

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

Corso di Laurea Magistrale in Bioingegneria

The seal of the University of Padua is a large, faint watermark in the background. It is circular and contains the Latin text 'UNIVERSITAS STUDII PAVANI' around the perimeter and 'MCCXXII' at the bottom. In the center, there is a shield with two figures: a woman on the left holding a wheel and a man on the right holding a book.

**Separazione delle sorgenti della suscettività
magnetica: studio dell'impatto delle metodologie
di stima del rilassamento trasversale.**

Relatore:

Prof. Marco Castellaro

Correlatrice:

Dott.ssa Agnese Tamanti

Laureando:

Riccardo Quirino

Anno Accademico 2022/2023

Abstract

Studiare la natura e lo stato dei tessuti cerebrali in-vivo è sempre di maggior utilità, soprattutto nei soggetti patologici. Utilizzare esami di risonanza magnetica permette non solo di ottenere delle immagini dettagliate del sistema nervoso, ma anche di effettuare delle stime sulla natura dei tessuti stessi, in particolare per individuare dei possibili marker che possano indicare lo stato di avanzamento di un disturbo neurodegenerativo. In quest'ottica, lo studio e l'analisi delle sorgenti di suscettività magnetica presenti all'interno del tessuto cerebrale risulta essere molto promettente e fornisce un ulteriore campo di ricerca. Le diverse sorgenti magnetiche positive e negative sono correlate alla presenza e alla natura delle lesioni del tessuto cerebrale nei casi di Sclerosi Multipla, dove avvengono fenomeni di demielinizzazione e alterazione dei processi di accumulo del ferro. Per questo riconoscere e distinguere queste sorgenti è di grande aiuto nel comprendere meglio i meccanismi di sviluppo della Sclerosi Multipla.

Il lavoro svolto in questa tesi ha il compito di utilizzare una pipeline alternativa per la stima della suscettività magnetica dei tessuti; nel far questo si è scelto di stimare la mappa T2 utilizzando una sequenza MWIGRASE, piuttosto che una sequenza MESE, ottenuta tramite fit monoesponenziale calcolato con l'ausilio del tool qMRLab.

Lo studio e la valutazione qualitativa e quantitativa dell'impatto della pipeline alternativa hanno mostrato risultati comparabili con quelle ottenibili utilizzando la procedura gold-standard, con il vantaggio di avere tempi di acquisizione più brevi e la possibilità di implementazione anche su dataset già acquisiti.

INDICE

CAPITOLO 1

INTRODUZIONE	4
1.1 Sclerosi Multipla	4
1.2 Tecniche di risonanza magnetica applicata alla Sclerosi Multipla	6
1.3 Scopo della Tesi	7

CAPITOLO 2

FONDAMENTI TEORICI	8
2.1. Principi Fisici	8
2.1.1. Tempi di Rilassamento	11
Sequenze	
2.2. Gradient Echo	13
2.3. Spin Echo	14
2.3.1. Dictionary Matching	17
2.4. Gradient and Spin-Echo	19
2.5. Suscettività Magnetica	21
2.5.1. Quantificazione della Suscettività	22
2.5.2. Separazione Suscettività Positiva e Negativa	25

CAPITOLO 3

MATERIALI E METODI.....	28
3.1. Ambiente di lavoro e Applicativi	29
3.2. Costruzione Matrici di Coregistrazione	30
3.3. Stima del tempo di Rilassamento Trasversale: Mappe R2, R2* e R2'	32
3.3.1. Stima della Suscettività Magnetica	32
3.4. Analisi Quantitativa	35

CAPITOLO 4

RISULTATI	37
Mappe	
4.1 MAPPE T2 e R2	37
4.2. MAPPE R2*	38
4.3. MAPPE R2'	39
Mappe Suscettività con Regolarizzazione	
4.4. Mappe suscettività Positiva con Regolarizzazione.....	40

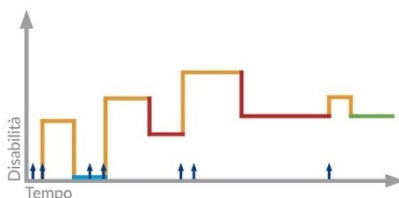
4.5. Mappe suscettività Negativa con Regolarizzazione	42
Mappe Suscettività con Rimozione Streaking Artifacts	
4.6. Mappe suscettività Positiva con Rimozione Streaking Artifacts	44
4.7. Mappe suscettività Negativa con Rimozione Streaking Artifacts	46
4.8. Confronto delle lesioni tra le varie mappe acquisite	48
5. CONCLUSIONE	49
6. BIBLIOGRAFIA	51

CAPITOLO 1

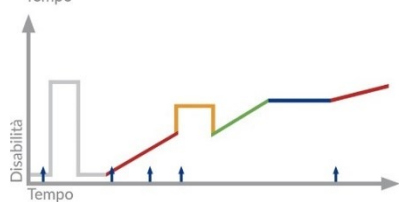
INTRODUZIONE

1.1 Sclerosi Multipla

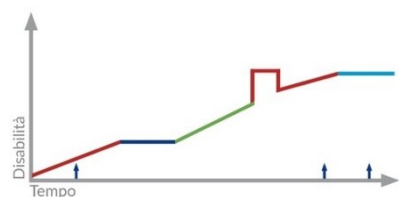
La Sclerosi Multipla (SM) è una patologia infiammatoria cronica che colpisce il sistema nervoso centrale, caratterizzata dalla perdita di mielina, processo che prende il nome di demielinizzazione. Questo fenomeno può avvenire anche in molteplici aree del cervello, generando delle lesioni, dette placche, che hanno l'aspetto di cicatrici (dette sclerosi). Nel dettaglio, la mielina è la guaina che riveste gli assoni dei neuroni e garantisce una conduzione efficace e veloce degli impulsi nervosi. Senza questa guaina mielinica, infatti, la velocità scende drasticamente fino quasi a interrompere del tutto la trasmissione dell'impulso nervoso, passando da circa 100 m/s in un soggetto sano fino a 5 m/s in un individuo affetto da sclerosi multipla. Ciò porta il soggetto ad avere un livello di disabilità che peggiora con l'avanzamento della patologia. Inoltre, i soggetti affetti da SM sono molto più inclini allo sviluppo di eventi epilettici, fino a 6 volte più frequenti rispetto alla media della popolazione, evidenziando come questa patologia sia invalidante anche sotto altri punti di vista oltre a quello motorio [3]. Le diverse caratteristiche della SM hanno portato ad una sua distinzione in 3 tipologie in base alla sua gravità ed il suo andamento rispetto al tempo:



SM Recidivante-Remittente: il soggetto evidenzia attacchi acuti separati da intervalli in cui recupera uno stato di salute completo. A volte però non si verifica il completo recupero e permane un livello di disabilità che peggiora le condizioni del soggetto.



SM Secondariamente Progressiva: si evolve dalla SM-RR e presenta periodi di peggioramento progressivo del paziente, episodi di ricadute e periodi in cui le condizioni rimangono stabili senza peggioramento.



SM Primariamente Progressiva: il soggetto evidenzia peggioramenti fin da subito e gli episodi di attacchi peggiorano le condizioni in modo permanente, senza recupero. Possono esserci periodi in cui il soggetto non peggiora e non presenta episodi di ricadute.

Poiché le cause sono ancora sconosciute, non esistono metodi di prevenzione, per questo si fa affidamento su una diagnosi il più precoce possibile, così da definire trattamenti mirati per il rallentamento e la riduzione dell'intensità delle fasi acute (definite anche ricadute). Proprio per l'importanza che ricopre una corretta e precoce diagnosi, le linee guida stabiliscono che si effettuino frequenti esami di risonanza magnetica soprattutto nei soggetti considerati a rischio di rapida progressione clinica o con comorbidità rilevanti. La demielinizzazione è un aspetto caratterizzante di questa patologia che determina la meno efficiente comunicazione tra le aree cerebrali in presenza delle lesioni (ma anche in zone di materia bianca apparentemente normale - NAWM), ma non è l'unica alterazione patologica che è stata evidenziata. Infatti, nei tessuti cerebrali di pazienti affetti da SM sono stati riscontrati infiammazione, alterazione nei meccanismi di accumulo di ferro, deterioramento assonale e processi di gliosi [5]. In particolare, la variazione dei livelli di ferro è stata collegata alla patogenesi sia della MS che dell'AD (Alzheimer Disease) e del PD (Parkinson's Disease) [18]. Una ipotesi non ancora del tutto verificata suggerisce che l'accumulo di ferro sia responsabile dei processi ossidativi che danneggiano i tessuti cerebrali. La particolarità del ferro e della mielina è che la loro suscettività magnetica è opposta, essendo il ferro una sostanza paramagnetica e la mielina invece una sostanza diamagnetica. Questa loro caratteristica fisica permette quindi di separare i due tipi di materiali, anche se questo risulta ancora piuttosto difficile in quanto gli effetti magneti generati coesistono e si compensano a vicenda. Indubbiamente, il vantaggio di usare tecniche sensibili precocemente a questi due fattori (demyelinizzazione e alterazione del contenuto di ferro), è che questo tipo di anomalie possono parzialmente essere rilevate e osservate ancor prima che ci siano delle lesioni visibili con le sequenze convenzionali. Inoltre, recenti studi hanno dimostrato che tali anomalie sono considerate parzialmente correlabili alle condizioni cliniche tipiche dei pazienti che hanno questa patologia [5].

1.2 Tecniche di risonanza magnetica applicata alla Sclerosi Multipla

Data la complessità delle alterazioni patologiche evidenziate nel tessuto cerebrale di pazienti affetti da sclerosi multipla, si è dimostrato efficace l'utilizzo di sequenze di acquisizione non convenzionale e metodologie di analisi come, ad esempio, il Quantitative Susceptibility Mapping (QSM) o Myelin Water Imaging (MWI). In particolare, si è dimostrato efficace l'utilizzo della tecnica QSM nell'investigare quelli che potrebbero essere i meccanismi tipici delle patologie neurodegenerative che presentano demielinizzazione e un accumulo di ferro nel tessuto cerebrale, nelle placche della Sclerosi Multipla e nel tessuto apparentemente normale. La particolarità del ferro e della mielina è che la loro suscettività magnetica è opposta, essendo il ferro una sostanza paramagnetica e la mielina invece una sostanza diamagnetica. Questa loro caratteristica fisica permette quindi di separare i due tipi di materiali, anche se questo risulta ancora piuttosto difficile in quanto gli effetti magneti generati coesistono e si compensano a vicenda. Nonostante la complessità del problema, l'interesse della comunità scientifica verso questo tipo di tecniche ha portato a sviluppare e implementare metodi per differenziare le sorgenti di suscettività positiva e negativa [23].

Indubbiamente, il vantaggio di usare tecniche sensibili precocemente a questi due fattori (demyelinizzazione e alterazione del contenuto di ferro), è che questo tipo di anomalie possono parzialmente essere rilevate e osservate ancor prima che ci siano delle lesioni visibili con le sequenze convenzionali. Inoltre, recenti studi hanno dimostrato che tali anomalie sono considerate parzialmente correlabili alle condizioni cliniche tipiche dei pazienti che hanno questa patologia [5].

1.3 SCOPO DELLA TESI

L'obiettivo di questo lavoro di tesi è indagare la possibilità di implementazione di una pipeline alternativa per la stima della suscettività magnetica (e della separazione della stessa in componente positiva e negativa) in pazienti affetti da SM. Lo scopo è quello di valutare e confrontare i risultati ottenuti seguendo la procedura proposta dallo studio di Hyeong-Geol Shin et al. con quelli ottenuti utilizzando un set di dati iniziali basati su sequenze di acquisizione diverse. In particolare, in [23] viene utilizzata per la stima del parametro R_2 , necessario per calcolare R_2' , la tecnica gold-standard, basata su sequenze Multi-Echo Spin-Echo (MESE). In questo lavoro si è scelto di valutare l'impatto che l'utilizzo di una sequenza per Myelin Water Imaging basata su Gradient and Spin Echo Readout (MWIGRASE) ha sulle stime delle mappe R_2 e successivamente all'applicazione dell'algoritmo di separazione, anche alle stime di suscettività positiva e negativa. Le sequenze MWIGRASE sono utilizzate da tempo nel campo della ricerca clinica sulla SM per quantificare il grado di demielinizzazione delle lesioni. La metodologia di separazione della suscettività permette di distinguere se in zone dove è presente la demielinizzazione è presente anche una alterazione tessutale dovuta alla deregolazione dell'accumulo di ferro. Se le stime ottenute con le due sequenze risultassero comparabili, sarebbe possibile utilizzare retrospettivamente le sequenze MWIGRASE disponibili su una corte di pazienti acquisiti presso l'azienda ospedaliera-universitaria integrata di Verona e di altri centri SM per ottenere mappe di suscettività positiva e negativa.

La pipeline di questo lavoro si divide nei seguenti step:

- Elaborazione delle sequenze MWIGRASE e MESE e stima della rispettiva mappa T_2
- Calcolo delle mappe R_2' utilizzando i dati delle due sequenze
- Stima della suscettività magnetica positiva e negativa seguendo il procedimento di Hyeong-Geol Shin et al.
- Ispezione Visiva dei Risultati e comparazione quantitativa su regioni di interesse

CAPITOLO 2

FONDAMENTI TEORICI

2.1. Principi Fisici

La risonanza magnetica sfrutta la capacità di eccitare i nuclei, in particolare quelli di idrogeno, perché i più abbondanti con uno spin magnetico rilevante, contenuti nei tessuti del corpo umano per generare un segnale e conseguentemente delle immagini che dipendono dalle caratteristiche del tessuto stesso. Quando viene applicato un campo magnetico esterno B_0 , il protone dei nuclei è caratterizzato da un moto di precessione ad una frequenza specifica detta “frequenza di Larmor”, definita come:

$$\omega_L = \gamma * B_0$$

Dove γ è il rapporto giromagnetico, in questo caso dell'idrogeno (con valore di 42.57 MHz/T), e B_0 è il campo magnetico esterno applicato. La rotazione del nucleo di idrogeno avviene attorno un asse casuale finché non viene applicato un campo magnetico esterno B_0 . In presenza di B_0 invece, l'asse magnetico del nucleo di idrogeno si allinea a quello del campo magnetico ed il momento magnetico del nucleo può avere orientazione uguale oppure opposta a quella del campo magnetico applicato B_0 . La somma risultante di tutti i vettori di momento magnetico dei nuclei definisce il vettore di magnetizzazione di un tessuto (M_0). All'interno di un tessuto biologico, in condizioni di riposo, i momenti magnetici sono orientati casualmente, per cui la magnetizzazione netta M_0 è nulla. Tale magnetizzazione cambia e diventa diversa da zero quando viene applicato un campo magnetico esterno B_0 . In assenza di perturbazioni, il vettore M_0 è allineato al campo magnetico esterno e giace interamente lungo la direzione di B_0 (detta per convenzione direzione longitudinale). Durante un'acquisizione di risonanza magnetica, oltre al campo magnetico esterno B_0 viene anche generato e applicato un impulso in radiofrequenza (RF) accoppiato, caratterizzato dalla stessa frequenza di precessione ω_L ; l'accoppiamento di tale frequenza permette il trasferimento efficiente di energia dalle bobine di trasmissione al tessuto: questo fenomeno è detto risonanza magnetica. Quest'impulso è costituito da un campo elettro-magnetico oscillante e ortogonale a B_0 , molto piccolo rispetto a B_0 , di circa qualche decina di mT e della durata di pochi millisecondi, detto B_1 . Questo impulso RF fa sì che il vettore di magnetizzazione netta non sia più allineato lungo l'asse longitudinale, ma ruoti di un certo angolo detto “Flip-Angle”, le cui proiezioni si possono

individuare come componenti distinte: il vettore di magnetizzazione longitudinale M_z e il vettore di magnetizzazione trasversale M_{xy} . La rotazione della magnetizzazione netta dipende dall'intensità del campo B_1 e dalla durata di applicazione dello stesso. Se il *flip-angle* è di 90° , si ha il ribaltamento completo del vettore M_0 sul piano trasversale xy ed in questo caso la componente longitudinale M_z viene totalmente convertita nella componente trasversale M_{xy} .

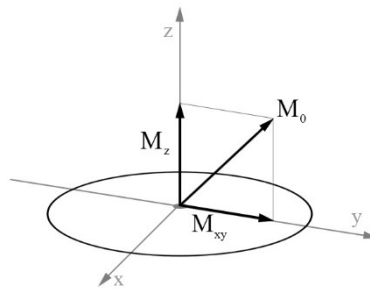


Figura 1: vettore di magnetizzazione netta M_0 e sue componenti, longitudinale M_z e trasversale M_{xy} .

Anche se ruotato di un angolo α , il vettore di magnetizzazione netta continua il suo moto di precessione attorno all'asse di orientazione del campo magnetico B_0 , alla frequenza di Larmor ω_L , generando una corrente indotta nelle bobine di ricezione dello scanner di risonanza magnetica, dette "Receiver Coil". Il segnale registrato è il Free Induction Decay (FID) e persiste finché si ha la componente di magnetizzazione trasversale M_{xy} diversa da zero. Quando l'impulso RF viene interrotto, gli spin dei nuclei subiscono uno sfasamento e la componente M_{xy} decade fino ad annullarsi; contemporaneamente la componente M_z si ripristina, finché il vettore di magnetizzazione netta M_0 non torna ai valori iniziali, prima dell'impulso RF. Le equazioni che descrivono l'andamento di queste due componenti sono:

$$M_z(t) = M_0 * (1 - e^{-t/T1})$$

$$M_{xy}(t) = M_0 * e^{-t/T2}$$

T1 è definito come il tempo di rilassamento della componente longitudinale e T2 è il tempo di rilassamento della componente trasversale.

2.1.1. Tempi di Rilassamento

T_1 è il periodo di tempo necessario per recuperare circa il 63% della magnetizzazione netta M_0 [3] dopo che è stato applicato un impulso RF con flip-angle di 90° .

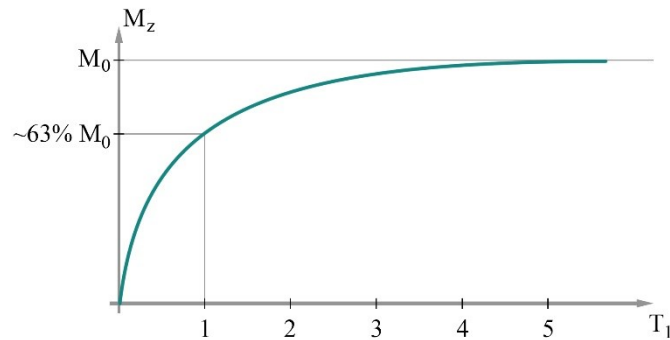


Figura 2: ripristino della componente longitudinale M_z che avviene con un tempo di rilassamento longitudinale T_1

T_2 invece definisce il tempo necessario affinché si abbia il decadimento della componente trasversale M_{xy} di circa il 63%.

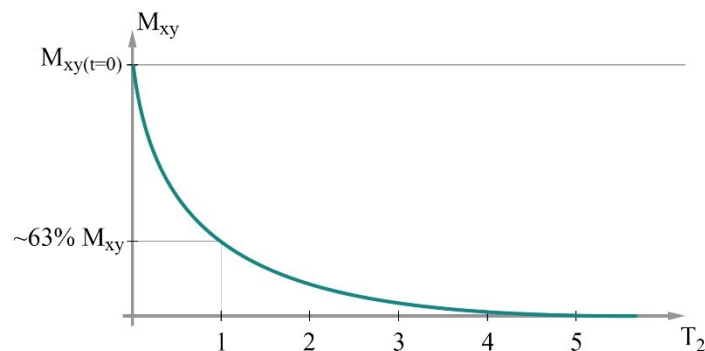


Figura 3: decadimento della componente trasversale M_{xy} che avviene con un tempo di rilassamento trasversale T_2

Il rilassamento trasversale è il risultato dello sfasamento degli spin che può essere causato principalmente da due fattori:

- Fattori reversibili: le disomogeneità di campo magnetico B_0 e le variazioni della suscettività magnetica di un tessuto sono tempo-invarianti e causano uno sfasamento degli spin che può essere recuperato con un impulso di refocusing a 180° .

Il decadimento della componente M_{xy} che subisce solamente gli effetti di questi fattori è descritto dal tempo T_2' .

- Fattori irreversibili: le interazioni spin-spin sono casuali e dipendono dal tempo, non sono costanti e variano in continuazione; le loro fluttuazioni influiscono sul campo magnetico degli spin adiacenti, modificando la loro frequenza di precessione.

Questo tipo di sfasamento degli spin non può essere recuperato e quindi porta ad un inevitabile decadimento del segnale. Il tempo di decadimento T_2 puro descrive il rilassamento trasversale dovuto a questi fattori.

Quando la sequenza di acquisizione non prevede l'uso di impulsi di refocusing, il decadimento trasversale della componente M_{xy} subisce gli effetti di entrambi i fattori ed il tempo di rilassamento complessivo è T_2^* la cui relazione con T_2 e T_2' risulta:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_2'}$$

Nel dettaglio è possibile esprimere $1/T_2'$ come:

$$1/T_2' = \gamma * \Delta B_{dis}$$

Dove γ è il rapporto giromagnetico, mentre ΔB_{dis} rappresenta la variazione del campo magnetico B dovuta alle disomogeneità presenti in un voxel [4]. Quando il segnale decade con un tempo di rilassamento T_2^* , il valore della componente trasversale M_{xy} è definito come:

$$M_{xy}(t) = M_0 * e^{-t/T_2^*} * (\cos \omega_0 t)$$

Il valore di questi tempi di rilassamento è strettamente legato al tipo di tessuto ed alla relativa suscettività magnetica, poiché in base alla magnetizzazione iniziale ed alla struttura della materia, i nuclei interni subiranno uno sfasamento diverso del moto di precessione al termine dell'applicazione dell'impulso in radiofrequenza.

2.2. Gradient Echo

La sequenza Gradient Echo utilizza l'applicazione di gradienti di campo magnetico per manipolare il segnale FID. Inizialmente si applica un gradiente negativo che ha il compito di sfasare gli spin; ciò causa una attenuazione del segnale FID che decade molto più velocemente. Dopodiché viene applicato un secondo gradiente, detto "gradiente di readout", questa volta positivo, con il quale si recupera la fase degli spin in modo da rigenerare il segnale; ciò produce un segnale detto di Echo rilevabile. La peculiarità della sequenza GRE rispetto alla sequenza Spin Echo sta nella capacità di refocusing dei soli spin che erano stati precedenti sfasati dal gradiente negativo. Ciò significa che la sequenza GRE non è in grado di correggere gli sfasamenti dovuti alle disomogeneità del campo magnetico e alle variazioni di suscettività magnetica dei tessuti che causano delle alterazioni nella frequenza di Larmor determinata dal campo magnetico locale. Per questo il decadimento del segnale è più veloce rispetto alla sequenza Spin Echo ed è definito dal tempo di rilassamento $T2^*$. Il segnale così generato da una sequenza Gradient Echo decade più velocemente e ciò comporta la necessità di utilizzare un valore TE più breve per riuscire a registrare un segnale con intensità sufficiente. Il valore del TE rappresenta l'intervallo di tempo tra l'applicazione dell'impulso RF ed il valore massimo del segnale dopo l'applicazione del gradiente positivo [8].

Acquisire un Gradient Echo piuttosto che un segnale FID puro permette di avere un'immagine "Magnitude" di più alta qualità. Ciò avviene solo se si applicano entrambi i tipi di gradiente, il dephasing ed il refocusing [20].

2.3. Spin Echo

Una sequenza Spin Echo standard prevede l'applicazione di un impulso RF con flip angle di 90° per generare il segnale FID, seguito poi da un secondo impulso, detto di refocusing, a 180° . Quest'ultimo impulso è in grado di correggere gli effetti detti "reversibili", come lo sfasamento degli spin dovuto alle disomogeneità di campo magnetico e alle variazioni locali della suscettività magnetica. La reversibilità di alcuni dei fenomeni che portano al decadimento del segnale FID permette, in pratica, di recuperare il segnale stesso utilizzando il secondo impulso che, ruotando gli spin di 180° lungo un asse, fa sì che essi recuperino lo sfasamento. In questo modo si ottiene il refocusing della magnetizzazione trasversale M_{xy} , generando quindi un segnale Echo registrabile. Il segnale presenta un picco massimo di intensità nel momento in cui tutti gli spin hanno recuperato la fase, che avviene al tempo TE [15].

Proprio perché l'utilizzo del secondo impulso di refocusing recupera lo sfasamento introdotto dagli effetti statici e reversibili dovuti alle disomogeneità di campo magnetico e alle variazioni di suscettività, le acquisizioni effettuate tramite sequenza Spin Echo sono esenti dagli artefatti introdotti da questi fattori. Infatti, solo acquisendo una sequenza Spin-Echo, è possibile osservare il tempo di rilassamento trasversale T2 puro, caratterizzato da un decadimento della magnetizzazione trasversale M_{xy} più lento rispetto al tempo di rilassamento trasversale effettivo $T2^*$ rilevato dalle acquisizioni Gradient-Echo.

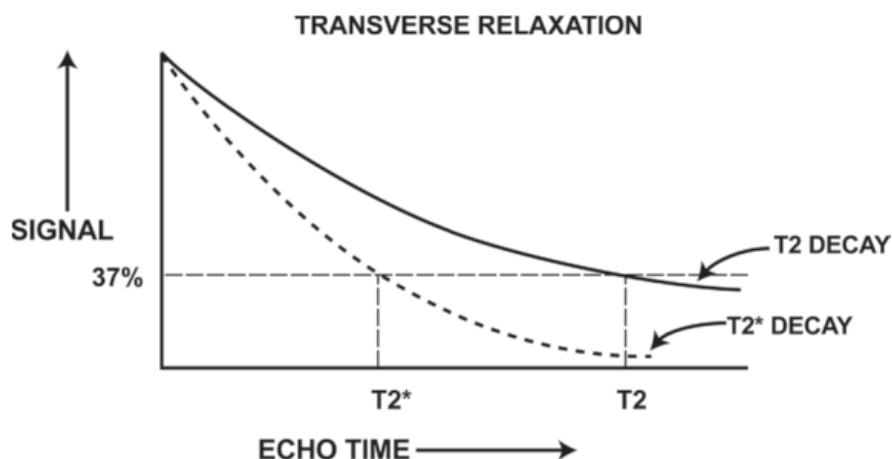


Figura 4: il tempo di rilassamento trasversale T2 puro è più lungo rispetto a T2* . [4]

Le sequenze Spin-Echo possono generare immagini con pesatura T1 e T2, ma sono usate principalmente per generare immagini T2-weighted. La loro applicazione però prevede tempi piuttosto lunghi rispetto ad una sequenza Gradient-Echo, infatti le sequenze Spin-Echo hanno un basso rapporto tra il numero di immagini acquisite (che avviene ad ogni Echo registrato) ed il numero di impulsi di eccitazioni, cioè $TE/TR \sim 2$ [15]. Questo è dovuto all'attesa del tempo di rilassamento longitudinale T1, necessaria affinché la magnetizzazione M_z recuperi il proprio valore iniziale. È possibile ottimizzare le tempistiche e aumentare l'efficienza delle sequenze Spin-Echo acquisendo più di una slice a seguito di un singolo impulso di eccitazione. In questo tipo di sequenze, chiamate Fast Spin-Echo o Turbo Spin-Echo (FSE/TSE), il numero di slice che possono essere acquisite dipende dai tempi di ripetizione TR e tempo di echo TE, ad esempio per un'acquisizione T2-weighted, con TR = 500ms e TE = 15ms, è possibile ottenere circa 33 slice durante l'intervallo tra un impulso di eccitazione e l'altro [15]. Questo aspetto della Spin-Echo è affiancato anche dal fatto che la sua implicita insensibilità alle disomogeneità di campo magnetico e variazioni di suscettività magnetica tra i vari tessuti fa sì che non ci sia perdita di segnale in particolari regioni, come ad esempio in quelle dove si ha la presenza di aria, tipo il setto nasale o nella prima parte del cavo orale [4].

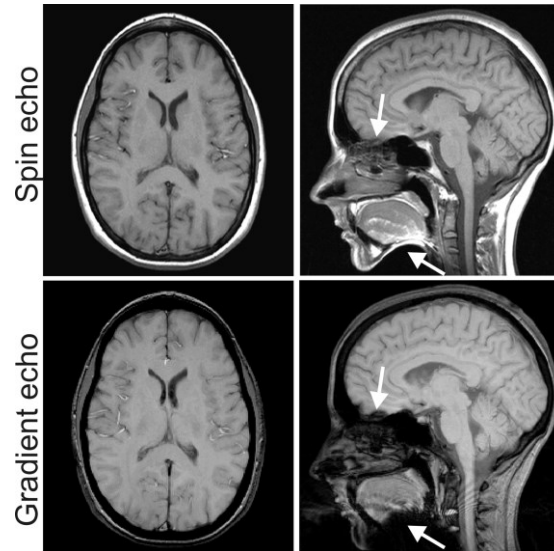


Figura 5: Si notano aree di assenza di segnale nelle acquisizioni Gradient Echo, fenomeno che non avviene invece nelle immagini acquisite tramite Spin-Echo [4].

Inoltre, è opportuno tenere in considerazione anche la quantità di energia a cui viene sottoposto il soggetto durante l'esame di risonanza magnetica valutata dal tasso di assorbimento specifico (SAR). Poiché questo tipo di sequenze Spin-Echo e sue derivate prevede l'applicazione di numerosi impulsi RF ad alta energia (sia per l'eccitazione che per il refocusing), si ha il rischio che il soggetto presenti un aumento di temperatura indotto in zone specifiche che possono compromettere la sicurezza del soggetto stesso.

Infine, con le sequenze Spin-Echo, è possibile acquisire immagini a diversi tempi di echo per descrivere il decadimento del segnale e stimare il tempo di rilassamento trasversale T2. Queste sequenze multi-echo spin-echo (MESE), acquisendo volumi multipli a diversi tempi di echo nella stessa eccitazione risentono di contaminazione del segnale dovuti ad echi stimolati [12]. Per questo motivo, tecniche come il Dictionary Matching sono state implementate per migliorare l'accuratezza delle stime del tempo di rilassamento T2.

2.3.1. Dictionary Matching

Questa tecnica effettua il matching tra il segnale ottenuto con le sequenze Multi Spin-Echo e un dizionario precedentemente calcolato di Echo-Modulation Curves (EMC). Le EMC vengono ottenute iterando le simulazioni di Bloch usando un range di valori per T2 e B_1^+ , dove quest'ultimo è la componente del campo magnetico B_1 effettivamente responsabile per la rotazione del vettore della magnetizzazione netta, perché ruota nella stessa direzione di precessione dei nuclei di idrogeno. Ogni iterazione della simulazione genera una EMC di un impulso Single-Echo. Il range di valori usato per T2 è da 1ms a 400ms con step di 5ms, da 300ms; per il campo B_1^+ invece si passa dal 65% al 135%, dove il 100% è considerato il campo B_1^+ privo di disomogeneità. Questo dizionario raccoglie e descrive il decadimento delle curve del segnale e ogni curva individua un'unica coppia di parametri [T2, B_1^+]. Durante la procedura di matching, il segnale MESE acquisito sperimentalmente, contenuto nei pixel (pixel-wise MESE signal), viene confrontato con le singole EMC simulate, finché non si trova il match migliore. Nel dettaglio, si vuole stimare il set di parametri T2 e B_1^+ che massimizza la probabilità a posteriori del segnale osservato sperimentalmente S ed un'omogeneità spaziale a priori:

$$\hat{\theta} = \operatorname{argmax} p(\theta|S)$$

Il problema di massimizzazione della stima del set di parametri $\hat{\theta}$ può essere riscritto come un problema di minimizzazione della seguente funzione energia:

$$E(\theta) = \sum_v \varphi(S_v, \theta_v) + \sum_{vp \sim vq} \Psi(\theta_{vp}, \theta_{vq})$$

dove θ indica il set di parametri T2 e B_1^+ , S è il segnale osservato sperimentalmente e vp e vq sono i voxel vicini nell'intorno selezionato. I termini $\varphi(S_v, \theta_v)$ e $\Psi(\theta_{vp}, \theta_{vq})$ rappresentano rispettivamente la fedeltà ai dati e l'omogeneità spaziale. Nel dettaglio possono essere definite come:

$$\varphi(S_v, \theta_v) = -\log p(S_v|\theta_v) \text{ con } p(S_v|\theta_v) \propto \left[S^T S - \frac{(S^T m)^2}{m^T m} \right]^{-\frac{N}{2}}$$

Dove m è il segnale più probabile ottenuto con il dizionario EMC, N è il numero di echi registrati (echotrain).

$$\Psi(\theta_{vp}, \theta_{vq}) = \alpha W |\theta_{vp} - \theta_{vq}|$$

In questo caso α rappresenta un parametro che definisce il compromesso tra l'omogeneità spaziale e la fedeltà ai dati, dando più peso ad uno o all'altro.

Per T2 si prevede una distribuzione che sia smooth almeno nello stesso tipo di tessuti, mentre B_1^+ si prevede che sia smooth su tutto lo spazio. La stima dei parametri viene fatta definendo il residuo $\varepsilon = m - S$ con m il segnale più probabile ottenuto con il dizionario EMC. Successivamente si definisce il ricampionamento $S^*(\theta) = m + t\varepsilon$, con variabile casuale di una normal distribution. Durante l'iterazione, il set di parametri precedente è definito da θ^0 mentre il set di parametri attuali è definito θ^1 . Quest'ultimo viene ottenuto dai valori medi delle curve EMC del dizionario applicate al segnale ricampionato S^* . L'algoritmo FMBS prevede la fusione tra questi due set di parametri tramite un graph-cut binario [17] [11]. Nell'iterazione successiva, il set di parametri ottenuto θ^* può essere considerato come il set di partenza θ^0 .

Il match con una EMC individua i parametri di T2 e B_1^+ usati per stimare la mappa T2. Uno dei vantaggi del Dictionary Matching è che non necessita di ulteriori elaborazioni e può essere eseguito anche una sola volta, a parità di sequenza di acquisizione. La sua applicazione permette una stima più accurata delle mappe T2. Inoltre non richiede la conoscenza accurata di T1, in particolare quando si usano impulsi di refocusing con flip-angle molto alti (ad esempio 180°) in quanto gli effetti T1 sono trascurabili sulle EMC.[12] [1][2]

2.4. Gradient and Spin-Echo

Questa sequenza di acquisizione cerca di unire i vantaggi di entrambe le tecniche precedentemente trattate; operativamente vengono utilizzati molteplici impulsi RF di refocusing, tipici delle sequenze FSE, ognuno dei quali susseguito da gradienti readout, tipici delle sequenze GRE. La presenza di molteplici impulsi RF a 180° garantisce che ci sia un continuo refocusing degli spin, permettendo quindi di ridurre notevolmente gli effetti dovuti alle disomogeneità del campo magnetico.

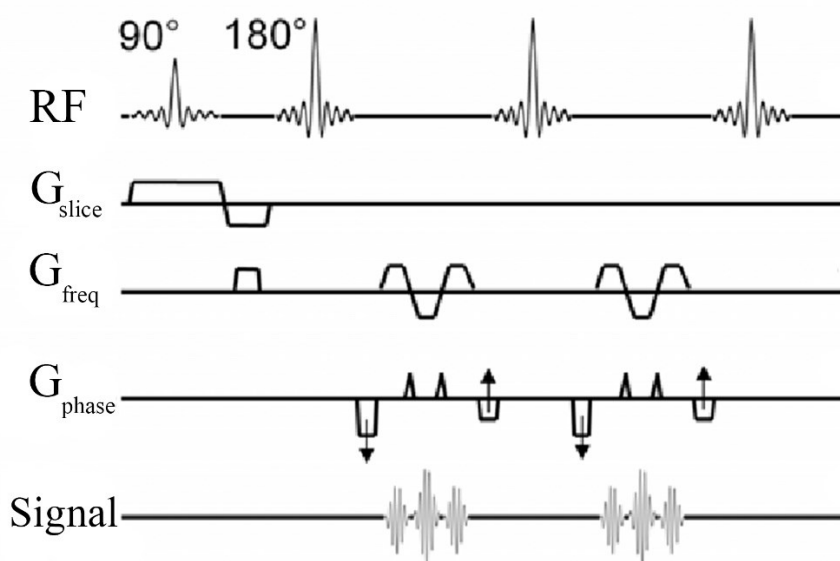


Figura 6: sequenza di acquisizione GRASE con la serie di impulsi RF, l'applicazione dei gradienti per la selezione della slice, la codifica in frequenza e codifica della fase; l'ultimo è il segnale registrato ed i rispettivi echi.

La procedura di acquisizione con sequenze GRASE permette di ottenere immagini pesate T2 in tempi relativamente brevi [10], dimostrandosi una valida alternativa alle più lunghe sequenze FSE/TSE in cui, il rischio legato all'aumento di SAR determinato dai molteplici impulsi di refocusing, spesso pone un limite minimo al tempo TR.

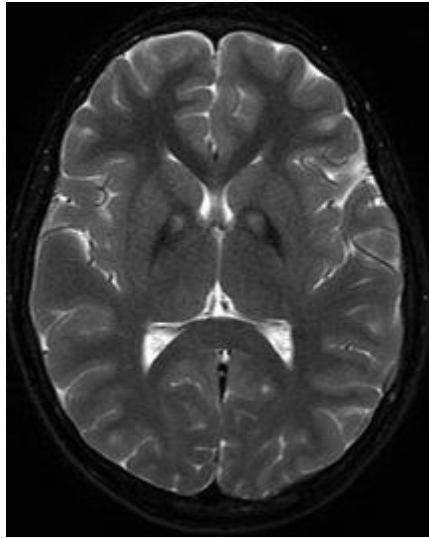


Figura 7: esempio di un'acquisizione con sequenza GRASE

La sequenza GRASE può essere utilizzata nelle tecniche di MWI (Myelin Water Imaging), essendosi dimostrata molto utile per le sue tempistiche ridotte rispetto alle tipiche sequenze MESE, permettendo quindi di inserire questo tipo di analisi anche in un contesto clinico, altrimenti impraticabile per via del lungo tempo di acquisizione richiesto. Difatti questo tipo di sequenza permette di ottenere una copertura quasi totale del cervello in meno di 15 minuti [22] ed i relativi risultati per le mappe Myelin Water Fraction (MWF) sono in linea con quelli ottenuti tramite sequenze MSE più lunghe, mostrando anche una qualità maggiore in alcuni casi, avendo meno rumore e meno artefatti dovuti ad effetti di flusso, come il CSF flow. La presenza dei gradienti ha comunque introdotto una perdita di segnale, riducendo il Signal-to-Noise Ratio (SNR), a causa del tempo di rilassamento trasversale $T2^*$. Questo porta ad avere immagini più smooth, con un livello di dettaglio inferiore.

Usare questo tipo di sequenze piuttosto veloci, però, può portare ad essere limitati dal valore del tempo di rilassamento trasversale $T2$ del CSF, che impone un limite minimo per il TR. Sequenze molto veloci, utilizzano valori TR di circa 1000ms, a volte troppo basso rispetto al valore $T2$ del fluido cerebrospinale, con il rischio di ottenere un ridotto livello di quantificazione per quei tessuti che hanno un tempo di rilassamento trasversale più lungo.

2.5. Suscettività Magnetica

La Suscettività Magnetica (χ) è una proprietà intrinseca di un materiale che definisce la capacità che hanno i tessuti di magnetizzarsi quando immersi in un campo magnetico esterno e definisce l'orientamento del vettore della propria polarizzazione magnetica quando il materiale stesso è immerso in un campo magnetico. Per questo motivo, questa grandezza riveste un ruolo di grande importanza per le acquisizioni tramite risonanza magnetica. Quando viene applicato un campo magnetico esterno, i materiali si dicono diamagnetici se presentano il vettore di magnetizzazione interna orientato nel verso opposto a quello del campo magnetico. In questi casi, si ha una diminuzione del campo magnetico stesso localmente al materiale o tessuto e per questo la loro suscettività magnetica è definita negativa ($\chi < 0$). Viceversa, immersi in un campo magnetico, i materiali si dicono paramagnetici se il loro vettore di magnetizzazione interna è allineato ed ha lo stesso verso del campo magnetico applicato. Questo fa sì che si verifichi un'amplificazione del campo magnetico e la suscettività magnetica in questo tipo di materiali è definita positiva ($0 < \chi \ll 1$). L'equazione per definire la suscettività magnetica è:

$$\chi = M/B_0$$

dove M è il vettore della magnetizzazione interna del materiale e B_0 è il campo magnetico esterno applicato.

La maggior parte dei tessuti biologici ha una suscettività magnetica simile a quella dell'acqua (circa -9×10^{-6}) [21] e sono considerati diamagnetici, con alcune particolari eccezioni in specifici tessuti nei quali si hanno piccoli accumuli di ferro. Alcune sequenze di acquisizioni MRI risultano sensibili a questa disomogeneità nella distribuzione della suscettività magnetica tra i tessuti. È stato riscontrato che la presenza di livelli di ferro più alti ha la diretta conseguenza di generare gradienti di campo magnetico e fa sì che aumenti la suscettività magnetica del tessuto. In particolare da analisi istologiche si è notato che questi livelli di ferro sono più elevati nei tessuti adiacenti le placche dove è avvenuta la demielinizzazione potrebbe avere un ruolo patogenetico legato a processi infiammatori [18] [13] [24].

2.5.1. Quantificazione della Suscettività

Utilizzando acquisizioni MRI è possibile quantificare la suscettività magnetica dei tessuti usando il Quantitative Susceptibility Mapping, tramite il quale è possibile investigare sulle variazioni che i tessuti a causa della Sclerosi Multipla. L'approccio con QSM si è dimostrato valido in particolar modo se confrontato con le altre tecniche utilizzate per lo studio e l'analisi della suscettività magnetica, come ad esempio l'utilizzo del rate di rilassamento trasversale $R2^*$ oppure il Susceptibility Weighted Imaging; il QSM è in grado di quantificare la suscettività magnetica dei materiali paramagnetici e diamagnetici usando valori positivi e negativi rappresentati rispettivamente da iperintensità e ipointensità nelle mappe stimate [14]. Inoltre, con il QSM è possibile inferire sulla suscettività magnetica di sostanze considerate paramagnetiche come il ferro (ferritina) e la deossiemoglobina e anche di sostanze considerate diamagnetiche, come ad esempio la mielina, l'ossiemoglobina e calcificazioni.

Il QSM sfrutta la variazione dei campi magnetici locali dovuti alla presenza di materiale paramagnetico o diamagnetico; immerso in un campo magnetico statico, un materiale paramagnetico genera un aumento del campo magnetico lungo la direzione di quello statico, mentre lungo la direzione trasversale si ha una sua diminuzione. Per questo motivo, in presenza di materiale paramagnetico, il campo magnetico aumenta, viceversa se si ha un materiale diamagnetico, il campo diminuisce [14].

Considerando che la suscettività magnetica dei tessuti cerebrali dipende non solo dalla presenza di materiale paramagnetico, ma anche dal contributo diamagnetico della mielina, il QSM è una tecnica sensibile alle alterazioni che caratterizzano le lesioni della sclerosi multipla, essendo in grado di considerare l'effetto risultante dalla presenza di entrambi i tipi di materiali. Demielinizzazione e accumulo di ferro, invece, hanno un effetto sul rate di rilassamento trasversale $R2^*$: la demielinizzazione riduce il valore del rate, mentre l'accumulo di ferro lo aumenta, andando quindi ad annullare gli effetti [16]. Per effettuare correttamente un'acquisizione tramite QSM occorre prima ottenere un'immagine Gradient Echo tridimensionale. Dalle immagini così ottenute è opportuno estrarre solo le regioni di interesse prima di calcolare il QSM, al fine di evitare che ci siano grosse variazioni di frequenza dovute alla presenza di aria o di materiale acquoso e

osseo. Un ulteriore step di pre-processing molto importante è il Phase Unwrapping, che riguarda il problema di dover ripristinare la fase del segnale quando questa eccede il range $[-\pi, +\pi]$. In questo caso, in presenza di un valore di fase che ha superato il range stabilito, la procedura di unwrapping prevede di aggiungere 2π nel caso in cui la fase abbia superato il limite superiore e sia passata da $+\pi$ a $-\pi$ (wrapping con direzione negativa), mentre nel caso in cui la fase ha superato il limite inferiore ed il passaggio sia avvenuto da $-\pi$ a $+\pi$ (wrapping con direzione positiva), il valore 2π viene sottratto [6].

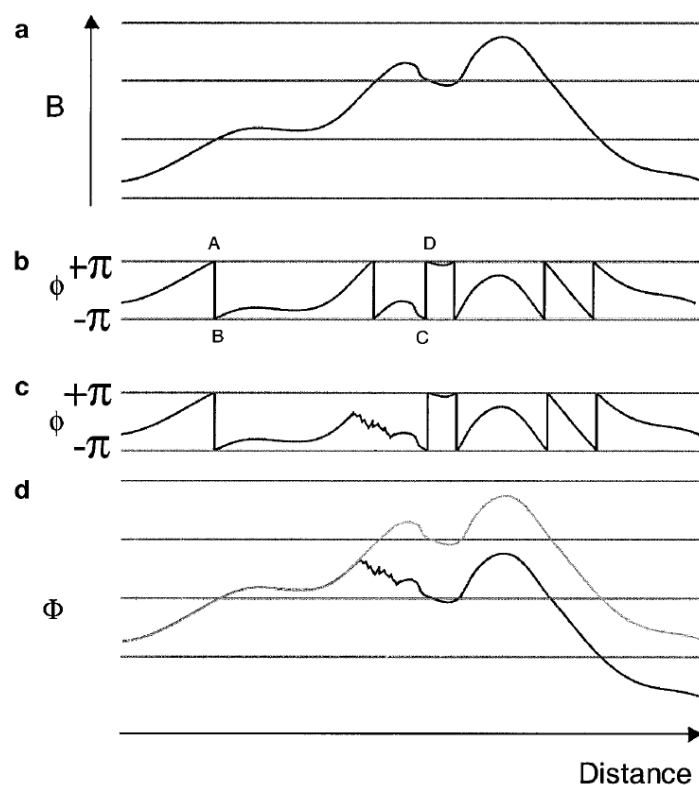


Figura 8: si nota come la fase del segnale **B** superi più volte l'estremo superiore e inferiore del range $[-\pi, +\pi]$ (a). Per questo la fase subisce un *wrapping* (b) in modo tale che rimanga sempre all'interno del range fissato, facendo dei "salti" in direzione positiva (dal punto A a B) oppure in direzione negativa (dal punto C a D). Si nota come la presenza di rumore (c) inferisce negativamente sulla ricostruzione finale della fase (d).

Lo step di unwrapping della fase viene eseguito all'interno di un voxel relativamente al voxel adiacente, considerando i lenti cambiamenti della fase rispetto allo spazio.

Con la tecnica QSM si vuole rilevare quelle che sono le variazioni locali di campo magnetico per inferire sulla suscettività del tessuto, ma occorre tenere in considerazione

che le variazioni del campo magnetico B_0 dipendono anche da specifiche perturbazioni derivanti da fonti esterne o posizionate nelle zone di interfaccia con il tessuto. Per questo possiamo descrivere la variazione del campo magnetico B_0 come:

$$\delta B_0 = \delta B_s + \delta B_p$$

δB_s rappresenta la variazione derivante dalla suscettività magnetica del tessuto, mentre δB_p indica la variazione dovuta alle perturbazioni indotte da fonti esterne. Con Background Field si indica la risultante dei contributi al campo magnetico proveniente dall'esterno della zona di interesse ROI, può anche essere generato dalla presenza di cavità di aria o zone d'interfaccia tra aria e tessuto, è un elemento di disturbo che deve essere eliminato al fine di avere una corretta quantificazione della suscettività magnetica tramite QSM. Per la rimozione del Background Field, sono stati utilizzati diversi approcci come, ad esempio, un filtraggio passa-alto per eliminare le componenti a bassa frequenza tipiche del Background Field, anche se questo metodo porta inevitabilmente alla rimozione di componenti a bassa frequenza del tessuto. Per questo sono stati adottati approcci diversi e più efficaci come il Sophisticated Harmonic Artifact Reduction in Phase (SHARP) o il Projection onto Dipole Field (PDF), utilizzato nel presente lavoro di tesi. L'approccio tramite PDF si basa sul concetto che, presa una regione d'interesse (ROI), è possibile definire il campo magnetico locale (\mathbf{B}_L) generato da una suscettività magnetica distribuita all'interno di questa ROI ed anche il campo magnetico (\mathbf{B}_B) generato da un'altra suscettività magnetica distribuita nel background della ROI, cioè all'esterno. Questi due campi magnetici si diffondono oltre i confini della ROI, per cui all'esterno si avrà l'influenza del campo \mathbf{B}_L e all'interno della ROI si avrà l'influenza del campo di background esterno \mathbf{B}_B . Quindi il campo magnetico complessivo rilevato è la somma di queste due componenti:

$$\mathbf{B}_0 = \mathbf{B}_L + \mathbf{B}_B$$

Per applicare la rimozione del background field, si deve verificare che ci sia ortogonalità tra il campo generato da un dipolo locale (quindi intero alla ROI) ed il campo generato da un dipolo appartenente al background field, all'esterno della ROI. Definito L come il sottospazio generato dai dipoli locali e \mathbf{B}_B come il sottospazio generato dai dipoli situati nel background, se $L \perp \mathbf{B}$ e se $\mathbf{B}_L \perp \mathbf{B}$ allora \mathbf{B}_B può essere stimato come il valore che minimizza:

$$\operatorname{argmin}_{B_E} \|B - B_E\|$$

L'ortogonalità viene verificata dal valore che assume il prodotto interno tra un campo generato da un dipolo locale e quello generato da un dipolo del background. Se il valore è nullo, l'ortogonalità è confermata. Questo è stato sperimentalmente provato, con valori tendenti allo zero per tutti i voxel tranne in quelli posti entro una distanza di 5 voxel dal bordo della ROI [19].

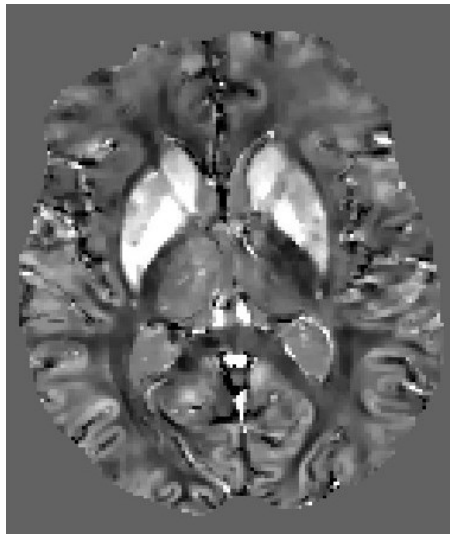


Figura 9: esempio immagine QSM, in particolare è presentata la slice 80 del soggetto A, con range tra $[-0.1; 0.1]$ ppm.

2.5.2. Separazione Suscettività Positiva e Negativa

Considerando un volume di interesse, al suo interno è possibile trovare dei tessuti che hanno caratteristiche magnetiche diverse, per cui potrebbero essere presenti tessuti paramagnetici e diamagnetici. Una delle particolarità della tecnica QSM è quella di considerare la risultante tra tutti i contributi proveniente da fonti magnetiche, ma ciò non permette di distinguere la natura della suscettività magnetica rilevata. Nei casi di pazienti affetti da Sclerosi Multipla, la guaina mielinica degli assoni presenta suscettività magnetica negativa, per questo la registrazione di un aumento di suscettività magnetica può essere collegata ai fenomeni di demielinizzazione che avvengono in questa categoria di pazienti. Parallelamente a tali processi, si hanno anche accumuli di ferro in particolare ai bordi delle lesioni tipiche della sclerosi multipla, per cui la capacità di quantificare

distintamente le diverse sorgenti di suscettività risulterebbe estremamente utile alla comprensione dei processi legati ai disturbi neurodegenerativi e di come questi evolvono [9] [7]. Inoltre, esiste un sottotipo di lesioni da SM dovuto alla riduzione dei livelli di ferro nelle placche che avviene parallelamente alla demielinizzazione.

L'approccio usato per distinguere la suscettività magnetica si basa sull'utilizzo del modello biofisico proposto da "Hyeong-Geol Shin" che considera in modo separato il contributo dei due tipi di suscettività. Questo approccio permette di stimare separatamente la concentrazione di entrambi i tipi di materiale non solo in tessuti dove si ha uno è dominante sull'altro, ma anche quando sono equamente presenti nello stesso voxel, il che si rivela molto utile nelle analisi in-vivo per pazienti affetti da SM. La distribuzione della suscettività magnetica $\chi_{(r)}$ genera un frequency-shift così descritto:

$$\Delta f_{(r)} = D_{f(r)} * \chi_{(r)} \quad [\text{Eq. 1}]$$

Con D_f il kernel di perturbazione del campo magnetico, derivate dalle equazioni magneto-statiche di Maxwell. Il frequency-shift Δf è ottenuto dalla fase del segnale QSM e di conseguenza si può stimare la suscettività magnetica χ tramite deconvoluzione. Considerando che all'interno di un voxel sono presenti fonti di suscettività magnetica sia positiva che negativa, l'equazione di cui sopra può essere riscritta come:

$$\Delta f_{(r)} = D_{f(r)} * (\chi_{pos(r)} + \chi_{neg(r)}) \quad [\text{Eq. 2}]$$

Anche il rate di rilassamento trasversale può essere scritto come:

$$R'_2 = D_{r(r)} \cdot |\chi_{(r)}| \quad [\text{Eq. 3}]$$

Dove D_r è la costante di rilassamento tra R'_2 e la suscettività. Da questa equazione si nota come ci sia una relazione linearmente proporzionale tra le due grandezze. Inoltre, l'equazione di R'_2 può essere riscritta tenendo in considerazione che le fonti di suscettività magnetica si dividono in positive e negative e sono entrambe ^[Eq. 4] contemporaneamente nel tessuto, ognuna con la rispettiva costante di rilassamento D_{pos} e D_{neg} . Per cui è possibile porre R'_2 come:

$$R'_2 = D_{r,pos(r)} \cdot |\chi_{pos(r)}| + D_{r,neg(r)} \cdot |\chi_{neg(r)}|$$

Così possiamo descrivere in modo completo gli effetti che la suscettività magnetica ha su un segnale complesso di risonanza magnetica:

$$R_2' + 2\pi i \cdot \Delta f_{(r)} = \overline{D_{r,pos(r)}} \cdot |\chi_{pos(r)}| + \overline{D_{r,neg(r)}} \cdot |\chi_{neg(r)}| \quad [\text{Eq. 5}]$$

$$+ 2\pi i \cdot D_{f(r)} * (\chi_{pos(r)} + \chi_{neg(r)})$$

Lo studio si basa sull'assunzione che la presenza di ferro e mielina sono considerate come uniche fonti della suscettività magnetica; inoltre, la complessa struttura della WM non viene considerata dal modello (anisotropia) [23].

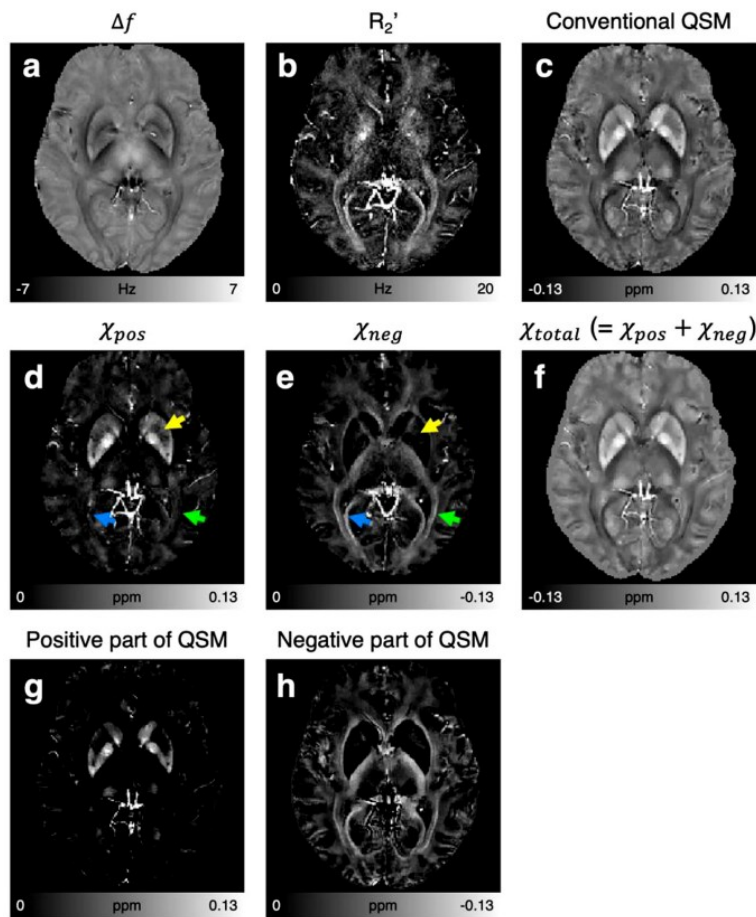


Figura 10: esempio di set di mappe di QSM e di suscettività magnetica positiva e negativa.

CAPITOLO 3

MATERIALI E METODI

Le acquisizioni sono state effettuate su due soggetti, entrambi in posizione HFS (Head First-Supin), utilizzando il sistema Philips Ingenia CX a 3.0T. Il soggetto A è una donna di 51 anni, il soggetto B è un uomo di 53 anni, entrambi affetti da SM secondaria progressiva.

Il protocollo di acquisizione di risonanza magnetica ha previsto:

- **3D T1 pesata Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo (MPRAGE)** con TR = 0.004s, TE = 0.004s, Matrix-Size = 240x240x180, Voxel-Size = 1x1x1mm³;
- **3D Fluid attenuated Inversion Recovery (FLAIR)** con TR = 8s, TE = 0.380s, Tempo di Inversione (TI) = 2.360s, Matrix-Size = 240x240x180, Voxel-Size = 1x1x1mm³;
- **3DME GRE**
3D Multi-Echo Gradient echo (ME-GRE) con i seguenti parametri: TE₀ = 0.0047s, ΔTE = 0.0052s, TR = 0.056s, 10 echi, flip-angle di 25°, Matrix-Size = 240x240x150, voxel-size = 1x1x1mm³;
- **Myelin Water Imaging Gradient -echo Spin-echo (MWIGRASE)**
La sequenza di acquisizione prevede un TE = 0.01s, ΔTE = 0.01s, TR = 1.056s, 32echi, flip-angle di 90°, Matrix-Size = 240x240x45mm, voxel-size=1x1x2.5mm³;
- **MESE**
Per i singoli soggetti è stata effettuata un'acquisizione 2D Multi-Echo Spin-Echo, con 32 echi, TE = 0.007s, ΔTE = 0.007s, TR = 6.24s, flip-angle di 90°, Matrix-Size = 192x192x22, voxel-size = 1.2x1.2x3mm³.

3.1. Ambiente di lavoro e Applicativi

- Il software utilizzato per l'elaborazione è Matlab, versione 9.14.0 (R2023a).
Le mappe T2 sono state stimate:
 - dai dati basati su sequenza MWIGRASE tramite il tool qMRLab, versione 2.4.1, software open-source per la simulazione e stima di dati di risonanza magnetica (<https://github.com/qMRLab/qMRLab>).
 - dai dati basati su sequenza MESE usando l'approccio del Dictionary Matching [12].
- Il toolbox utilizzato per l'analisi delle sequenze FFEQSM è il MEDI Toolbox, per la ricostruzione del QSM, che sfrutta il metodo Morphology Enabled Dipole Inversione; include anche metodi per il Background Field Removal, come ad esempio il Projection onto Dipole Field (PDF), utilizzato in questo lavoro di tesi. Il MEDI Toolbox è una distribuzione open-source disponibile al: (<http://pre.weill.cornell.edu/mri/pages/qsm.html>). La funzione "arlo" contenuta nello stesso toolbox e basata su monoexponential fitting è stata usata per calcolare le mappe R2*.
- Le funzioni che permettono la separazione della suscettività in positiva e negativa sono state fornite da Hyeong-Geol Shin et al. [23] nel seguente link: <https://github.com/SNU-LIST/chi-separation>.
- Tramite il Windows Subsystem for Linux, si è potuto sfruttare l'ambiente Linux rimanendo all'interno del sistema Windows, sono stati utilizzati i tools inclusi nella libreria FSL (FMRIB Software Library), versione 6.0.6.4, sviluppato da Analysis Group (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki>).
- Per la visualizzazione delle mappe è stato anche utilizzato FreeSurfer, un software sviluppato da Laboratory for Computational Neuroimaging del Martinos Center for Biomedical Imaging.
- Le operazioni di coregistrazione delle mappe sono state effettuate usando il tool Ants (Advanced Normalization Tool), che ha permesso di costruire le matrici di coregistrazione per il passaggio tra i vari spazi immagine (<http://stnava.github.io/ANTs/>).

3.2. Costruzione Matrici di Coregistrazione

Per avere mappe che siano tutte nello spazio T2*, occorre applicare delle trasformazioni lineari alle mappe T2; nel far questo è stato utilizzato AntsRegistration. Avendo a disposizione l'acquisizione T13DTFE e la 3DME GRE, è stata costruita una matrice per coregistrare le mappe T2 nello spazio T1 applicando una trasformazione rigida ed affine tramite l'utilizzo dei seguenti parametri:

	RIGIDA	AFFINE
MetricWeight	1	1
Radius	32	32
SamplingStrategy	Regular	Regular
SamplingPercentage	0.5	0.5
Transform	Rigid	Affine
GradientStep	0.1	0.1
ShrinkFactor	2x1	2x1
SmoothingSigmas	0x0	0x0
ConvergenceMatrix	100x100	500x500
ConvergenceThreshold	1e-08	1e-08
ConvergenceWindowSize	10	10
Winsorize	-	1
Verbose	-	1

Questa matrice è stata ottenuta impostando come immagine “fixed” l'acquisizione T13DTFE per lo spazio di arrivo mentre come immagine “moving” è stato utilizzato il primo echo della sequenza utilizzata, in questo caso sia quella MESE che MWIGRASE. Per estrarre il primo eco di una sequenza è stato usato FSL e la sua funzione “fslsplit”. Successivamente è stata costruita una matrice per coregistrare le mappe nello spazio T2* usando una trasformazione affine definita con i seguenti parametri:

	AFFINE
MetricWeight	1
Radius	32
SamplingStrategy	Regular
SamplingPercentage	0.5
Transform	Affine
GradientStep	0.1
ShrinkFactor	2x1
SmoothingSigmas	1x0
ConvergenceMatrix	100x100
ConvergenceThreshold	1e-08
ConvergenceWindowSize	10
Winsorize	1
Verbose	1

Nel calcolare questa matrice, la mappa T13DTFE è stata impostata come immagine dello spazio di arrivo ed invece come immagine “moving” è stato preso il primo eco delle acquisizioni 3DME GRE. La matrice è stata poi applicata invertita per avere una coregistrazione corretta dallo spazio T1 allo spazio T2*. In questo modo, le mappe T2 stimate sia con qMRLab che con il Dictionary Matching sono state coregistrate nello spazio immagine T2*.

Il percorso per ottenere le mappe T2 nello spazio T2* è rappresentato dallo schema sottostante

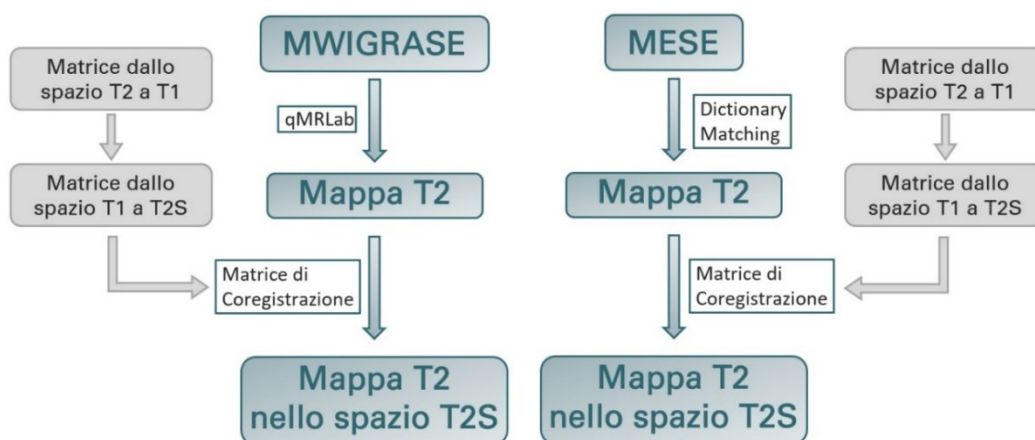


Figura 11: step effettuati per calcolare le mappe T2 e portarle nello spazio T2S, partendo da due acquisizioni diverse, la MWIGRASE e la MESE.

3.3. Stima del tempo di Rilassamento Trasversale: Mappe R2, R2* e R2'

Le mappe T2 coregistrate nello spazio T2* sono poi state invertite con “fslmaths” per ottenere le mappe dei ratei di rilassamento trasversale R2 relative alle sequenze MESE e MWIGRASE. Quest’ultime vengono sottratte alle mappe R2*, calcolate usando le magnitude delle acquisizioni 3DME GRE e la funzione “arlo” contenuta nel MEDI Toolbox e che descrive un fit monoesponenziale della magnitude della sequenza Multi-Echo. La funzione permette di estrarre direttamente le mappe R2* usando le immagini di magnitude delle 3DME GRE ed il relativo vettore degli echi. Ottenute le mappe dei ratei di rilassamento R2* e R2 nello stesso spazio immagine T2S, è possibile ottenere la mappa dei ratei di rilassamento R2':

$$R2' = R2^* - R2$$

Avendo ora entrambe le mappe, è possibile calcolare R2' ed avere così le informazioni sul rilassamento della magnetizzazione trasversale che dipende solo dalle componenti invarianti rispetto al tempo, legate alla suscettività magnetica del tessuto. Per avere una corrispondenza del FOV (Field of View) tra i dati, ogni mappa R2' viene moltiplicata per una maschera costruita usando il primo echo delle acquisizioni di partenza, cioè MWIGRASE e MESE, per escludere aree in cui l’R2' non era definito.

3.3.1. Stima della Suscettività Magnetica

Il codice contenuto nel MEDI Toolbox permette di ottenere la ricostruzione del QSM e applicare il metodo del Background Field Removal tramite l’approccio Projection onto Dipole Field. La pipeline seguita da Hyeong-Geol Shin et al. utilizza gli output generati dallo stesso toolbox, per questo è possibile applicare le funzioni proposte direttamente alle variabili ottenute da MEDI. La prima funzione utilizzata è la x_sep_11 con cui sono state ottenute le mappe della suscettività magnetica, sia positiva che negativa, con regolarizzazione tramite normalizzazione L1.

Nel dettaglio le due funzioni risolvono l’equazione [5] come un problema di minimizzazione, così definito:

$$\begin{aligned} \operatorname{argmin}_{\chi_{pos}, \chi_{neg}} & \left\| W_r \cdot \left\{ R_2' - \left(\overline{D_{r,pos}} \cdot |\chi_{pos}| + \overline{D_{r,neg}} \cdot |\chi_{neg}| \right) \right\} + 2\pi i \cdot W_f \right. \\ & \left. \cdot \left\{ f - D_f * (\chi_{pos} + \chi_{neg}) \right\} \right\|_2^2 + \operatorname{reg}(\chi_{pos}, \chi_{neg}) \end{aligned}$$

dove il termine di regolarizzazione è definito in modo da ridurre gli streaking artifacts:

$$\begin{aligned}
 reg(\chi_{pos}, \chi_{neg}) &= 2 \cdot \lambda \|M_{mag}(\nabla \chi_{tot})\|_1 + \lambda \|M_{R'_2}(\nabla \chi_{pos})\|_1 + \lambda \|M_{mag}(\nabla \chi_{neg})\|_1 \\
 &+ \lambda_{CSF} \|M_{CSF}(\chi_{pos} - \overline{\chi_{pos,CSF}})\|_2^2 + \lambda_{CSF} \|M_{CSF}(\chi_{neg} - \overline{\chi_{neg,CSF}})\|_2^2
 \end{aligned}$$

Il termine W_r ha il compito di pesare i valori di R'_2 e ridurne l'effetto qualora siano poco affidabili:

$$W_r = \begin{cases} W_f(\mathbf{r})/10 & \text{se } (R'_2(\mathbf{r}) > 30\text{Hz}) \text{ o } (R'_2(\mathbf{r}) < 1\text{Hz}) \\ W_f(\mathbf{r}) & \text{altrimenti} \end{cases}$$

dove W_f specifica il peso da assegnare tenendo in considerazione il valore del SNR per i segnali Gradient-Echo.

Nel termine di regolarizzazione, i parametri usati sono λ e λ_{CSF} , mentre i termini M_x sono le maschere binarie dell'elemento x , con $x = \text{Magnitude, CSF, } R'_2$. Ad ogni iterazione del problema di minimizzazione, vengono assegnati nuovi valori a χ_{pos} e χ_{neg} e si calcola il residuo della somma delle suscettività positiva e negativa, normalizzata per il valore che assume all'iterazione n :

$$r = \frac{\|\chi_{n+1} - \chi_{n+2}\|}{\|\chi_n\|_2}$$

Se $r < 0.01$, oppure $n=30$, la minimizzazione si ferma ed i valori di χ_{pos} e χ_{neg} alla fine dell'iterazione, vengono assegnati alle mappe.

Con questa funzione sono stati testati 3 valori diversi per il parametro “lambda” utilizzato dalla funzione. Questo parametro viene descritto da Hyeong-Geol Shin et al. come il coefficiente di regolarizzazione usato per la normalizzazione L1. La figura seguente mostra un confronto tra le mappe calcolate:

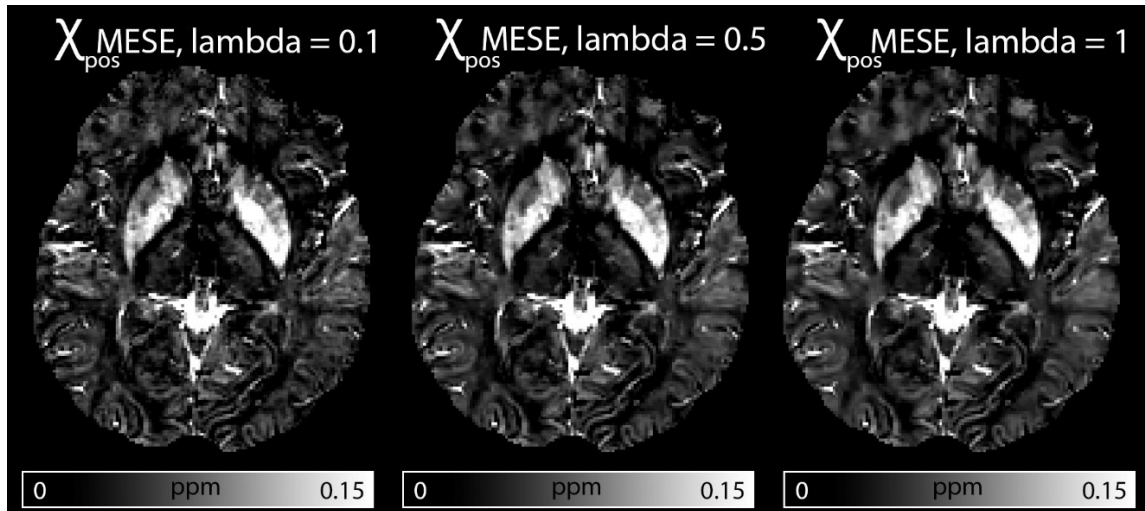


Figura 12: a sinistra la suscettività positiva ottenuta con Lambda=0,1; al centro con Lambda=0,5; a destra con Lambda=1. La mappa è stata ottenuta dai dati

Notando un miglioramento con il parametro Lambda=0.1, si è deciso di proseguire le elaborazioni utilizzando quest'ultimo valore come standard. Oltre a questo metodo, si è applicata anche la funzione `x_sep_sa` per la rimozione degli Streaking Artifacts nei casi di forte suscettività.

3.4. Analisi Quantitativa

Dopo aver ottenuto le mappe della suscettività magnetica, per l'analisi quantitativa sono state segmentate delle ROI (manualmente e tramite funzione "first" di FSL) nello spazio T1. Le regioni relative alla deep Gray-Matter sono state erose usando come elemento strutturante una sfera di raggio 2 pixel. Successivamente le ROI segmentate ed erose sono quindi state portate nello spazio T2* utilizzando le matrici precedentemente calcolate.

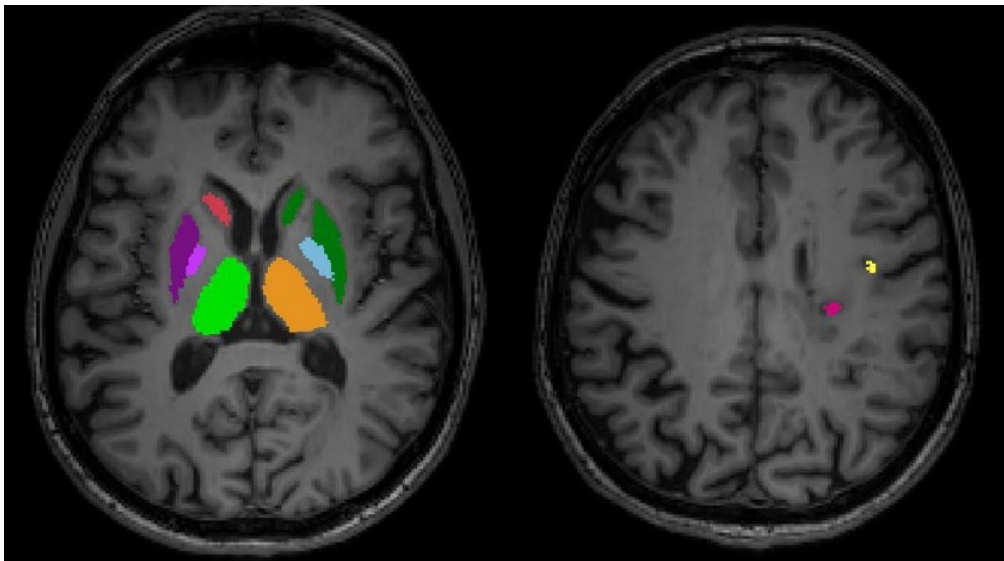


Figura 12: slice 79 (sinistra) e 97 (destra) della sequenza T13DTFE in cui si evidenziano alcune delle ROI segmentate, in particolare a destra si notano le regioni segmentate manualmente relative alle lesioni.

Le ROI sono state applicate, tramite MATLAB, alle mappe R2' e alle mappe della suscettività magnetica. In questo modo è stato possibile estrarre i valori dei voxel corrispondenti al fine di calcolarne la media. Le ROI scelte sono elencate nella seguente tabella:

10	Left-Thalamus-Proper	} ROI di DeepGM ottenute con FSL-first
11	Left-Caudate	
12	Left-Putamen	
13	Left-Pallidum	
49	Right-Thalamus-Proper	
50	Right-Caudate	
51	Right-Putamen	
52	Right-Pallidum	
-	CallAntMan	} ROI di WM del corpo calloso e della radiazione ottica; segmentate manualmente.
-	CallPosMan	
-	RightOptRadMan	
-	LeftOptRadMan	
-	VMLesion1	
-	VMLesion2	
-	VMLesion3	

Figura 13: a sinistra il valore numerico usato come label della regione; a destra il nome delle ROI individuate. Le ROI non numerate sono state manualmente segmentate usando itknap.

Per valutare la relazione tra le mappe ottenute con i dati MESE ed MWIGRASE è stata calcolata la correlazione tra ogni coppia di immagini usando la funzione “corr” di MATLAB così da avere una misura per validare o meno il metodo alternativo proposto in questo lavoro di tesi. La funzione utilizza il metodo di correlazione lineare di Pearson, che definisce come indice di correlazione R il rapporto seguente:

$$R = \frac{\sigma_{Mese, MWIGRASE}}{SD_{Mese} * SD_{MWIGRASE}}$$

Dove $\sigma_{1,2}$ è la covarianza tra le due mappe, mentre SD_i è la Standard Deviation delle singole mappe.

CAPITOLO 4

RISULTATI

Nel presente capitolo vengono mostrati i risultati e le mappe ottenute durante le elaborazioni sopra descritte. Inizialmente sono presentate le mappe relative al tempo di rilassamento trasversale T2, stimate partendo dalle sequenze MESE e MWIGRASE ed elaborate utilizzando due approcci diversi, tramite qMRLab e Dictionary Matching, rispettivamente.

4.1 MAPPE T2 e R2

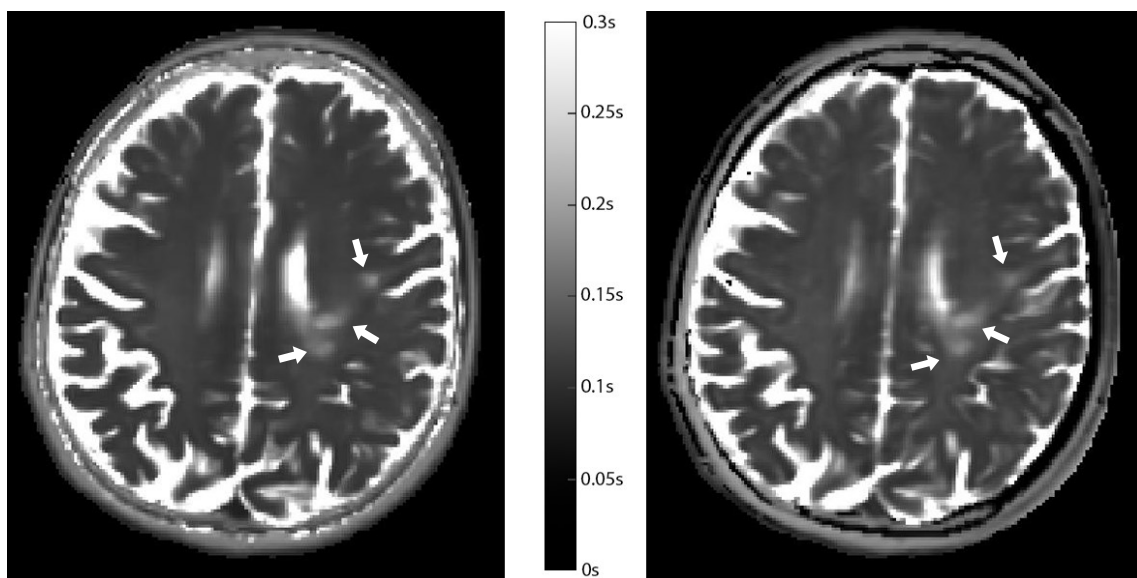


Figura 14: viene presentata la slice 98 delle mappe T2 del soggetto A, portate nello spazio T2S; a sinistra la mappa è ottenuta con il Dictionary Matching applicato ai dati MESE, a destra la mappa è stata stimata con il tool qMRLab dalla sequenza MWIGRASE. Le frecce bianche individuano le placche della SM. Le mappe sono entrambe espresse in secondi, con range [0 0.3].

Le mappe T2 ottenute dai dati MWIGRASE si dimostrano valide quanto quelle ottenute con i dati MESE, seppure con una leggera differenza nel contrasto dei tessuti.

MAPPE R2

Invertendo le mappe T2 sopra mostrate, è possibile ottenere le mappe dei rate di rilassamento trasversale R2, per entrambe le sequenze MESE e MWIGRASE.

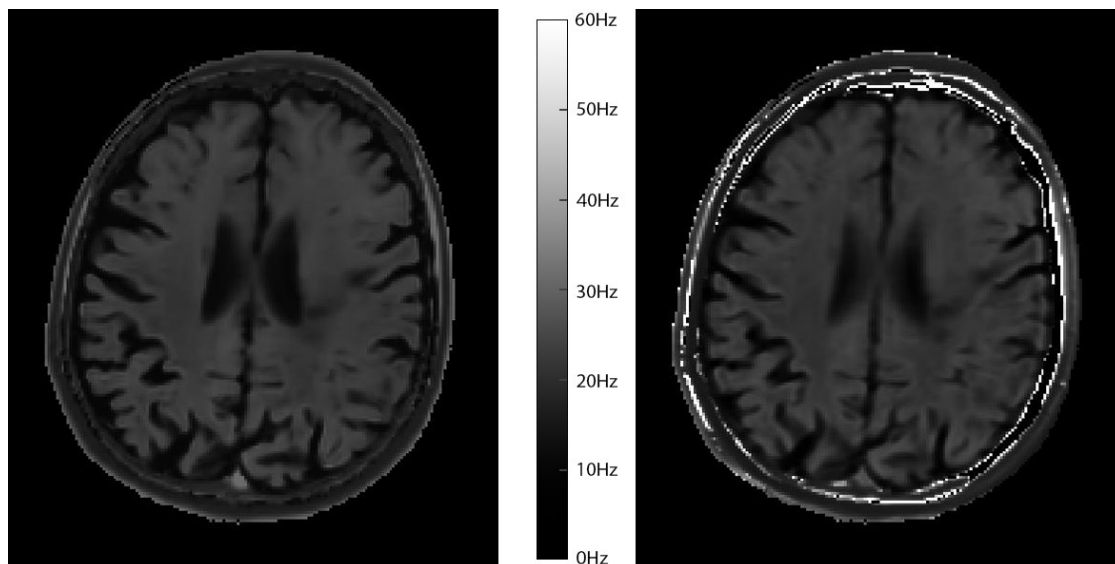


Figura 15: confronto delle mappe R2 tra la sequenza MESE a sinistra e la sequenza MWIGRASE destra, espresse in Hz, con range [0; 60].

4.2. MAPPE R2*

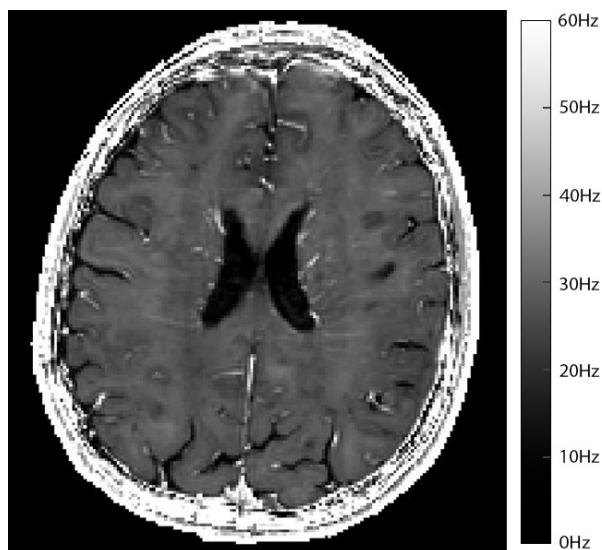


Figura 16: viene presentata la slice 93 delle mappe R2*, espressa in Hz, con range [0; 60].

La mappa del rate di rilassamento R2* è ottenuta con un fit monoesponenziale usando la funzione “arlo” del MEDI Toolbox. Anche dal rate di rilassamento ottenuto dalla sequenza 3DME GRE si possono individuare le lesioni.

4.3. MAPPE R2'

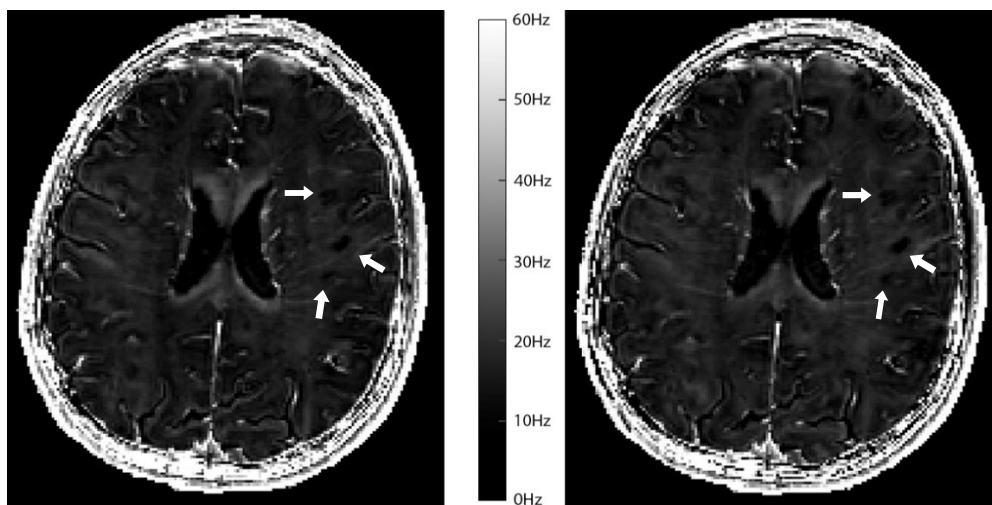
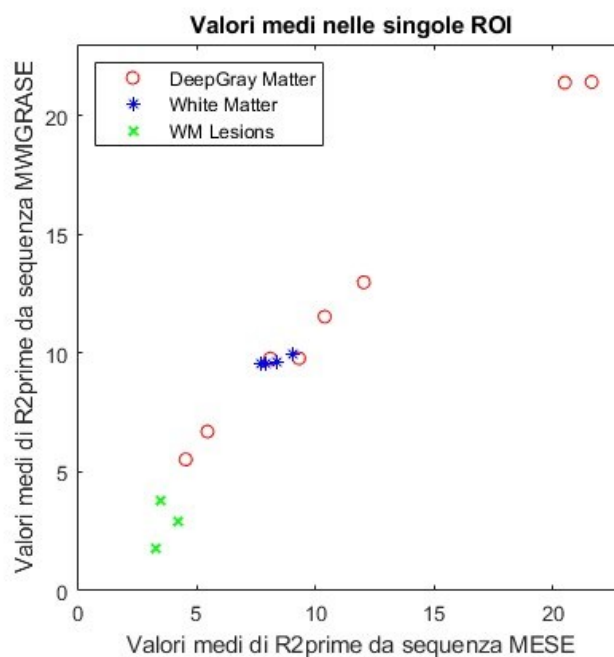


Figura 17: viene presentata la slice 93 delle mappe R2' del soggetto A; a sinistra la mappa è ottenuta con i dati MESE, a destra invece con i dati MWIGRASE. Anche qui le frecce bianche individuano le placche della SM, visibile come zone scure piuttosto nette. Le mappe sono entrambe espresse in Hz, con range [0; 60]

Comparando le due mappe ottenute, con un'ispezione visiva è possibile vedere piuttosto chiaramente le zone relative alle placche in entrambe le mappe, dimostrando come i due approcci, già visivamente, diano risultati piuttosto analoghi. Quest'osservazione viene anche supportata dai dati ottenuti con il calcolo dei valori medi nelle ROI segmentate, mostrati nel seguente plot:



I valori medi nelle mappe R2prime ottenute dalla sequenza MESE sono leggermente superiori nei tessuti relativi alle lesioni.

Tra le mappe R2' ottenute con i dati MESE ed i dati MWIGRASE è stato calcolato un coefficiente di correlazione $R=0.9848$ ed il rispettivo $p\text{-value}<0.001$, evidenziando come le due mappe siano in relazione lineare tra di loro, dimostrandosi ottimali in egual modo per il calcolo della suscettività magnetica.

4.4. MAPPE SUSCETTIVITÀ POSITIVA CON REGOLARIZZAZIONE

Le due mappe R2' di cui sopra sono state utilizzate per il calcolo della suscettività magnetica; inizialmente sono presentate le mappe della suscettività positiva e negativa calcolate con l'approccio di regolarizzazione con parametro $\Lambda=0.1$.

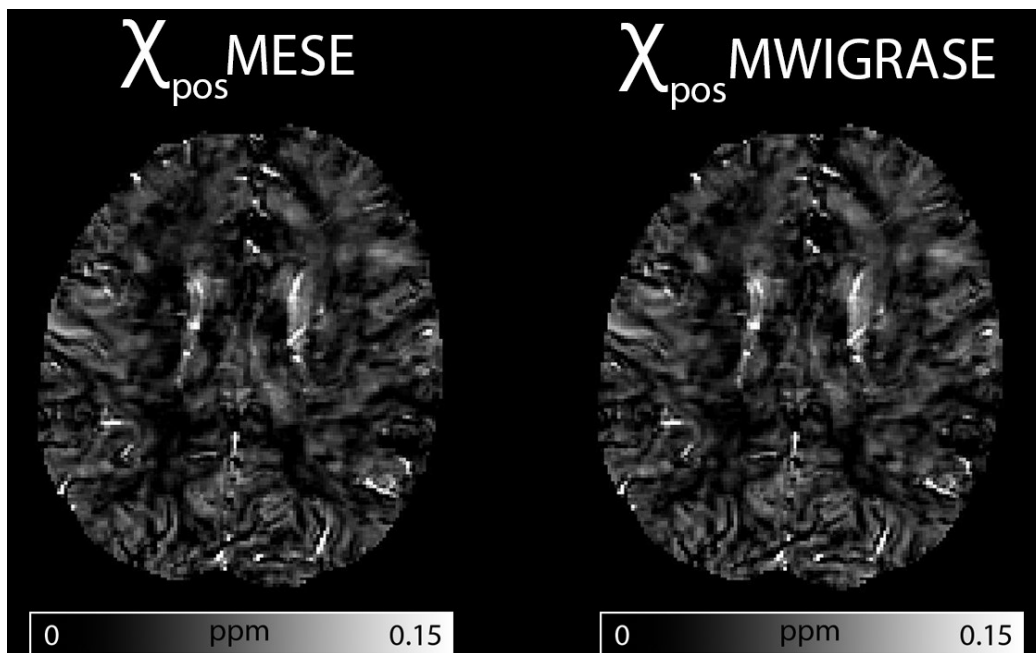


Figura 18: slice 94 delle mappe di suscettività magnetica positiva; a sinistra la mappa è ottenuta con i dati MESE, a destra invece con i dati MWIGRASE.

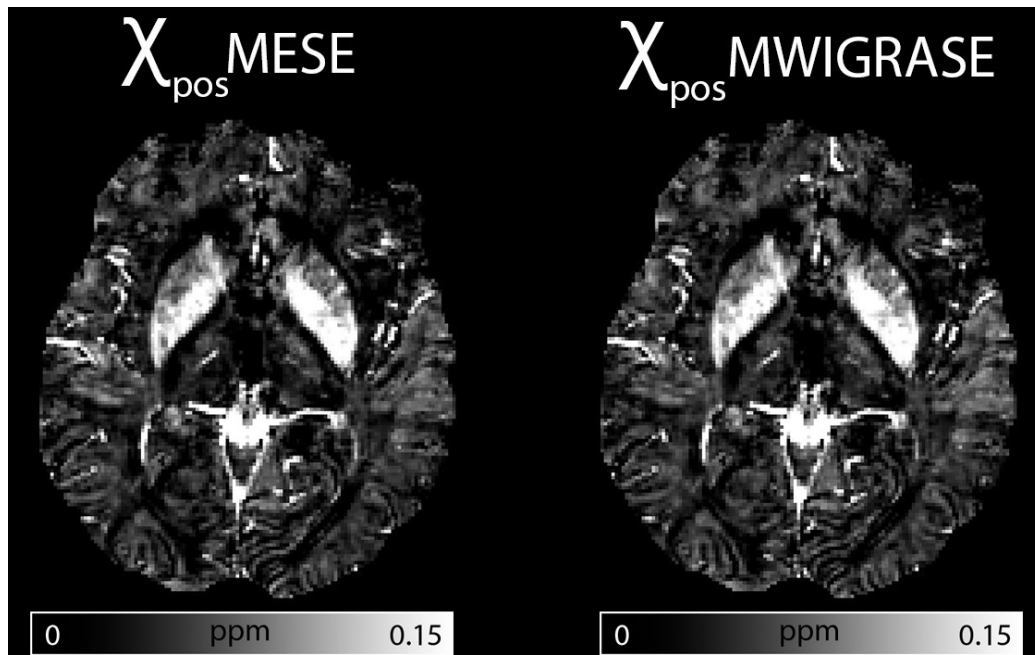
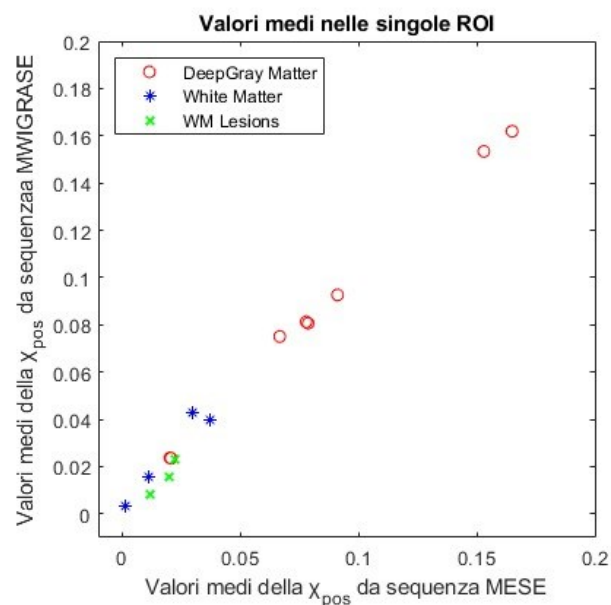


Figura 19: slice 76 delle mappe di suscettività magnetica positiva; si possono vedere i gangli della base.

Entrambi i metodi evidenziano le iperintensità nei gangli della base e ipointensità nelle aree altamente mielinizzate della radiazione ottica simili a quanto precedentemente evidenziato in letteratura.

La correlazione tra le mappe di suscettività mostra un valore $R=0.9963$, $p\text{-value}<0.001$; allo stesso modo il plot dei valori medi nelle ROI mostra un risultato simile a quello precedente:



4.5. MAPPE SUSCETTIVITÀ NEGATIVA CON REGOLARIZZAZIONE

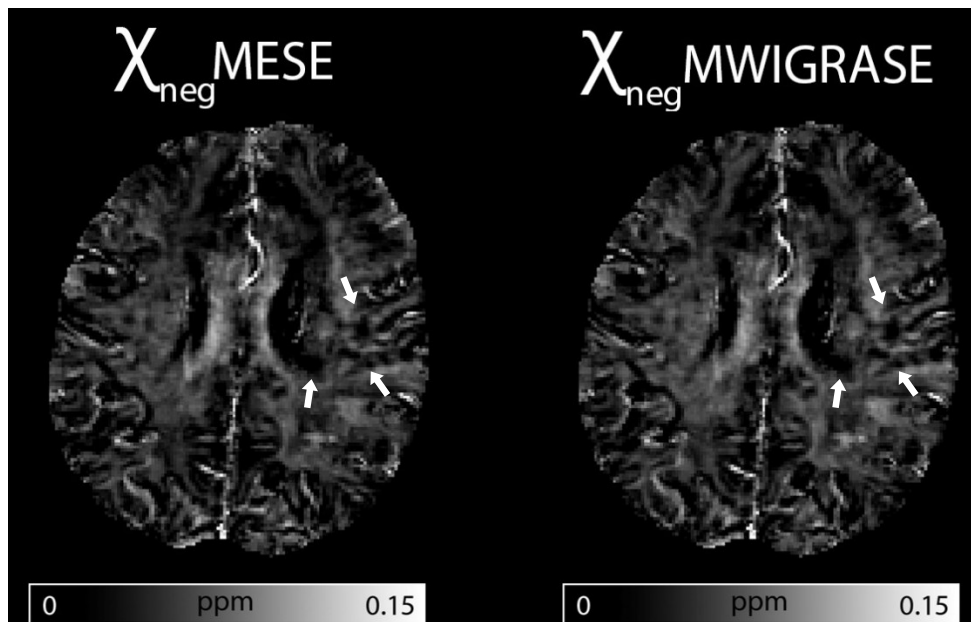


Figura 20: slice 96 delle mappe di suscettività magnetica negativa; a sinistra la mappa è ottenuta con i dati MESE, a destra invece con i dati MWIGRASE. Le frecce bianche indicano le zone di riduzione dei livelli di ferro.

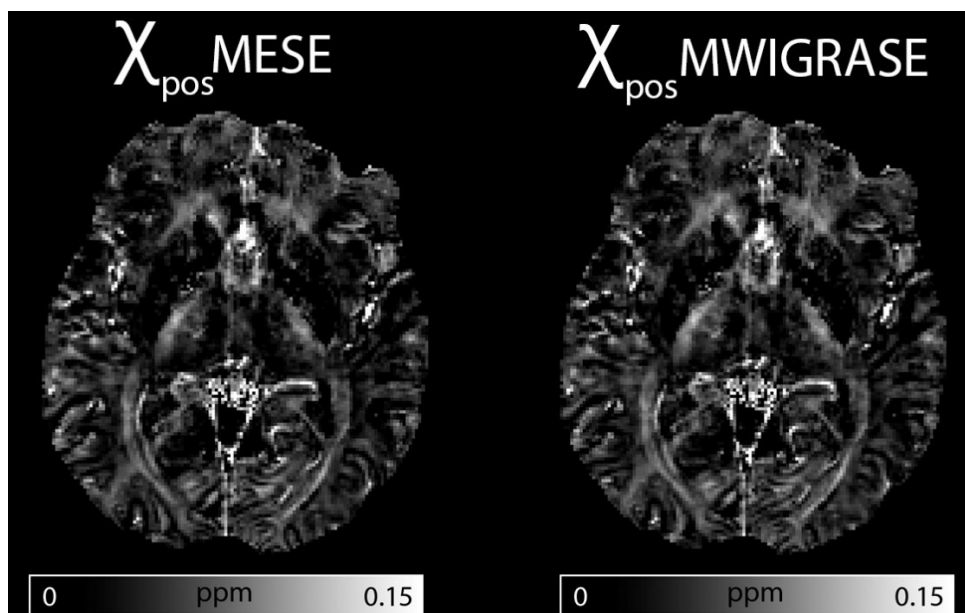
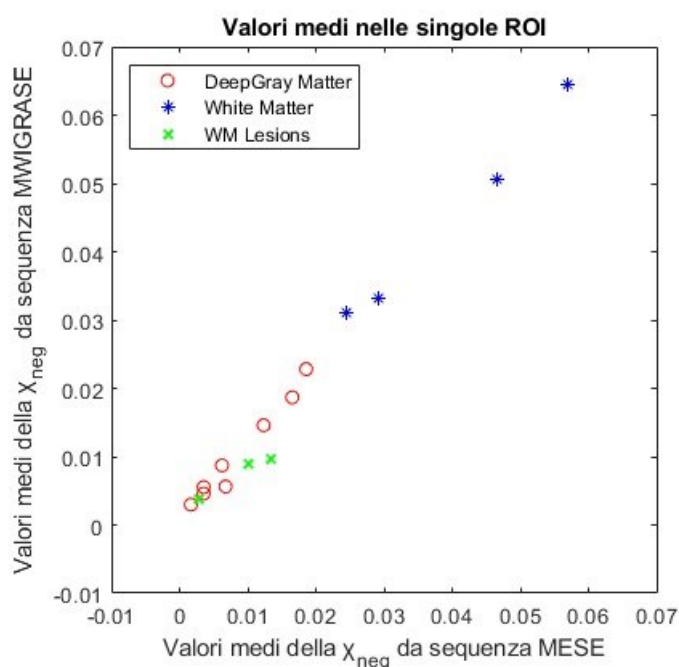


Figura 21: slice 76 delle mappe di suscettività magnetica negativa; si notano le regioni della radiazione ottica e gangli della base.

Materiali e Metodi

Nella mappa della suscettività negativa, si evidenziano meglio le zone di demielizzazione relative alle lesioni dovute alla SM. Usando le due sequenze diverse, le mappe risultano comunque essere ugualmente valide, come nel caso precedente delle mappe della suscettività positiva; difatti, calcolando la correlazione di Pearson tra le due, il coefficiente di correlazione è $R=0.9930$ e relativo $p\text{-value}<0.001$.

Il plot seguente mostra i valori medi di suscettività negativa, per ogni ROI; si nota chiaramente come quasi tutte le regioni mostrano valori simili tra le due sequenze di acquisizione diversa. La differenza maggiore sono i valori presenti nelle ROI relative alle lesioni, dove i dati MESE confermano di avere valori medi leggermente maggiori rispetto ai valori ottenuti con i dati MWIGRASE.



	Mappe Positive	Mappe Negative
RHO	0.9963	0.9930
P-VALUE	<0.001	<0.001

Tabella riassuntiva dei valori di correlazione tra le mappe della suscettività magnetica, dai dati MESE e MWIGRASE (sia positive che negative) e rispettivi valori p-value.

4.6. MAPPE SUSCETTIVITÀ POSITIVA CON RIMOZIONE STREAKING ARTIFACTS

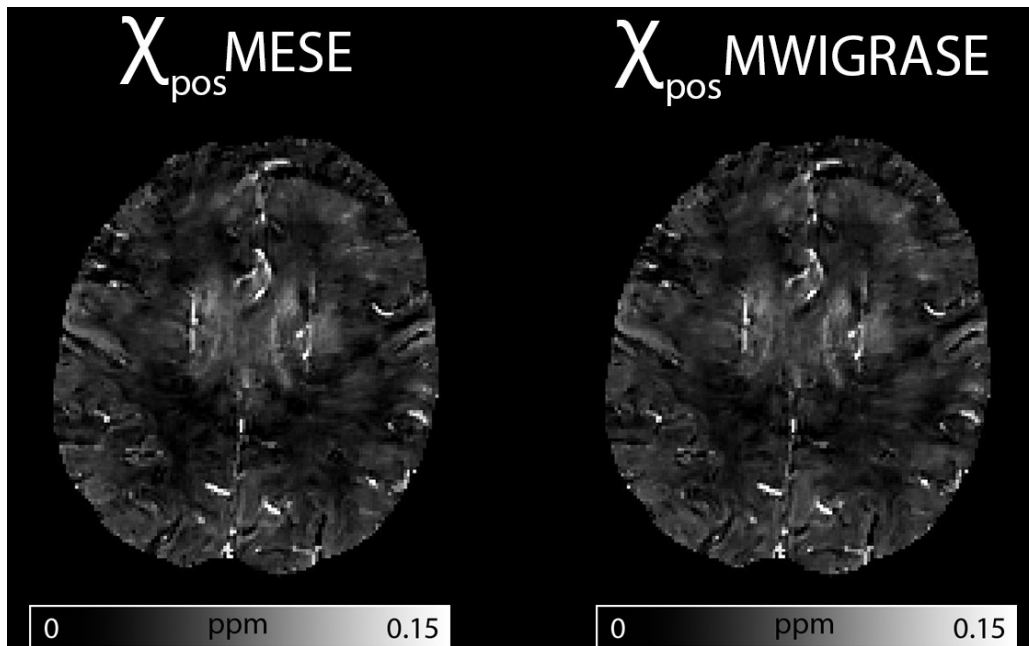


Figura 22: sono presentate le slice 96 delle mappe di suscettività magnetica positiva, a sinistra la mappa è ottenuta con i dati MESE, a destra con i dati MWIGRASE.

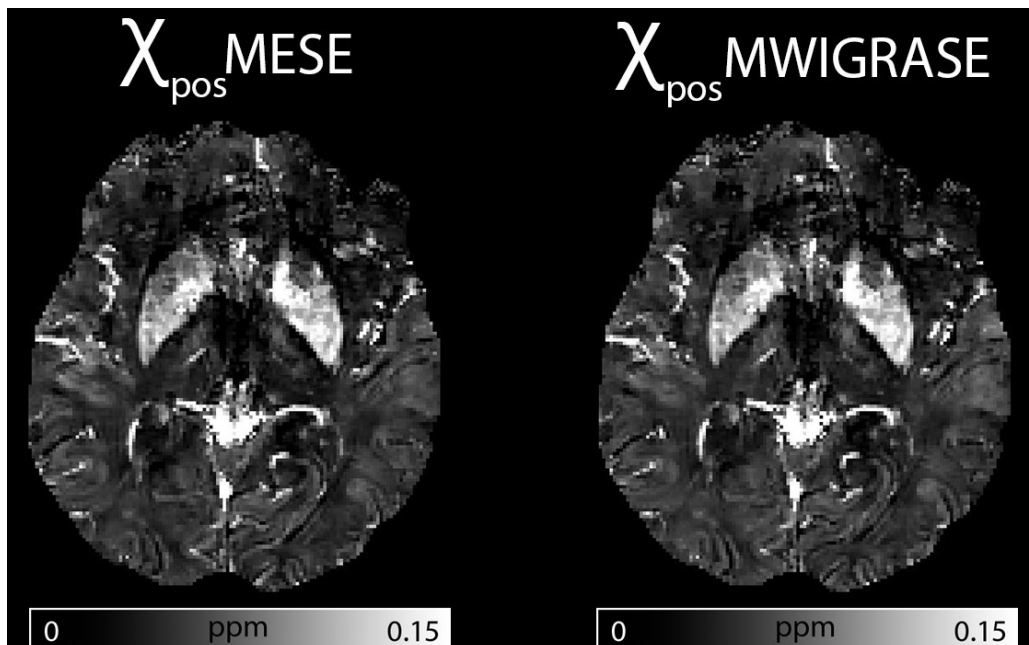
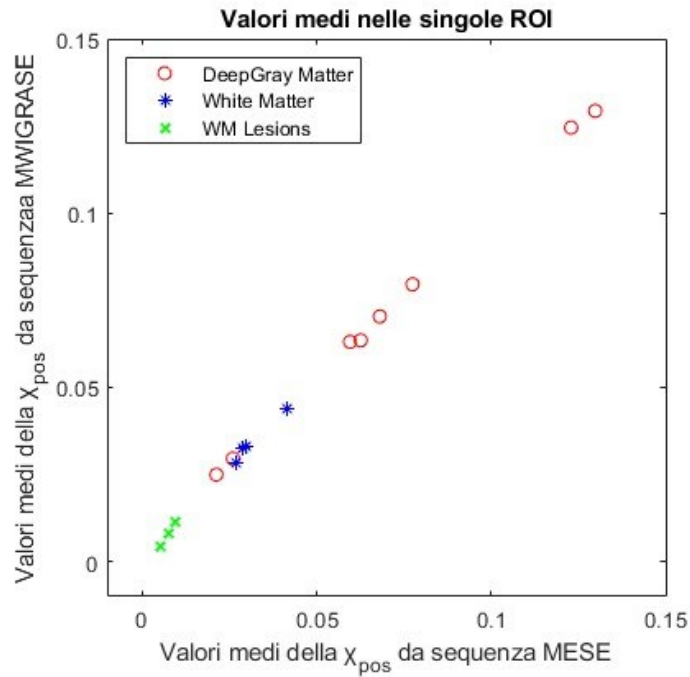


Figura 23: slice 76 delle mappe di suscettività magnetica positiva, per evidenziare i gangli della base.

Materiali e Metodi

L'approccio con la rimozione degli streaking artifacts nei casi di forte suscettività presenta lo stesso trend dei risultati precedenti con iperintensità al livello dei gangli della base nelle mappe di suscettività positiva. La correlazione tra le mappe positive così ottenute mostra un valore $R=0.9993$ e $p\text{-value}<0.001$.



4.7. MAPPE SUSCETTIVITÀ NEGATIVA CON RIMOZIONE STREAKING ARTIFACTS

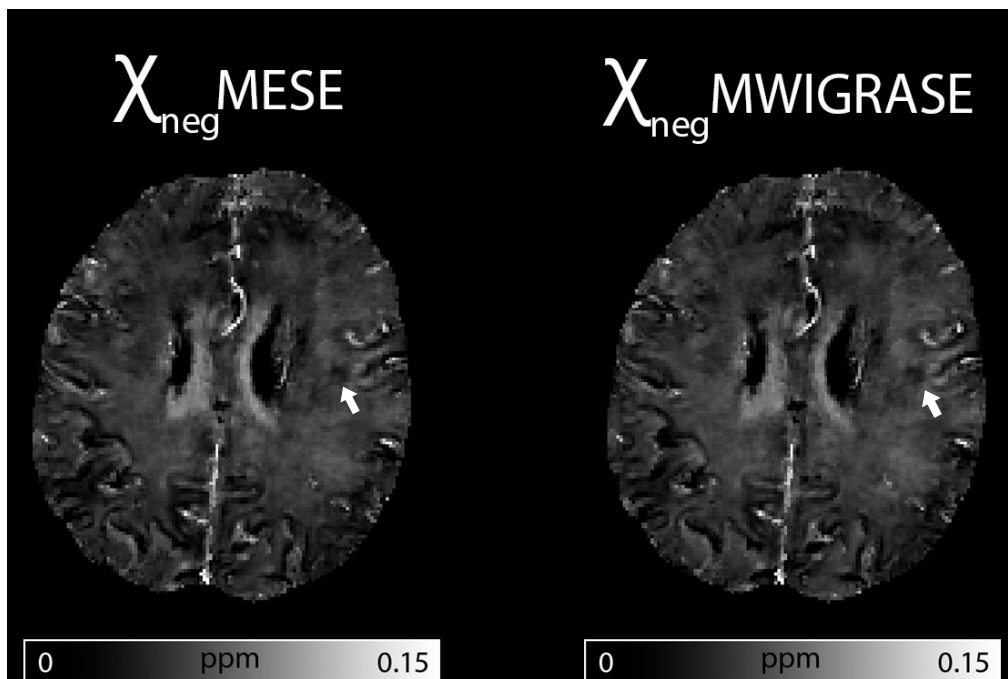
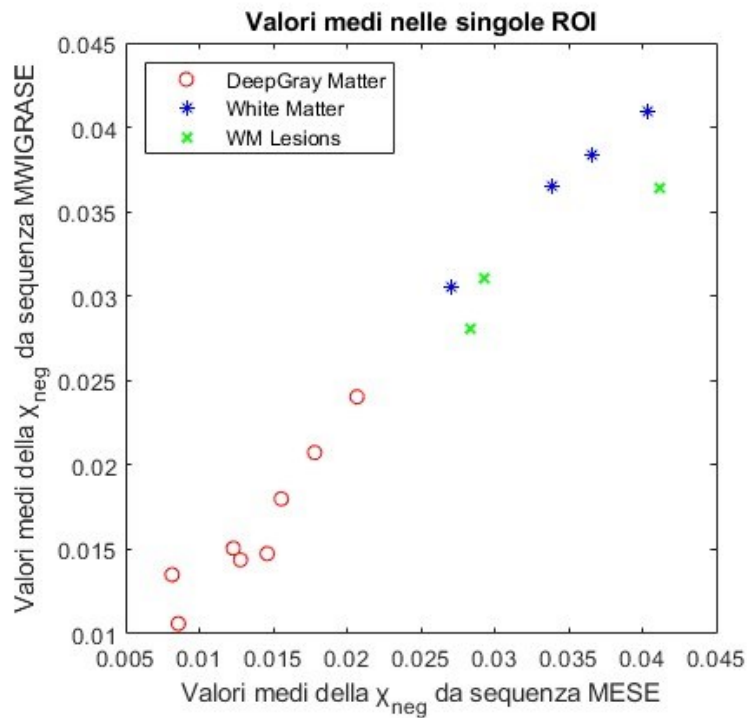


Figura 24: sono presentate le slice 96 delle mappe di suscettività magnetica negativa, a sinistra la mappa è ottenuta con i dati MESE, a destra con i dati MWIGRASE.

Le frecce bianche indicano le zone di demielinizzazione.

Le mappe di suscettività ottenute con il metodo Streaking Artifacts risultano meno contrastate rispetto a quelle stimate con la regolarizzazione con fattore $\Lambda=0,1$, infatti si notano meno chiaramente le zone di riduzione dei livelli di mielina e di ferro, anche se ancora individuabili tramite ispezione visiva. Ad ogni modo, le mappe di suscettività così ottenute si dimostrano ancora molto simili tra loro nonostante le due sequenze diverse da cui sono state stimate. Anche in questo caso si ottengono valori di correlazione quasi perfetta, con il coefficiente $R=0.9825$ e $p\text{-value}<0.001$.



Il plot dei valori medi misurati all'interno delle ROI mostra una suscettività negativa media molto simile tra i dati MESE e MWIGRASE, con le lesioni che risultano anche in questo caso avere valori leggermente maggiori nella prima piuttosto che nella seconda acquisizione.

	Mappe SA Positive	Mappe SA Negative
RHO	0.9993	0.9825
P-VALUE	<0.001	<0.001

Tabella riassuntiva dei valori di correlazione tra le mappe della suscettività magnetica ottenute con approccio SA, dai dati MESE e MWIGRASE (sia positive che negative) e rispettivi valori p-value.

4.8. CONFRONTO DELLE LESIONI TRA LE VARIE MAPPE ACQUISITE, USANDO DATI OTTENUTI DALLA SEQUENZE MESE E MWIGRASE

Sono state raccolte le mappe ottenute delle suscettività positiva, negativa e di R2' e confrontate con la sequenza FLAIR portata nello spazio T2S.

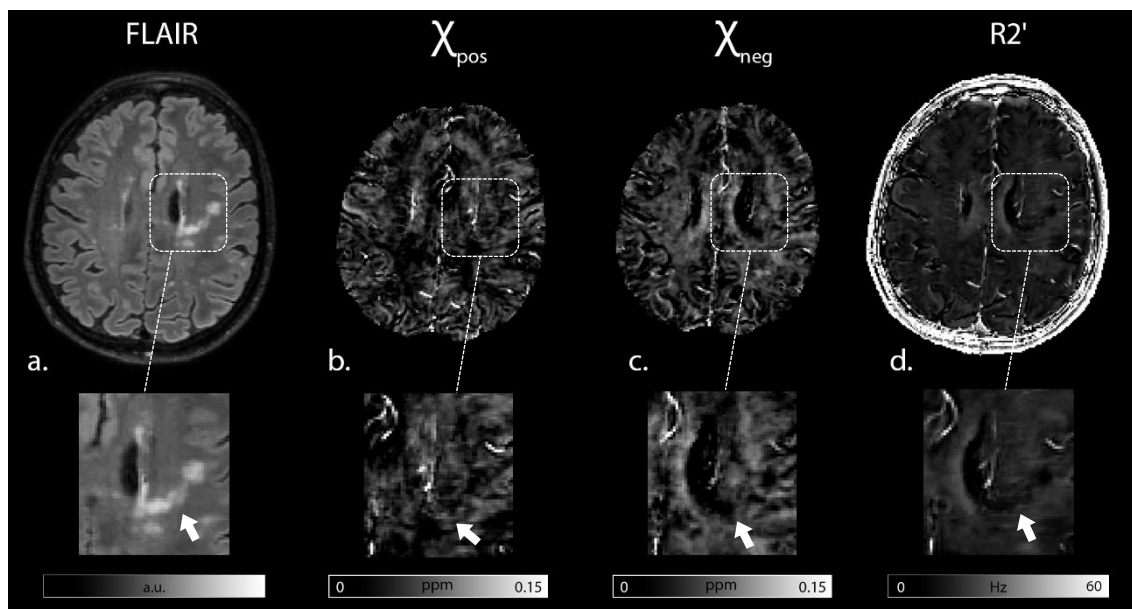


Figura 25: dettaglio delle lesioni da SM nella slice 96 tra le acquisizioni FLAIR, suscettività positiva, negativa e R2'. Nel dettaglio le lesioni di SM dovute al fenomeno di demielinizzazione con “iron depletion”. I dati delle mappe elaborate provengono dalla sequenza Multi-Echo Spin-Echo.

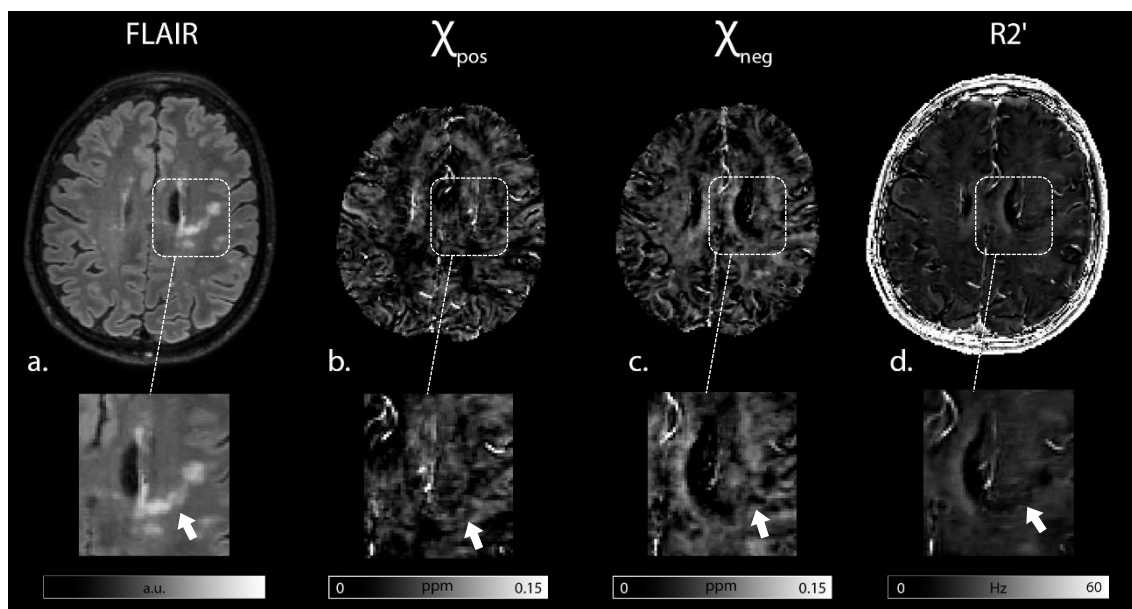


Figura 26: come in figura 25, ma le mappe mostrate provengono dalla sequenza MWIGRASE.

5. CONCLUSIONE

Il lavoro di questa tesi aveva come obiettivo quello di studiare l'impatto della stima del rilassamento trasversale (T_2) quando utilizzato in combinazione al rilassamento trasversale reale (T_2^*) al fine di permettere di separare le sorgenti negative e positive della suscettività magnetica. L'approccio proposto da Hyeong-Geol Shin et al. per il calcolo e la separazione della suscettività magnetica in positiva e negativa si basa su acquisizioni 3D Multi Echo Gradiente Echo per il calcolo di R_2^* , mentre per R_2 ($1/T_2$) è stata usata una sequenza Multi Echo Spin Echo. In questo lavoro, con il fine di indagare la possibilità di utilizzazione di sequenze alternative rispetto alla Multi Echo Spin Echo, si è scelto di valutare l'impatto sulla stima del rilassamento trasversale utilizzando una sequenza MWIGRASE. La sequenza MWIGRASE, rispetto alla sequenza MESE, permette un'acquisizione più veloce e consente anche una copertura dell'encefalo quasi integrale, e in aggiunta viene già utilizzata nella ricerca clinica per lo studio della demielinizzazione. In questa tesi è stata implementata una pipeline alternativa a quella originale per la separazione della suscettività magnetica al fine di estendere l'applicabilità anche a sequenze diverse. Nella nostra implementazione alternativa abbiamo quindi stimato la mappa T_2 da una sequenza MWIGRASE tramite un modello monoesponenziale, implementato nel tool qMRLab e successivamente invertita per ricavare la mappa del rate di rilassamento R_2 .

La valutazione delle performance è stata effettuata dapprima tramite ispezione visiva, e successivamente in modo quantitativo tramite il calcolo del coefficiente di correlazione, in regioni di interesse specifiche, tra le stime ottenute con il metodo originale ed il metodo proposto. Così facendo, sono stati calcolati i valori medi di suscettività di alcune specifiche ROI segmentate per osservare il loro andamento usando i dati provenienti dalla sequenza MESE e dalla sequenza MWIGRASE.

Considerando i risultati ottenuti, è possibile affermare che il metodo proposto che utilizza sequenze MWIGRASE, si è dimostrato valido e con risultati piuttosto analoghi a quelli ottenuti dal metodo originale proposto da Hyeong-Geol Shin et al., confermati dai coefficienti di correlazioni calcolati per le varie tipologie di mappe ottenute.

Inoltre, l'utilizzo del tool qMRLab applicato all'acquisizione MWIGRASE per il calcolo delle mappe di rilassamento trasversale ha rivelato dei risultati molto simili a quelli

Conclusioni

ottenuti con la stima di T2 tramite Dictionary Matching con le acquisizioni MESE, che sono considerate il gold-standard per questo tipo di stime. Le mappe finali della suscettività magnetica ottenute con i dati provenienti dalla sequenza MWIGRASE dimostrano di essere ugualmente valide rispetto a quelle ottenute con l'approccio originale, con il vantaggio di avere tempi di acquisizione più brevi e la possibilità di stimare le mappe di suscettività magnetica anche da dataset già acquisiti per altri scopi, qualora fosse presente anche una sequenza 3D Gradient Echo per la stima di R2* e QSM. In questo modo, abbiamo posto le basi per futuri sviluppi nell'utilizzo delle acquisizioni MWIGRASE in questo contesto, con il risultato di aver prodotto una pipeline per lo studio della suscettività magnetica nei pazienti affetti da SM con sequenze alternative al gold-standard.

6. BIBLIOGRAFIA

- [1] Noam Ben-Eliezer, José G. Raya, James S. Babb, Thomas Youm, Daniel K. Sodickson, and Riccardo Lattanzi. 2021. A New Method for Cartilage Evaluation in Femoroacetabular Impingement Using Quantitative T2 Magnetic Resonance Imaging: Preliminary Validation against Arthroscopic Findings. *CARTILAGE* 13, 1_suppl (December 2021), 1315S-1323S. DOI:<https://doi.org/10.1177/1947603519870852>
- [2] Noam Ben-Eliezer, Daniel K. Sodickson, and Kai Tobias Block. 2015. Rapid and accurate T₂ mapping from multi-spin-echo data using Bloch-simulation-based reconstruction: Mapping Using Bloch-Simulation-Based Reconstruction. *Magn. Reson. Med.* 73, 2 (February 2015), 809–817. DOI:<https://doi.org/10.1002/mrm.25156>
- [3] M. Calabrese, N. Stefano, M. Atzori, V. Bernardi, I. Mattisi, L. Barachino, L. Rinaldi, A. Morra, M. M. J. McAuliffe, P. Perini, L. Battistin, and P. Gallo. 2008. Extensive cortical inflammation is associated with epilepsy in multiple sclerosis. *J Neurol* 255, 4 (April 2008), 581–586. DOI:<https://doi.org/10.1007/s00415-008-0752-7>
- [4] Govind B. Chavhan, Paul S. Babyn, Bejoy Thomas, Manohar M. Shroff, and E. Mark Haacke. 2009. Principles, Techniques, and Applications of T2*-based MR Imaging and Its Special Applications. *RadioGraphics* 29, 5 (September 2009), 1433–1449. DOI:<https://doi.org/10.1148/rg.295095034>
- [5] Joon Yul Choi, In Hye Jeong, Se-Hong Oh, Chang-Hyun Oh, Na Young Park, Ho Jin Kim, and Jongho Lee. 2019. Evaluation of Normal-Appearing White Matter in Multiple Sclerosis Using Direct Visualization of Short Transverse Relaxation Time Component (ViSTa) Myelin Water Imaging and Gradient Echo and Spin Echo (GRASE) Myelin Water Imaging. *J. Magn. Reson. Imaging* 49, 4 (April 2019), 1091–1098. DOI:<https://doi.org/10.1002/jmri.26278>
- [6] R. Cusack and N. Papadakis. 2002. New Robust 3-D Phase Unwrapping Algorithms: Application to Magnetic Field Mapping and Undistorting Echoplanar Images. *NeuroImage* 16, 3 (July 2002), 754–764. DOI:<https://doi.org/10.1006/nimg.2002.1092>
- [7] Alexey V. Dimov, Thanh D. Nguyen, Kelly M. Gillen, Melanie Marcille, Pascal Spincemaille, David Pitt, Susan A. Gauthier, and Yi Wang. 2022. Susceptibility source separation from gradient echo data using magnitude decay modeling. *Journal of Neuroimaging* 32, 5 (September 2022), 852–859. DOI:<https://doi.org/10.1111/jon.13014>
- [8] Allen D. Elster. 1993. Gradient-Echo MR Imaging: Techniques and Acronyms. *Radiology* (1993). DOI:<https://doi.org/10.1148/radiology.186.1.8416546>
- [9] Julian Emmerich, Peter Bachert, Mark E. Ladd, and Sina Straub. 2021. On the separation of susceptibility sources in quantitative susceptibility mapping: Theory and phantom validation with an in vivo application to multiple sclerosis lesions of different age. *Journal of Magnetic Resonance* 330, (September 2021), 107033. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jmr.2021.107033>
- [10] David A. Feinberg and Koichi Oshio. GRASE (gradient- and spin-echo) MR imaging: a new fast clinical imaging technique. DOI:<https://doi.org/10.1148/radiology.181.2.1924811>

- [11] Moti Freiman, Jeannette M. Perez-Rossello, Michael J. Callahan, Stephan D. Voss, Kirsten Ecklund, Robert V. Mulkern, and Simon K. Warfield. 2013. Reliable estimation of incoherent motion parametric maps from diffusion-weighted MRI using fusion bootstrap moves. *Medical Image Analysis* 17, 3 (April 2013), 325–336. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.media.2012.12.001>
- [12] Andreia C. Freitas, Andreia S. Gaspar, Inês Sousa, Rui P. A. G. Teixeira, Joseph V. Hajnal, and Rita G. Nunes. 2021. Improving parametric estimation in the brain from multispin-echo sequences using a fusion bootstrap moves solver. *Magnetic Resonance in Med* 86, 5 (November 2021), 2426–2440. DOI:<https://doi.org/10.1002/mrm.28878>
- [13] Lukas Haider, Constantina Simeonidou, Günther Steinberger, Simon Hametner, Nikolaos Grigoriadis, Georgia Deretzi, Gabor G Kovacs, Alexandra Kutzelnigg, Hans Lassmann, and Josa M Frischer. 2014. Multiple sclerosis deep grey matter: the relation between demyelination, neurodegeneration, inflammation and iron. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 85, 12 (December 2014), 1386–1395. DOI:<https://doi.org/10.1136/jnnp-2014-307712>
- [14] Taisuke Harada, Kohsuke Kudo, Noriyuki Fujima, Masato Yoshikawa, Yohei Ikebe, Ryota Sato, Toru Shirai, Yoshitaka Bito, Ikuko Uwano, and Mari Miyata. 2022. Quantitative Susceptibility Mapping: Basic Methods and Clinical Applications. *RadioGraphics* 42, 4 (July 2022), 1161–1176. DOI:<https://doi.org/10.1148/rg.210054>
- [15] Bernd André Jung and Matthias Weigel. 2013. Spin echo magnetic resonance imaging. *J. Magn. Reson. Imaging* 37, 4 (April 2013), 805–817. DOI:<https://doi.org/10.1002/jmri.24068>
- [16] Christian Langkammer, Tian Liu, Michael Khalil, Christian Enzinger, Margit Jehna, Siegrid Fuchs, Franz Fazekas, Yi Wang, and Stefan Ropele. 2013. Quantitative Susceptibility Mapping in Multiple Sclerosis. *Radiology* 267, 2 (May 2013), 551–559. DOI:<https://doi.org/10.1148/radiol.12120707>
- [17] Victor Lempitsky, Carsten Rother, Stefan Roth, and Andrew Blake. 2010. Fusion Moves for Markov Random Field Optimization. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.* 32, 8 (August 2010), 1392–1405. DOI:<https://doi.org/10.1109/TPAMI.2009.143>
- [18] Steven M LeVine. 1997. Iron deposits in multiple sclerosis and Alzheimer’s disease brains. *Brain Research* 760, 1–2 (June 1997), 298–303. DOI:[https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)00470-8](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)00470-8)
- [19] Tian Liu, Ildar Khalidov, Ludovic de Rochefort, Pascal Spincemaille, Jing Liu, A. John Tsiouris, and Yi Wang. 2011. A novel background field removal method for MRI using projection onto dipole fields (PDF): IMPROVED BACKGROUND FIELD REMOVAL METHOD USING PDF. *NMR Biomed.* 24, 9 (November 2011), 1129–1136. DOI:<https://doi.org/10.1002/nbm.1670>
- [20] Michael Markl and Jochen Leupold. 2012. Gradient echo imaging. *J. Magn. Reson. Imaging* 35, 6 (June 2012), 1274–1289. DOI:<https://doi.org/10.1002/jmri.23638>
- [21] J.P. Marques and R. Bowtell. 2005. Application of a Fourier-based method for rapid calculation of field inhomogeneity due to spatial variation of magnetic susceptibility. *Concepts Magn. Reson.* 25B, 1 (April 2005), 65–78. DOI:<https://doi.org/10.1002/cmr.b.20034>

- [22] Thomas Prasloski, Alexander Rauscher, Alex L. MacKay, Madeleine Hodgson, Irene M. Vavasour, Corree Laule, and Burkhard Mädler. 2012. Rapid whole cerebrum myelin water imaging using a 3D GRASE sequence. *NeuroImage* 63, 1 (October 2012), 533–539. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.06.064>
- [23] Hyeong-Geol Shin, Jingu Lee, Young Hyun Yun, Seong Ho Yoo, Jinhee Jang, Se-Hong Oh, Yoonho Nam, Sehoon Jung, Sunhye Kim, Masaki Fukunaga, Woojun Kim, Hyung Jin Choi, and Jongho Lee. 2021. χ -separation: Magnetic susceptibility source separation toward iron and myelin mapping in the brain. *NeuroImage* 240, (October 2021), 118371. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2021.118371>
- [24] Erin Stephenson, Nabeela Nathoo, Yasamin Mahjoub, Jeff F. Dunn, and V. Wee Yong. 2014. Iron in multiple sclerosis: roles in neurodegeneration and repair. *Nat Rev Neurol* 10, 8 (August 2014), 459–468. DOI:<https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.118>