattamento sono fondamentali.

6.4 Limitazioni

Durante il presente studio sono emerse alcune limitazioni che hanno influenzato la qualità dei risultati e la loro interpretazione. Tali limitazioni, che riguardano sia gli aspetti tecnici sia quelli metodologici, sono di seguito descritte nel dettaglio:

1. Modello bi-esponenziale grasso-fegato

Le mappe bi-esponenziali ottenute sono state generate utilizzando esclusivamente le informazioni relative alla *magnitude* del segnale. Questo approccio, mostratosi efficace per un'analisi preliminare, ha comportato delle criticità:

- L'assenza di informazioni aggiuntive ha prodotto mappe caratterizzate da una forte pixelatura e da valori di voxel altamente variabili, rendendo difficile la rappresentazione fisiologica accurata del tessuto epatico.
- La mancanza di dati sulla fase del segnale rappresenta una limitazione importante, poiché tali informazioni sono fondamentali per discriminare in modo accurato i contributi di grasso e acqua. L'integrazione delle mappe di fase avrebbe consentito di associare i picchi caratteristici del grasso ai rispettivi spettri, migliorando la precisione nella separazione delle due componenti.

2. Artefatti e rumore di fondo

Durante le acquisizioni di immagini di risonanza magnetica, sono emersi artefatti significativi, probabilmente legati al rumore di fondo e a limitazioni strumentali.

Questi artefatti hanno influenzato negativamente la qualità delle immagini, complicando l'elaborazione dei dati e la creazione di mappe affidabili.

Sebbene siano stati applicati metodi per ridurre il rumore, la loro efficacia è stata parziale, rendendo alcuni voxel difficili da analizzare in modo accurato.

3. Specificità dei pazienti 4 e 5

I pazienti 4 e 5 hanno mostrato caratteristiche peculiari nel segnale, con un rapido decadimento che ha raggiunto quasi lo zero in tempi di eco molto brevi.

Questa caratteristica ha comportato la generazione di mappe quasi completamente azzerate in gran parte dell'immagine dell'addome, limitando l'efficacia del modello e rendendo l'analisi meno significativa per questi pazienti.

Il comportamento atipico del segnale suggerisce che il modello mono-esponenziale potrebbe non essere completamente adeguato in tali casi, evidenziando la necessità di sviluppare approcci alternativi per catturare meglio tali particolarità.

4. Segmentazione con maschere manuali

Le maschere iniziali utilizzate per individuare il fegato sono state ottenute attraverso la creazione di Region of Interest (ROI) manuali.

Questo approccio introduce una potenziale variabilità nei risultati, sia tra osservatori diversi sia tra ripetizioni dello stesso osservatore. Inoltre la definizione manuale delle ROI potrebbe non catturare perfettamente i confini anatomici del fegato, introducendo errori sistematici nella segmentazione e influenzando i valori finali di T2*.

5. Database ridotto

Il database analizzato include un numero limitato di campioni:

- **Soggetti sani:** 50 individui.
- **Pazienti:** 10 individui affetti da emocromatosi con mutazione HFE o talassemia major.

Questa popolazione ridotta limita la rappresentatività dei risultati in quanto la capacità di estendere i risultati a una popolazione più ampia risulta essere ridotta, rendendo necessaria una futura validazione con database più ampi e diversificati.

Le dimensioni ridotte del campione influenzano la robustezza statistica delle analisi e la capacità di rilevare differenze significative tra i gruppi.

Le limitazioni evidenziate suggeriscono alcune direzioni per il miglioramento delle future ricerche:

1. **Integrazione di dati di fase:** L'utilizzo delle informazioni sulla fase del segnale permetterebbe di ottenere mappe bi-esponenziali più accurate, con una migliore separazione tra grasso e acqua.
2. **Sviluppo di algoritmi avanzati:** Implementare modelli matematici più sofisticati potrebbe aiutare a gestire meglio i casi particolari, come quelli dei pazienti 4 e 5.
3. **Automatizzazione delle maschere di segmentazione:** L'impiego di algoritmi di segmentazione automatica o semi-automatica, basati su tecniche di intelligenza artificiale, potrebbe ridurre la variabilità introdotta dalle ROI manuali.

4. **Ampliamento del database:** Coinvolgere un numero maggiore di soggetti, inclusi pazienti con diverse patologie epatiche, migliorerebbe la precisione dei risultati e consentirebbe analisi statistiche più solide.

Capitolo 7: Conclusioni e Sviluppi Futuri

7.1 Conclusioni

Questo studio aveva come obiettivi principali:

1. Selezionare il modello matematico più parsimonioso a descrivere il comportamento del fegato per ottenere una stima affidabile del tempo di rilassamento trasversale $T2^*$;
2. Individuare un metodo di segmentazione accurato per filtrare dalla stima del tessuto il contributo ematico.

Modello più adatto alla descrizione tissutale del fegato

Tra i modelli analizzati, i risultati hanno evidenziato che:

- **Modello mono-esponenziale:** Utilizzando indici classici di selezione di modello, si è dimostrato come il modello mono-esponenziale sia il più adatto e preciso per un'analisi del segnale del rilassamento trasversale apparente epatico. Questo modello offre un equilibrio ottimale tra semplicità computazionale, accuratezza nella stima dei parametri e coerenza con i dati fisiologici. La sua robustezza lo rende la scelta ideale nella maggior parte dei casi.
- **Modello bi-esponenziale con componenti epatiche e vascolari:** Per analisi più mirate alla suddivisione delle componenti del segnale, questo modello risulta il più efficace. Esso consente di distinguere in modo chiaro tra tessuto epatico e vasi sanguigni, evidenziando in modo preciso le componenti anatomiche.

Metodo di segmentazione più accurato

Per quanto riguarda i metodi di segmentazione, il confronto tra le tecniche ha evidenziato che l'approccio tramite il metodo MCMC (Markov Chain Monte Carlo) si è dimostrato il più efficace e preciso per segmentare il fegato. Questo metodo ha dimostrato una notevole capacità di separare in modo accurato le componenti epatiche da quelle vascolari, restituendo un valore di $T2^*$ globale affidabile e privo di contributi non epatici. La sua implementazione ha consentito di ridurre l'impatto di artefatti e interferenze, migliorando significativamente la qualità complessiva delle mappe ottenute.

I risultati ottenuti sottolineano l'importanza di scegliere modelli matematici e metodi di segmentazione adeguati al tipo di analisi desiderata:

- **Per analisi standard:** Il modello mono-esponenziale si conferma la scelta ottimale per la sua semplicità e rapidità computazionale, garantendo stime accurate per valutazioni generali.
- **Per analisi avanzate:** L'utilizzo del modello bi-esponenziale in combinazione con il metodo MCMC ha dimostrato un notevole vantaggio, consentendo segmentazioni di elevata qualità. Questo approccio ha migliorato la distinzione tra tessuto epatico e vascolare, offrendo una rappresentazione anatomica dettagliata e precisa.

Queste conclusioni rappresentano un importante avanzamento nella comprensione e nell'analisi del segnale epatico tramite risonanza magnetica. L'elevata personalizzazione e la robustezza del metodo bayesiano MCMC lo rendono particolarmente promettente per applicazioni cliniche e di ricerca, dove l'accuratezza diagnostica è cruciale. L'integrazione di questo approccio con ulteriori miglioramenti metodologici potrebbe contribuire a superare le limitazioni evidenziate nel presente studio, consolidando ulteriormente la qualità delle analisi diagnostiche e di monitoraggio delle patologie epatiche.

7.2 Sviluppi Futuri

Alla luce dei risultati ottenuti, si delineano possibili direzioni per futuri sviluppi del lavoro, con l'obiettivo di migliorare ulteriormente l'accuratezza e l'automazione delle analisi del fegato mediante risonanza magnetica.

Un potenziale sviluppo consisterebbe nella creazione di un software innovativo che possa sostituire HIPPO nell'utilizzo clinico, superando alcune delle limitazioni evidenziate. Le caratteristiche principali del software sarebbero:

1. Automazione della selezione della ROI

- L'introduzione di algoritmi avanzati di Deep Learning, come reti neurali convoluzionali (CNN), permetterebbe di individuare automaticamente la regione di interesse (ROI) corrispondente al fegato.
- Questa automazione eliminerebbe la necessità di segmentazioni manuali, riducendo la variabilità intra- e inter-utente e migliorando la riproducibilità dei risultati.
- La rete potrebbe essere addestrata su un database eterogeneo di immagini, includendo sia soggetti sani sia pazienti con diverse condizioni patologiche, garantendo così una generalizzazione efficace su diverse popolazioni.

2. Calcolo del T2* globale tramite modello bi-esponenziale

- Il software utilizzerebbe un modello bi-esponenziale per distinguere tra tessuto epatico e vasi sanguigni.

- La segmentazione sarebbe basata sul metodo MCMC (Markov Chain of Monte Carlo), già dimostratosi efficace per ottenere un valore di T2* globale accurato e privo di interferenze non epatiche.

3. Interfaccia utente intuitiva e personalizzabile

- Il software dovrebbe offrire una GUI (Graphical User Interface) che permetta agli utenti di caricare le immagini, visualizzare le mappe segmentate e ottenere i risultati in modo rapido e intuitivo.
- La possibilità di personalizzare i parametri di segmentazione o scegliere tra modelli analizzati potrebbe ampliare le applicazioni del software a diversi contesti clinici e di ricerca.

4. Integrazione con dati clinici

- Implementare un sistema che integri il calcolo del T2* con altri parametri clinici del paziente, come i livelli di ferritina sierica o altre misure di accumulo di ferro, potrebbe fornire un quadro diagnostico più completo.

Questo nuovo software potrebbe portare ad ottenere diversi benefici quali automazione e maggiore efficienza nei processi di segmentazione e calcolo, eliminazione di errori legati alla manualità e utilizzo di metodi robusti per la segmentazione e il calcolo dei parametri e infine la possibilità di integrare nuove funzionalità o modelli, adattandosi alle esigenze future della ricerca e della diagnostica clinica.

Lo sviluppo di un software di questo tipo rappresenterebbe un importante passo avanti, non solo per sostituire HIPPO ma anche per migliorare l'affidabilità e la scalabilità delle analisi epatiche basate su risonanza magnetica. Con il progresso continuo nell'ambito del deep learning e della modellazione matematica, questo obiettivo appare sempre più realistico e concretizzabile.

Appendice

	Hippo	Biexp	Biexp MAP	Biexp MCMC	Biexp kmeans
Soggetto1	23.40	21.41	24.19	25.59	26.21
Soggetto2	22.69	21.50	22.10	24.18	23.44
Soggetto3	25.94	21.17	26.36	26.63	28.17
Soggetto4	34.79	29.78	34.69	34.85	37.98
Soggetto5	27.89	22.99	28.14	28.70	29.95
Soggetto6	24.83	21.22	24.84	25.88	31.13
Soggetto7	21.18	19.61	21.46	22.92	23.21
Soggetto8	23.95	19.43	24.60	25.81	26.36
Soggetto9	20.28	19.75	19.98	21.35	21.15
Soggetto10	29.25	23.91	30.97	30.79	33.10
Soggetto11	31.15	24.65	28.84	30.25	31.49
Soggetto12	28.92	25.97	29.21	29.94	34.45
Soggetto13	20.60	20.04	19.38	21.11	20.51
Soggetto14	31.21	25.55	28.70	30.12	30.98
Soggetto15	28.26	20.93	26.34	28.57	31.95
Soggetto16	20.60	18.35	19.22	21.33	21.37
Soggetto17	24.93	21.52	22.87	24.50	24.91
Soggetto18	29.86	25.65	29.20	29.26	30.20
Soggetto19	25.38	22.42	23.52	25.60	24.18
Soggetto20	28.78	24.33	28.23	29.73	31.08
Soggetto21	31.59	26.66	32.69	33.60	34.78
Soggetto22	20.71	19.30	20.48	21.96	21.88
Soggetto23	30.65	25.02	30.04	30.00	34.16
Soggetto24	30.85	24.12	30.98	31.15	39.18
Soggetto25	28.34	22.78	27.09	28.39	32.54
Soggetto26	29.21	25.70	27.97	29.08	29.87
Soggetto27	27.24	22.66	26.71	27.61	28.51
Soggetto28	26.18	22.68	26.48	27.79	32.24
Soggetto29	27.33	22.77	27.26	28.16	30.09
Soggetto30	24.50	20.60	24.46	26.24	25.90
Soggetto31	27.26	21.80	25.60	26.56	28.65
Soggetto32	27.27	22.83	26.64	27.77	28.99
Soggetto33	25.68	23.18	25.82	27.33	27.85
Soggetto34	25.27	20.82	24.94	26.31	26.92
Soggetto35	30.14	24.27	29.87	30.09	31.08
Soggetto36	28.67	23.10	29.60	29.87	30.89
Soggetto37	29.87	25.67	30.47	30.54	38.70

Soggetto38	30.29	24.13	30.77	31.45	32.68
Soggetto39	29.13	22.82	29.72	29.66	31.58
Soggetto40	29.51	24.40	30.25	29.87	30.57
Soggetto41	28.14	26.70	29.59	29.73	30.94
Soggetto42	22.31	19.08	22.78	24.40	24.38
Soggetto43	32.67	29.65	33.14	33.21	40.03
Soggetto44	25.59	22.49	28.00	27.18	31.34
Soggetto45	23.86	21.25	22.87	24.85	24.57
Soggetto46	29.49	23.99	28.88	29.59	31.03
Soggetto47	31.74	27.04	31.52	32.46	32.91
Soggetto48	33.75	25.40	37.54	36.82	39.57
Soggetto49	26.35	18.06	31.50	32.67	37.41
Soggetto50	31.04	27.44	30.28	30.56	32.23

Tabella 3: Valori di T2* Globale (espresso in ms) per ogni segmentazione del Bi-esponenziale.

	Hippo	Biexp Smooth	Biexp Smooth MAP	Biexp Smooth MCMC	Biexp Smooth Kmeans
Soggetto1	23.40	22.58	23.09	25.66	25.68
Soggetto2	22.69	22.15	22.17	24.33	23.20
Soggetto3	25.94	22.09	26.14	26.62	27.24
Soggetto4	34.79	29.92	33.34	34.58	35.65
Soggetto5	27.89	24.09	27.69	28.40	28.78
Soggetto6	24.83	22.20	23.94	25.81	28.04
Soggetto7	21.18	20.21	20.61	23.04	21.68
Soggetto8	23.95	20.54	23.73	25.08	24.89
Soggetto9	20.28	20.87	20.01	21.42	20.66
Soggetto10	29.25	25.87	29.94	30.58	31.14
Soggetto11	31.15	26.52	27.35	30.90	28.99
Soggetto12	28.92	27.90	28.30	29.89	29.40
Soggetto13	20.60	20.47	18.93	20.77	19.91
Soggetto14	31.21	27.31	27.78	30.52	30.43
Soggetto15	28.26	22.09	25.37	28.43	27.95
Soggetto16	20.60	19.23	18.86	20.86	20.19
Soggetto17	24.93	22.82	21.86	24.77	23.18
Soggetto18	29.86	26.09	27.66	29.17	28.96
Soggetto19	25.38	23.13	23.39	25.56	24.11
Soggetto20	28.78	25.47	26.75	29.15	27.60
Soggetto21	31.59	28.95	32.15	33.45	33.28

Soggetto22	20.71	20.34	20.33	21.68	21.13
Soggetto23	30.65	26.85	29.72	30.43	31.64
Soggetto24	30.85	26.11	30.48	31.30	32.64
Soggetto25	28.34	23.81	26.61	28.45	31.15
Soggetto26	29.21	26.14	26.13	29.22	29.77
Soggetto27	27.24	24.32	25.69	27.60	27.70
Soggetto28	26.18	23.44	25.78	27.56	30.28
Soggetto29	27.33	24.26	25.59	27.99	25.43
Soggetto30	24.50	21.40	23.53	26.52	23.48
Soggetto31	27.26	22.49	25.13	26.89	27.03
Soggetto32	27.27	23.55	24.86	27.68	27.68
Soggetto33	25.68	24.45	24.94	27.47	26.01
Soggetto34	25.27	22.04	24.46	25.83	25.99
Soggetto35	30.14	26.36	28.39	29.15	28.76
Soggetto36	28.67	24.46	29.02	29.54	30.07
Soggetto37	29.87	28.00	30.10	30.79	32.34
Soggetto38	30.29	25.64	30.06	31.02	31.23
Soggetto39	29.13	25.17	28.28	29.15	29.93
Soggetto40	29.51	26.82	29.13	29.32	29.34
Soggetto41	28.14	28.42	28.64	29.76	29.94
Soggetto42	22.31	19.50	22.35	24.19	23.67
Soggetto43	32.67	31.03	32.71	33.49	34.58
Soggetto44	25.59	24.41	27.50	27.43	29.22
Soggetto45	23.86	22.11	22.05	25.13	22.82
Soggetto46	29.49	25.20	28.03	29.60	30.07
Soggetto47	31.74	28.24	30.69	31.94	32.15
Soggetto48	33.75	27.69	37.10	36.97	38.59
Soggetto49	26.35	17.52	31.63	33.61	34.17
Soggetto50	31.04	28.84	29.14	30.51	30.99

Tabella 4: Valori di T2* Globale (espresso in ms) per ogni segmentazione del Bi-esponenziale con Smoothing

	Hippo	Biexp	Biexp MAP	Biexp MCMC	Biexp Kmeans
Paziente1	10.92	11.04	11.15	11.96	12.00
Paziente2	16.93	21.04	16.67	17.10	17.37
Paziente3	8.33	8.46	9.17	9.63	10.01
Paziente4	4.09	5.23	3.33	4.62	4.46
Paziente5	3.07	5.74	5.79	4.76	14.66
Paziente6	22.79	19.48	21.39	22.50	23.43
Paziente7	14.71	13.88	14.15	14.72	14.94
Paziente8	14.36	9.01	13.67	14.88	14.79
Paziente9	14.94	14.14	14.05	15.26	14.62
Paziente10	15.87	15.14	15.34	16.17	17.75

Tabella 5: Valori di T2* Globale (espresso in ms) per ogni segmentazione del Bi-esponenziale.

	Hippo	Biexp Smooth	Biexp Smooth MAP	Biexp Smooth MCMC	Biexp Smooth Kmeans
Paziente1	10.92	11.17	11.18	12.11	11.64
Paziente2	16.93	20.40	16.82	17.52	17.30
Paziente3	8.33	8.71	9.07	9.79	9.67
Paziente4	4.09	6.46	3.52	4.77	3.84
Paziente5	3.07	5.40	4.56	5.19	14.37
Paziente6	22.79	20.04	18.17	22.48	23.45
Paziente7	14.71	13.93	13.93	14.98	14.96
Paziente8	14.36	9.93	13.84	15.20	14.53
Paziente9	14.94	14.13	13.98	15.15	14.28
Paziente10	15.87	15.48	15.27	16.51	16.94

Tabella 6: Valori di T2* Globale (espresso in ms) per ogni segmentazione del Bi-esponenziale con Smoothing

Bibliografia

- [1] A. Gennari, «analisiidelsangue.net,» 2022. [Online].
- [2] L. Sherwood, *Fundamentals of Human Physiology*, BrooksCole, 2011.
- [3] «gastroepato.it,» [Online].
- [4] E. Gangitano, S. Ginanni Corradini, C. Lubrano e L. Gnessi, «La Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, una patologia epatica di interesse,» 2021.
- [5] J. Dowman, J. Tomlinson e P. Newsome, «Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease,» 2010.
- [6] E. Buzzetti, M. Pinzani e E. Tsochatzis, «The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD),» 2016.
- [7] K. Cusi, A. Sanyal, S. Zhang, M. Hartman, J. Bue-Valleskey, B. Hoogwerf e A. Haupt, «Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) prevalence and its metabolic associations in patients with type 1 diabetes and type 2 diabetes,» 2017.
- [8] G. Marchesini, C. Day e J. Dufour, «EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease,» 2016.
- [9] A. Piperno, «La classificazione del sovraccarico di ferro,» 1998.
- [10] E. Fábrega-García, Á. Puente-Sánchez e J. Fortea Ormaechea, «Hemocromatosis,» 2024.
- [11] G. S. Canova, «nurse24.it,» 2021. [Online].
- [12] J. P. A. Hamilton, «Hereditary Hemochromatosis,» 2022.
- [13] A. Piperno, «La terapia ferrochelante nel trattamento del sovraccarico cronico di ferro,» 2008.
- [14] P. Sharma, M. Altbach, J.-P. Galons, B. Kalb e D. Martin, «Measurement of liver fat fraction and iron with MRI and MR spectroscopy techniques,» 2013.
- [15] «EpaC - Cirrosi Epatica,» [Online].
- [16] «Senologia Napoli,» 2021. [Online].
- [17] N. Schwenzer, F. Springer, C. Schraml, N. Stefan e F. Schick, «Non-invasive assessment and quantification of liver steatosis by ultrasound, computed tomography and magnetic resonance,» 2009.
- [18] C. Sirlin e S. Reeder, «Magnetic Resonance Imaging Quantification of Liver Iron,» 2010.
- [19] «Chirofisiogen Center,» [Online].

- [20] S. Reeder, E. Bice, H. Yu, D. Hernando e A. Pineda, «On the performance of T2* correction methods for quantification of hepatic fat content,» 2014.
- [21] C. Caussy, S. Reeder, C. Sirlin e R. Loomba, «Noninvasive, Quantitative Assessment of Liver Fat by MRI-PDFP as an Endpoint in NASH Trials,» 2018.
- [22] T. Yokoo, S. Serai, A. Pirasteh, M. Bashir e G. Hamilton, «Linearity, Bias, and Precision of Hepatic Proton Density Fat Fraction Measurements by Using MR Imaging: A Meta-Analysis,» 2018.
- [23] S. Reeder, H. Hu e C. Sirlin, «Proton Density Fat-Fraction: A Standardized MR-Based Biomarker of Tissue Fat Concentration,» 2012.
- [24] R. Longo, P. Pollesello, C. Ricci, F. Masutti e B. Kvam, «Proton MR spectroscopy in quantitative in vivo determination of fat content in human liver steatosis,» 1995.
- [25] A. Qayyum, «MR spectroscopy of the liver: principles and clinical applications,» 2009.
- [26] J. Lee, W. Dixon, D. Ling, R. Levitt e W. Murphy, «Fatty infiltration of the liver: demonstration by proton spectroscopic imaging,» 1984.
- [27] H. Eggers e P. Börnert, «Chemical shift encoding-based water–fat separation methods,» 2014.
- [28] S. Reeder, A. Pineda, Z. Wen e A. Shimakawa, «Iterative decomposition of water and fat with echo asymmetry and least-squares estimation (IDEAL): application with fast spin-echo imaging,» 2005.
- [29] S. Reeder, C. McKenzie e A. Pineda, «Water–fat separation with IDEAL gradient-echo imaging,» 2007.
- [30] Y. Gandon, D. Olivié e D. Guyader, «Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI,» 2004.
- [31] J. Mazé, G. Vesselle e G. Herpe, «Evaluation of hepatic iron concentration heterogeneities using the MRI R2* mapping method,» 2019.
- [32] S. Reeder, T. Yokoo, M. França e D. Hernando, «Quantification of Liver Iron Overload with MRI: Review and Guidelines from the ESGAR and SAR,» 2023.
- [33] K. Allen, L. Gurrin, C. Constantine e N. Osborne, «Iron-overload related disease in HFE hereditary haemochromatosis,» 2008.
- [34] J. Hankins, M. McCarville e R. Loeffler, «R2* magnetic resonance imaging of the liver in patients with iron overload,» 2009.
- [35] H. Yu, S. Reeder e C. McKenzie, «IDEAL Water-Fat Separation with Simultaneous T2*

- Estimation,» 2006.
- [36] D. Hernando, Y. Levin, C. Sirlin e S. Reeder, «Quantification of liver iron with MRI: State of the art and remaining challenges,» 2014.
- [37] J. Wood e N. Ghugre, «Magnetic resonance imaging assessment of excess iron in thalassemia, sickle,» 2008.
- [38] M. W. Garbowski, J.-P. Carpenter e G. Smith, «Biopsy-based calibration of T2* magnetic resonance for estimation of liver iron concentration and comparison with R2 Ferriscan,» 2014.
- [39] Q. Yan, «Attention-Guided Deep Neural Network With Multi-Scale Feature Fusion for Liver Vessel Segmentation,» 2021.
- [40] D. Wei, Y. Jiang, X. Zhou, D. Wu e X. Feng, «A Review of Advancements and Challenges in Liver Segmentation.,» 2024.
- [41] H. Donato, M. França e I. Candelária, «Liver MRI: From basic protocol to advanced techniques,» 2017.
- [42] B. Dale, M. Brown e R. Semelka, MRI: Basic Principles and Applications, John Wiley & Sons Inc, 2015.
- [43] M. Rohrer, H. Bauer e J. Mintorovitch, «Comparison of Magnetic Properties of MRI Contrast Media Solutions at Different Magnetic Field Strengths,» 2005.
- [44] C. Spritzer, M. Keogan e D. DeLong, «Optimizing fast spin echo acquisitions for hepatic imaging in normal subjects,» 1996.
- [45] R. Brown, Y.-C. Cheng e M. Haacke, Magnetic Resonance Imaging: Physical Principles and Sequence Design, Wiley-Blackwell, 1999.
- [46] S. Gambato, «T2 e T2* mapping miocardico con approccio segmentario quantitativo: valori di normalità, effetti dell'invecchiamento e differenze di genere,» 2021.
- [47] H. Yu e C. McKenzie, «Multiecho reconstruction for simultaneous water-fat decomposition and T2* estimation,» 2007.
- [48] K. Ringe e J. Yoon, «Strategies and Techniques for Liver Magnetic Resonance Imaging: New and Pending Applications for Routine Clinical Practice,» 2023.