



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**“Imaging funzionale da MRI:
informazioni neuroscientifiche, confronto con
altre metodiche e struttura
dell'esame registrato.”**

Relatore: Prof. Facchinetti Andrea

Laureanda: Birtele Rachele

SOMMARIO

Introduzione	3
1 Principi della risonanza magnetica	4
1.1 Descrizione generale della risonanza magnetica funzionale neuronale	4
1.2 Attività neuronale e flusso sanguigno	5
1.3 Emoglobina e Deossiemoglobina	6
2 Concetti fisico-anatomici	7
2.1 Principi fisici della risonanza	7
2.2 Rilassamento spin-reticolo e rilassamento spin-spin	9
2.3 Epi	10
2.4 Effetto BOLD	11
3 Imaging	13
3.1 Imaging strutturale vs imaging funzionale	13
3.2 Differenze tra risonanza magnetica funzionale ed altri metodi	14
3.3 Compiti e funzioni testate	16
3.4 Resting state, risonanza magnetica funzionale in tempo reale e ad alto campo	18
4 Risoluzione ed acquisizioni di immagini da fMRI	19
4.1 Risoluzione spaziale e temporale	19
4.2 Acquisizione ed analisi di immagini	19
4.3 MNI template	20
5 Analisi di immagini	21
5.1 Tipologie di sollecitazioni	21
5.2 Pre-processing	21
5.3 Analisi statistica T-test e General Linear Model	24
5.4 Modelli della risposta emodinamica	25
5.5 Correzione confronti multipli	26
6 Hardware e Software	26
6.1 Hardware per fMRI, Software e strumenti utili per il neuroimaging	26
Conclusioni	28

Introduzione

Questa tesi è stata realizzata grazie al tirocinio fatto presso l'azienda EB-Neuro di Colognola ai Colli (VR), dove sono stata seguita dall' Ing. Cristian Brunelli, il quale mi ha introdotto in un'importante realtà aziendale Biomedica Veneta. È stata una sfida che mi ha coinvolto giorno dopo giorno durante il tirocinio, rendendomi sempre più interessata.

Questo elaborato approfondisce gli aspetti principali della risonanza magnetica funzionale, un esame molto utilizzato al giorno d'oggi. È una tecnica che prevede la mappatura dell'attività cerebrale in profondità nel cervello e permette di mappare quali aree del cervello si attivano durante l'esecuzione di un compito, misurando i livelli di ossigeno nel sangue.

Nel primo capitolo verrà introdotto il significato di risonanza magnetica funzionale, approfondendo alcuni aspetti importanti come l'attività neuronale ed il flusso sanguigno ed analizzando quali processi fisiologici vengono coinvolti. L'introduzione del concetto di emoglobina e deossiemoglobina risulterà infatti importante per analizzare l'imaging da risonanza magnetica funzionale.

Successivamente, nel secondo capitolo, ci si concentrerà sui principi fisici, ponendo l'attenzione sulla correlazione tra spin e campo magnetico, sulle differenti tipologie di rilassamento e sul significato di Free Induction Decay (FID). Il sottocapitolo 2.3 spiega inoltre la sequenza di eccitazione Eco Planar Imaging (EPI). La descrizione fatta in precedenza su emoglobina e deossiemoglobina è utile per analizzare l'effetto Blood Oxygenation Level Dependent (BOLD).

Il terzo capitolo introduce il significato di Imaging funzionale e strutturale, spiegando le principali differenze tra la risonanza magnetica funzionale ed altri metodi ponendo l'attenzione sul confronto tra MRI e fMRI. Segue un elenco di applicazioni, come la risonanza magnetica funzionale in tempo reale e ad alto campo.

Il quarto capitolo illustra la differenza tra risoluzione spaziale e temporale, le diverse fasi nell'acquisizione di immagini e i due modelli principali di Montreal Neurological Institute (MNI) template.

Nel quinto capitolo si analizzano i vari step che precedono l'immagine finale, partendo dalle tipologie di sollecitazione applicate, fino al pre-processing ed all'analisi statistica. Due brevi sottocapitoli sono riservati all'elenco dei modelli della risposta emodinamica e alla correzione dei confronti multipli.

Il sesto capitolo approfondisce l'hardware ed il software.

Nella mia esperienza presso l'azienda EB-Neuro ho avuto modo di analizzare la risonanza magnetica funzionale tramite il software 3D Slicer, potendo mettere in pratica gli studi effettuati durante il tirocinio.

L'elaborato si conclude riportando degli esempi relativi all'importanza della risonanza magnetica funzionale, in casi di studio applicativi.

1 Principi della risonanza magnetica

1.1 Descrizione generale della risonanza magnetica funzionale neuronale



Figura1.1 *Risonanza magnetica funzionale* [1]

La risonanza magnetica funzionale consente la mappatura dell'attività neuronale in profondità nel cervello, sfruttando le tecniche di imaging funzionale. Gli studi riguardanti la risonanza magnetica nascono dopo il secondo dopoguerra, affiancando le precedenti tecniche di diagnostica che sfruttano i raggi X. L'applicazione clinica si ha a partire dagli anni Ottanta. La prima tecnica di Imaging Neuronale è la 'Bilancia della circolazione umana' creata dal fisiologo Angelo Mosso nel 1880. Questo strumento misura la redistribuzione del sangue nel cervello durante le varie attività neuronali. La Risonanza Magnetica Funzionale (fMRI) è una tecnica di Imaging biomedico non-Invasiva, non richiede infatti di essere sottoposti ad interventi chirurgici, di assumere sostanze o di essere esposti a radiazioni ionizzanti. Solo per alcuni esami, viene iniettato endovena un farmaco, come i mezzi di contrasto al Gadolino, per avere un maggior contrasto nell'immagine. La fMRI utilizza le radiazioni viste nella tomografia computerizzata e negli esami radiografici. Questa tecnica è tra le più moderne del campo di neuroimaging funzionale, la quale permette di localizzare le zone di attività celebrale di maggior interesse, fornendo un'adeguata accuratezza temporale e una risoluzione spaziale millimetrica.

La risoluzione spaziale è uno dei principali vantaggi rispetto alle altre tecniche, ad esempio la Tomografia ad Emissione di Positroni (PET) e la Magnetoencefalografia (MEG). La fMRI consente nell'acquisizione di ottenere sia immagini anatomiche che immagini funzionali. Le aree attivate sono mostrate in scala di colori con sovrapposizione alle normali immagini di risonanza morfologica. Una scansione fMRI utilizza la stessa tecnologia della MRI, servendosi di un forte campo magnetico ed onde radio per creare immagine nel cervello.

Un fMRI produce immagini che mostrano il flusso sanguigno o la variazione di ossigenazione nel sangue al variare del tempo. Infatti nel 1890, il fisiologo Charles Sherrington, dimostrò che la stimolazione del cervello causava un locale aumento del flusso sanguigno. Egli inoltre osservò che la proporzione relativa di ossigeno estratta dal sangue nel momento di attività era ridotta: l'aumento

dell'apporto totale di ossigeno, risultava superiore all'aumento totale di ossigeno utilizzato. Questo ritornerà utile nei temi successivi.

In ambito clinico la fMRI è utilizzata per il "planning pre-chirurgico", che serve per visualizzare le aree più sensibili, in modo tale da informare il chirurgo sulle zone da evitare durante l'operazione.

I cambiamenti dell'attività neurale nel cervello sono associati alla variazione di energia: tanto maggiore è l'attività di una porzione cerebrale, tanto maggiore è il metabolismo e la richiesta energetica. Si sfruttano dunque le proprietà nucleari di certi atomi in risposta ai campi magnetici. Tramite questa tecnica possiamo ad esempio individuare le variazioni dell'ossigenazione delle regioni corticali o ricostruire la mappa di attivazione del cervello per funzioni motorie, sensoriali, mentali...

1.2 Attività neuronale e flusso sanguigno

Per poter comprendere a fondo la trasmissione degli impulsi dobbiamo analizzare degli aspetti importanti del sistema nervoso centrale. Midollo spinale ed encefalo sono le componenti caratterizzanti il sistema nervoso centrale. Il primo è la sede dei riflessi elementari, è caratterizzato da un insieme di fibre nervose presenti all'interno della colonna vertebrale e crea collegamento tra il cervello ed il resto del corpo.

Dalla seconda vertebra lombare, il midollo spinale si divide in diversi gruppi di fibre (nervi), diretti verso la metà inferiore del corpo. I nervi della zona cervicale sono diretti verso le braccia e la parte superiore del petto. Invece, i nervi presenti nella parte lombare sono diretti verso intestino, gambe e vescica. I nervi, grazie ai segnali elettrici, sono un importante collegamento tra cervello e le periferie del corpo.

L'encefalo è invece suddiviso in 4 regioni: cervello, cervelletto, diencefalo e tronco encefalico. Il cervello è la parte più grande e sviluppata dell'encefalo. È formato da corteccia cerebrale e componente sottocorticale. Nella parte interna sono presenti le fibre nervose. Queste ultime, con i loro prolungamenti, trasportano o ricevono informazioni da e verso zone del corpo. Il cervello rappresenta solo il 2% della massa corporea totale, ma consuma il 20% del glucosio e dell'ossigeno e riceve il 20% del suo apporto di sangue. Nel sistema nervoso centrale (SNC) le diverse funzioni cerebrali sono il risultato dell'attività di regioni encefaliche come ad esempio: le regioni occipitali per la visione, quelle fronto-parietali per il movimento e quelle temporali per l'ascolto, comprensione linguistica e la memoria.

Il concetto fondamentale per approcciarsi alle immagini funzionali è che il flusso sanguigno ed il metabolismo energetico sono strettamente legati all'attività neuronale locale. L'informazione, nell'attività neuronale, viene trasferita tra i neuroni mediante il rilascio di molecole di neurotrasmettitori e loro interazione con specifici recettori posizionati sui neuroni bersaglio.

Sappiamo che la RM rappresenta l'ultima fase dell'attività cerebrale: dunque posso dividere l'attività nervosa tramite questo schema:

Come ben sappiamo, i processi metabolici necessitano di un incremento del volume di sangue ad esse affluente durante le fasi di attivazione. L'fMRI permette di valutare l'aumento di flusso sanguigno nelle zone di interesse, verificando quali siano coinvolte durante l'attività neuronale. Quando le cellule nervose sono attive, consumano ossigeno. La maggior parte dell'energia utilizzata dai neuroni è importante per sostenere la pompa sodio potassio. La fonte energetica di questi processi cellulari è l'Adenosina Trifosfato (ATP). Il sangue trasporta i nutrienti in tutte le parti del corpo.

- Attività nervosa (tramite elettroencefalografia)
- Movimento delle correnti di ioni
- Attivazione pompa sodio potassio, consumo di ATP
- Consumo glucosio con produzione di ATP (Fase studiata dalla PET)
- Formazione dei flussi cerebrali (Fase studiata dalla fMRI)

È chiaro che l'attività neuronale locale è accompagnata da variazioni del flusso sanguigno cerebrale. Possiamo spiegarlo tramite un esempio:

P.t. FOX e M.E.Raichle, studiosi di neuroscienze presso la Washington University, hanno per primi evidenziato la risposta della corteccia visiva data da uno stimolo visivo. In particolare si concentrarono sulla variazione del flusso sanguigno servendosi di un esame PET. La frequenza della luce lampeggiante veniva portata da 2 a 32 Hz, il flusso sanguigno incrementava linearmente da 2 a 8Hz. In una situazione di riposo visivo si stabilizzava sui 32 Hz. [17]

Infine dobbiamo ricordare che ci possono essere dei cambiamenti, dipendenti dall'età del soggetto, tra attivazione neuronale e aumento del flusso sanguigno. Ad esempio, nei neonati, la concentrazione relativa locale della deossiemoglobina può aumentare, invece di decrescere, con l'attività neuronale. Negli anziani potrebbe esserci un'attenuazione del flusso sanguigno.

1.3 Emoglobina e Deossiemoglobina

L'emoglobina, la proteina solubile che troviamo all'interno dei globuli rossi, è responsabile del trasporto di ossigeno nelle varie parti del corpo. Quando non è legata all'ossigeno, viene chiamata deossiemoglobina. L'emoglobina completamente ossigenata possiede delle proprietà diamagnetiche, mentre la deossiemoglobina delle proprietà paramagnetiche. Le due tipologie di emoglobina possiedono colori diversi. Il sangue arterioso contenente ossiemoglobina è di colore rosso vivo. Il sangue venoso contenente deossiemoglobina è di colore rosso scuro.

2 Concetti fisico-anatomici

2.1 Principi fisici della risonanza

Alcuni nuclei possiedono delle proprietà magnetiche importanti. Tra i più conosciuti ed utilizzati vi è il nucleo di idrogeno (^1H).

Il diamagnetismo, il quale possiede magnetizzazione con verso opposto rispetto al campo magnetico, è formato da valori negativi della suscettività magnetica e da permeabilità minore di 1. L'idrogeno è una sostanza diamagnetica. È un gas debolmente respinto dalle forze magnetiche. Per la formazione di immagini MRI standard viene utilizzato l'atomo di idrogeno. Ciascun protone possiede una carica, un momento angolare (riferito allo spin) e può ruotare attorno al proprio asse. Questa rotazione produce un dipolo magnetico con orientamento parallelo all'asse del nucleo. Questi nuclei, se sottoposti ad un campo magnetico, esibiscono uno spin non nullo ed un comportamento simile ad un magnete (dipolo magnetico).

Se inizialmente il campo magnetico è nullo, si osserva un'orientazione casuale del nucleo. Si riscontra che la somma vettoriale delle magnetizzazioni è nulla. In presenza di un campo magnetico statico B_0 , di sufficiente intensità ($B_0 > 0.5\text{T}$) i dipoli magnetici dei protoni tendono ad allinearsi lungo la direzione del campo magnetico (direzione z). Alcuni spin saranno con verso parallelo (spin up), mentre altri con verso antiparallelo (spin down). Spin up rappresenta una condizione di bassa energia (più probabile), diversamente da quelli spin down. Dunque quando il tessuto viene posizionato all'interno di un campo magnetico statico, i protoni si orientano secondo la direzione del campo. La direzione con cui le particelle sono deflesse è indicata convenzionalmente con z. Guardando la particella a livello microscopico, quando è applicato un campo magnetico B si ottengono due stati entrambi con μ che crea un angolo $\pm \theta$ con B_0 . L'insieme dei nuclei formerà una magnetizzazione netta M_0 , con direzione/verso quella del campo magnetico statico e come risultante la somma vettoriale tra i nuclei presenti. Dunque, aumentando l'intensità B_0 cresce di conseguenza quella di M_0 , con aumento del vettore M_0 e dunque anche del segnale rilevato per le immagini di MRI e fMRI. Si crea quindi un moto di precessione intorno alla direzione del campo magnetico, μ precessa attorno a B_0 . La componente μ_z di μ parallela a B_0 non cambia, la proiezione μ_{xy} di μ sul piano perpendicolare a B_0 ruota con frequenza di Larmor Ω_0 .

Dunque, riassumendo, in presenza di un campo esterno gli spin tendono ad orientarsi parallelamente o anti-parallelamente ad esso, precedono con fase casuale. La magnetizzazione totale è M_z nella direzione di B_0 e non abbiamo nessuna magnetizzazione nel piano trasversale.

Quando la magnetizzazione risulta essere all'equilibrio non si rileva alcun segnale in una bobina conduttrice, posta attorno al campione. Per rilevare un segnale è necessario perturbare gli spin. Il fenomeno della risonanza magnetica richiede di inviare un'onda a radiofrequenza RF, un'onda elettromagnetica ad alta frequenza che si diffonde nello spazio, per un certo tempo Δt . RF possiede frequenza identica a quella di precessione dei protoni di H. Quando i nuclei acquistano energia da un'onda di eccitazione RF perdono la condizione di equilibrio. B_1 ruota attorno a B_0 con frequenza di Larmor. Per un campo di 1 T la frequenza di Larmor dell'atomo di idrogeno è di 42 Mhz. Un certo numero di protoni allineati al campo (concordi) andrà ad un livello energetico più alto, quindi a portarsi in verso discorde a B_0 , fino al raggiungimento di una sincronizzazione di fase. L'impulso RF appena trattato è un impulso a 90°, e porta la magnetizzazione M a porsi sul piano trasversale alla direzione di B_0 . Dunque la magnetizzazione passa da avere una componente longitudinale lungo z ad avere una componente trasversale. La componente M parallela a B_0 (M_z) si riduce, mentre la componente M perpendicolare a B_0 (M_{xy}) aumenta e ruota nel piano xy alla frequenza di Larmor. B_1 causa l'inclinazione di M_z dalla posizione parallela a B_0 verso il piano xy, di un angolo chiamato flip angle. M_z segue una traiettoria a spirale attorno a B_0 . Una volta finito l'impulso a RF, il sistema

protonico si trova in una situazione di non equilibrio. Gli spin cercano di liberarsi dell'energia eccessiva, fino a tornare alla condizione iniziale.

La magnetizzazione ritorna alla sua condizione iniziale. Vi è dunque un fenomeno di rilassamento trasversale e longitudinale. Il rilassamento porta alla liberazione di energia immagazzinata durante il campo B_1 e dunque alla produzione del segnale MRI. Il segnale RF viene misurato nel piano xy e viene denominato FID (Free Induction Decay). In pratica è la variazione di M_{xy} nel tempo.

Quello che misuro nella risonanza magnetica è il FID, il quale è rilevato usando una bobina ad induzione elettromagnetica. La misura del FID dipende da T_1 , T_2 , p (come vedremo successivamente) e ognuno si enfatizza in base alla sequenza utilizzata.

Il più importante esperimento consiste nel perturbare il momento magnetico nel piano trasversale usando un breve impulso a radiofrequenza B_1 per poi osservare il segnale nella bobina del ricevitore. Quello che si osserva è un segnale oscillante che decade sotto un involuppo esponenziale.

Sarebbe possibile effettuare misure, rilevando il segnale emesso da tanti atomi, come sodio e carbonio, tuttavia in ambito diagnostico viene usato quasi esclusivamente l'idrogeno.

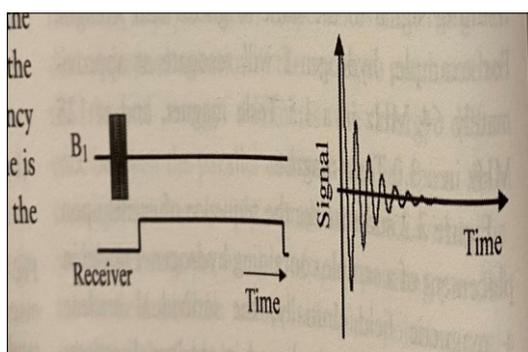


Figura 2.1 Un esperimento di FID. Viene applicato un breve campo magnetico a radiofrequenza e viene rilevato un segnale. [2]

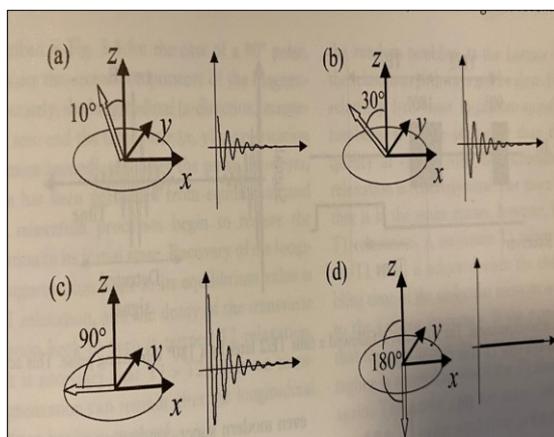


Figura 2.2 Esperimenti di FID con diverse larghezze di impulso. A 90 gradi il segnale di FID è al suo massimo. A 180 gradi non viene misurato nessun segnale di FID. [3]

2.2 Rilassamento spin-reticolo e rilassamento spin-spin

Da questo momento risulta utile parlare di rilassamento longitudinale e di rilassamento trasversale. Nel rilassamento longitudinale, o rilassamento spin reticolo, vi è uno scambio di energia termica, con un processo di recupero della magnetizzazione longitudinale. I nuclei, tornando al loro equilibrio iniziale, restituiscono all'ambiente l'energia ottenuta dagli spin durante gli impulsi a RF. Vi è una transizione dei protoni verso uno stato ad energia minore, con cessione di energia dai nuclei al reticolo. La magnetizzazione netta recupera l'allineamento con la direzione di B0.

La costante di tempo che descrive il ritorno all'equilibrio di Mz (magnetizzazione longitudinale) è chiamata T1 ed è il tempo di rilassamento spin-reticolo. T1 è strettamente legato alla velocità con cui Mz torna all'equilibrio M0. T1 è una costante di tempo che dipende dal materiale.

L'equazione che descrive il fenomeno al variare di t è:

$$M_z = M_0 (1 - e^{-t/T_1})$$

Equazione 1

T1 è il tempo necessario per far sì che Mz riottienga il 63% del valore iniziale.

Se Mz è posto lungo -z, la formula diventa:

$$M_z = M_0 (1 - 2 e^{-t/T_1})$$

Equazione 2

Nel rilassamento spin spin o trasversale vi è una perdita di coerenza di fase tra i vari spin. Questo è un processo di decadimento della magnetizzazione trasversale. Vi è dunque un decadimento esponenziale della magnetizzazione trasversale Mxy, dato dal fatto che ogni protone è immerso in un campo magnetico dovuto movimento di ogni carica che lo circonda. Mxy decade verso il suo valore 0. T2 rappresenta la velocità di decadimento del segnale. Oltre a questa tipologia, cito quella di decadimento trasversale addizionale, dovuta alle particelle paramagnetiche che producono una disomogeneità di B0 (campo magnetico statico).

È dunque necessario definire un'altra costante di tempo T2* dipendente da T2 e T2'. Il contrasto ottenuto nelle immagini Mri è dato dalle proprietà magnetiche che si riscontrano nei vari tessuti. Variando il tempo di ripetizione degli impulsi a RF il contrasto tra i vari tessuti può risultare importante. I parametri di misura del segnale a MR sono TR, TE e flip angle. TR viene misurato in millisecondi. Variando questo parametro varia l'intensità del segnale raccolto. Nella risonanza magnetica vi è un forte aumento del T2*.

T1 rappresenta quanto velocemente i protoni si riallineano con la direzione del campo. T2 invece, quanto velocemente i protoni rilasciano energia per tornare alla condizione di equilibrio.

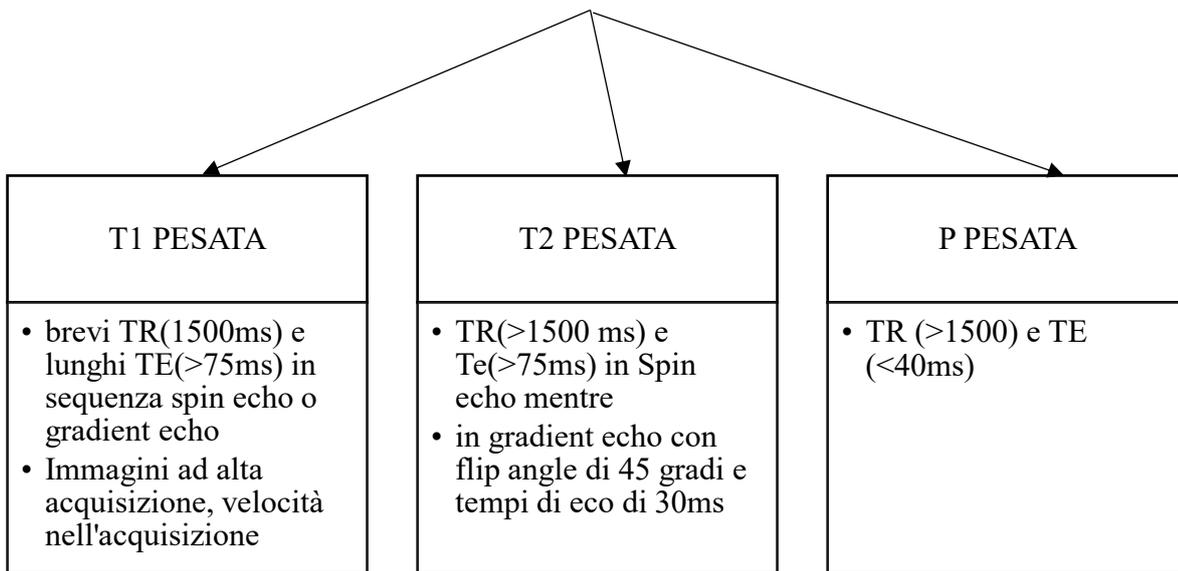
TR è il tempo che intercorre tra impulso principale di una sequenza e il successivo nella sequenza stessa. TE rappresenta invece il tempo di echo, tempo concesso agli spin per perdere la coerenza di fase prima di rilevare il segnale.

TR determina il flip angle. Diminuendo TR, diminuisce il flip angle e di conseguenza si ottiene un segnale debole con un minor volume da analizzare.

Le immagini pesate in T1 e in T2 forniscono informazioni complementari. Le prime mostrano l'anatomia dei tessuti molli e il tessuto adiposo. Le seconde mostrano il liquido e le patologie.

Vediamo altri parametri fondamentali per l'acquisizione di immagini:

IMMAGINE



2.3 Epi

L'eco planar imaging (EPI) è una sequenza di eccitazioni utilizzate per la risonanza magnetica funzionale. È caratterizzata da un'elevata risoluzione temporale, infatti con una sola eccitazione si ottiene una immagine completa, rapida e veloce.

Il contrasto di questa immagine è T2* pesata. Con una sola eccitazione si ottiene un'immagine completa. EPI si basa generalmente sul Gradient echo. Gli echi multipli, vengono dunque acquisiti ciascuno con una diversa codifica di fase.

Inviato l'impulso a radiofrequenza, è applicato un gradiente di defasamento sull'asse di lettura nello stesso momento in cui viene applicato il gradiente di codifica di fase. Successivamente è applicato un gradiente di lettura, dove nella parte centrale si forma un echo. Poi viene applicato un gradiente di codifica di fase (piccolo) e infine un gradiente di lettura (lettura riga successiva del k-spazio) con polarità invertita. Ripetendo la sequenza, si ottiene tutto il k-spazio.

Nello Spin Echo-EPI si usa invece la sequenza spin echo come base, con contrasto T2-pesato. Si applica un impulso di 180 gradi prima delle acquisizioni.

Il k-spazio può essere attraversato con modalità diverse, ad esempio con un metodo a spirale.

2.4 Effetto BOLD

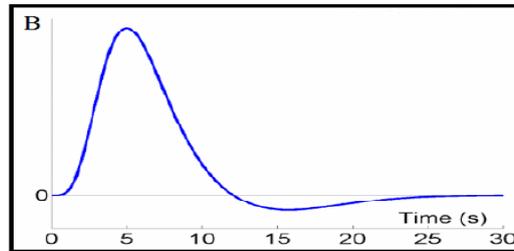


figura 2.3 *Andamento temporale del segnale BOLD effettuato con un campo di 1.5 T. Tipica risposta impulsiva del segnale BOLD [4]*

L'effetto BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent) può essere descritto a livello teorico come la modifica dello stato di ossigenazione dell'emoglobina nei globuli rossi. La tecnica sfrutta le proprietà magnetiche dell'emoglobina ossigenata e deossigenata. I cambiamenti del segnale BOLD avvengono nei tessuti ma anche all'interno del sistema vascolare. Le proprietà relative di queste ultime cambiano al variare dell'attività neurale.

$T2^*$ risulta essere sensibile agli ioni paramagnetici. Tra questi vi è la deossiemoglobina nel sangue. Solitamente si usa l'effetto BOLD con immagini $T2^*$ pesate. Nell'effetto BOLD è importante il rapporto Hbr/HbO_2 , cioè tra deossiemoglobina ed emoglobina. Hbr è formata da 4 catene polipeptidiche, legate ciascuna covalentemente ad un gruppo eme. Il gruppo eme è formato da una molecola di protoporfirina coordinante uno ione ferro Fe^{2+} . Il ferro dell' Hbr (deossigenata) è una sostanza paramagnetica ($M \neq 0$), dunque è facilmente polarizzabile se immersa in un campo magnetico. Nei materiali paramagnetici, aumenta il flusso magnetico. Il campo magnetico applicato viene dunque attratto dal materiale. Il sangue deossigenato (paramagnetico), genera campi magnetici locali che interrompono l'omogeneità del campo applicato. Si crea dunque uno sfasamento irreversibile che implica la perdita del segnale fMRI. Contrariamente, il ferro della HbO_2 , non è facilmente suscettibile al campo magnetico applicato. HbO_2 è infatti ossigenata e possiede proprietà diamagnetiche ($M=0$). Ricordiamo che il sangue deossigenato possiede una suscettibilità magnetica $\approx 20\%$ del sangue ossigenato. Il rapporto tra le forme di emoglobina e deossiemoglobina è diverso tra lo stato di attività e inattività celebrale. I neuroni, nella fase di inattività, prendono una quantità di ossigeno da HbO_2 , la quale diventa Hbr . Se il task risulta essere di semplice riposo, si noterà un segnale MR meno intenso dovuto al fatto che non vi è troppa necessità di HbO_2 . Dunque come abbiamo detto prima, il fatto di avere più Hbr , determina la diminuzione del segnale nelle immagini pesate $T2^*$. Nelle aree di attività celebrale, invece, noteremo un aumento della concentrazione di ossiemoglobina HbO_2 , dunque un rapporto Hbr/HbO_2 minore, con un aumento del segnale rilevato. Questo aumento è dovuto alla diminuzione della deossiemoglobina con conseguente aumento del parametro $T2^*$. Il consumo di ossigeno da parte dei neuroni risulta essere inferiore alla quantità presente nell'area interessata. Con campi $B_0 \geq 1.5T$ e immagini pesate $T2^*$ è possibile misurare un segnale dipendente da $T2^*$.

In un'immagine fMRI, le differenze della quantità di ossigeno vengono visualizzate come variazioni di intensità del segnale, il quale è indicato come legato al livello di ossigenazione del sangue, o contrasto BOLD. Il segnale BOLD è determinato con un'acquisizione (veloce) Volumetrica di immagini (contrasto pesata $T2$ o $T2^*$).

Il modo in cui il segnale BOLD cambia nel tempo in risposta all'aumento dell'attività neuronale viene chiamato HDR, Risposta Emodinamica. Quest'ultima è la variazione del segnale misurato dalle

bobine dovuto alla variazione dell'attività neuronale. La risposta emodinamica varia a seconda dello stimolo (impulso, rect etc).

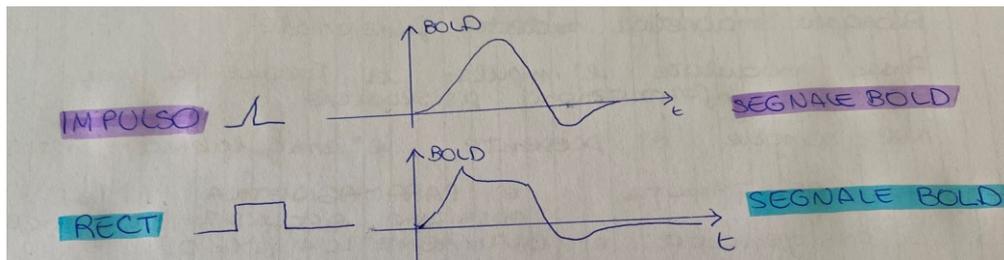


figura 2.4 Rappresentazione del segnale bold in base allo stimolo (impulso o rect) [5]

Il segnale BOLD si genera dall'afflusso totale di sangue cerebrale da parte di arterie, vene, arteriole, venule e capillari.

Vasi più piccoli necessitano di campi magnetici più intensi.

Negli scanner da 1.5 T il 70 % del segnale BOLD deriva da vasi maggiori, mentre negli scanner da 4 T il 70% del segnale BOLD deriva da vasi minori.

Il segnale BOLD inoltre è strettamente correlato a B^2 (quadrato dell'intensità del campo magnetico)

Il segnale BOLD iniziale, negativo, dura circa 1-2 secondi ed è molto debole, meno intenso e difficile da estrarre (visualizzato solo tramite l'utilizzo di campi magnetici di 3T). Dunque scanner con campi magnetici più intensi permettono di ottenere un maggior segnale rilevabile.

Dopo circa 2-3 secondi dall'inizio dell'attività neuronale, il segnale BOLD inizia a crescere e raggiungendo il suo picco dopo 5-10 secondi.

Vediamo che il segnale scende sotto il livello basale, chiamato undershoot, questo può essere causato da capillari inutilizzati che si attivano oppure dalla dilatazione di alcuni capillari

Il tempo totale di svolgimento di una risposta BOLD (da un breve stimolo) è circa 15 secondi. [t16]

Schema segnale fMRI

Aumento locale attività neuroni

- Aumento locale del metabolismo della zona attivata
- Consumo di ossigeno da parte delle cellule con conseguente aumento del flusso sanguigno
- Incremento Hb02
- Consumo di Ossigeno, non in grande quantità. Gran parte dell'ossigeno rimane, vi è surplus di ossiemoglobina
- Riduzione relativa di deossiemoglobina

Aumento locale del segnale fMRI in T2.

3 Imaging

3.1 Imaging strutturale vs imaging funzionale

L'Imaging è la rappresentazione di un'area del corpo non visibile ad occhio umano. Esistono diverse tipologie di Imaging. L'Imaging strutturale (TC, MRI) è basato sulle proprietà fisiche dei tessuti cerebrali e permette la visualizzazione di diverse strutture del cervello. L'imaging funzionale (PET, fMRI) è basato sulla concentrazione di ossigeno nel sangue o sul volume di sangue. Viene utilizzato per lo studio dei processi cognitivi.

Mi soffermo sulle altre tecniche diagnostiche per immagini (TC e PET) per comprendere le principali differenze con la tecnica studiata in questo approfondimento. La Tomografia computerizzata (TC) utilizza Imaging strutturale, consiste in un esame radiologico, nella quale vi è l'emissione di raggi X. I vari tessuti assorbono una quantità differente di raggi X a seconda della loro conformazione. Risulta essere un metodo poco invasivo anche se ci sono alcune controindicazioni per alcuni pazienti per la presenza di raggi X e per la somministrazione di farmaci radioopachi contenenti Iodio. Viene utilizzata per pazienti con tumori, danni cerebrali, studio di arcate dentarie, studio del collo, studio del cuore etc. La dimensione di uno scanner medicale standard risulta essere di 512 x 512 voxel e profondità 16 bit/pixel. Inoltre la risoluzione spaziale della TC è minore della radiografia convenzionale.

La Tomografia ad Emissione di Positroni (PET) invece è una tecnica diagnostica di medicina nucleare che comporta la somministrazione, per via endovenosa di radiomarcatori o radiocomposti metabolici: come il glucosio marcato con una molecola radioattiva. La PET rileva la distribuzione nel corpo di queste sostanze. Il tracciante radioattivo, infatti, emette delle particelle (Positroni) che vengono ricevuti da uno scanner, il Tomografo. È molto utile per la verifica di tumori o metastasi. La risoluzione spaziale è di 10mm (peggiore della risoluzione spaziale della fMRI). È necessario inoltre che la risoluzione temporale sia inferiore a 200ps. È un esame non invasivo e privo di rischi.

Differenti metodi di Imaging cerebrale funzionale sono spesso comparati tramite la risoluzione spaziale e temporale. Le informazioni riguardanti l'attività neuronale possono essere ottenute utilizzando metodi che hanno una risoluzione spaziale in piano di 3 mm o superiore.

Tutti questi metodi si basano sulla mappatura diretta di dipoli cerebrali transitori, generati dalla depolarizzazione neuronale (EEG o elettroencefalografia) oppure dai dipoli magnetici (MEG o magnetoencefalografia). Questi provvedono a definire gli eventi neuronali corticali sottostanti in tempo reale(10-100ms) ma hanno una scarsa risoluzione spaziale (molti mm-cm).

Invece la fMRI e la PET (tomografia a emissione di positroni) possiedono una risoluzione spaziale alta (1-10 mm approssimativamente) ma hanno una scarsa risoluzione temporale (questa è dovuta alla lentezza dei cambiamenti emodinamici).

Ricordiamo che la fMRI misura la concentrazione di ossigeno, a differenza della PET, che misura il cambiamento del flusso sanguigno. La risoluzione spaziale della fMRI (1-10 mm) è comunque alta rispetto alle altre tecniche. Tuttavia la risoluzione temporale risulta essere limitata (a causa dei cambiamenti emodinamici molto lenti che accompagnano la depolarizzazione neuronale). I metodi di immagine ottica, invece, misurano i cambiamenti nel flusso sanguigno corticale e possiedono una bassa risoluzione spaziale.

3.2 Differenze tra risonanza magnetica funzionale ed altri metodi

Attualmente la risonanza magnetica viene utilizzata nella prassi clinica e i parametri ottenuti possono derivare da diverse tipologie di funzionamento. Abbiamo infatti la risonanza magnetica strutturale, la quale consente di ottenere immagini strutturali e la risonanza magnetica funzionale, che permette di avere immagini collegate al funzionamento di una specifica area cerebrale.

La risonanza magnetica utilizza un campo magnetico con energia a radiofrequenza. Il campo magnetico è costante (1.5-4T). La procedura della scansione ad un paziente richiede un tempo di 30/60 minuti. La Mri utilizza potenti onde radio e piastre magnetiche. Possono essere ottenute due tipi di immagini, T1 e T2 pesate.

La procedura della risonanza magnetica funzionale, invece, è simile a quella della risonanza magnetica, il paziente si trova con la testa in una bobina a radiofrequenza (1.5 o 3 T). Dunque $B_0 > 1.5T$ per avere un risultato apprezzabile. Una volta che il paziente si trova nella macchina, il medico dà delle istruzioni al paziente. Le immagini funzionali vengono acquisite quando il cervello è in una condizione di riposo e quando invece sta eseguendo un task. La stessa tipologia di task viene ripetuta nel periodo per poter creare una media statistica di tutti i valori delle immagini riguardanti l'attivazione. L'immagine finale è il risultato di una sottrazione mediata tra l'immagine acquisita durante il riposo e l'immagine acquisita durante lo stimolo. Dunque si ottiene un'immagine statistica parametrica, la quale verrà sovrapposta all'immagine anatomica. Il segnale BOLD viene misurato con una rapida acquisizione volumetrica di immagini, pesate T2 oppure T2*. I task possiedono una uguale durata, circa 20-30 secondi. Recentemente viene utilizzato un metodo diverso che prevede un periodo di attivazione più corto, alternato da un periodo più lungo di riposo (Bucker et al.1996). Il paziente dispone di un paio di occhiali specializzati e delle cuffie. Il medico quindi istruisce il paziente a fare determinati movimenti, come stringere la mano o svolgere un'attività mentale. Gli stimoli, dunque, possono essere visivi, tattili o uditivi. L'attivazione funzionale si può sempre vedere mentre il paziente svolge il proprio compito. Le regioni attive del cervello, tramite un sistema di imaging, vengono combinate con normali foto della risonanza magnetica (foto dell'anatomia cerebrale). Una risonanza magnetica funzionale può durare anche 1 ora.

Differenze principali tra MRI e fMRI:

MRI	fMRI
<p>100% sicuro, metodo non invasivo fornisce immagini che evidenziano le strutture cerebrali e di altri parti del corpo, differenzia i tessuti sani da quelli con lesioni.</p>	<p>100% sicuro, metodo non invasivo Permette di mappare quali aree del cervello si attivano durante l'esecuzione di un compito come parlare, percepire una figura o muovere un dito</p>
<p>Sfrutta le proprietà magnetiche di certi atomi in presenza di campi magnetici. (studio dei protoni di idrogeno della molecola dell'acqua). Il segnale della risonanza magnetica dipende dai protoni dell'acqua presenti nei tessuti. L'intensità dell'immagine dipende invece dalla densità dei protoni ed è influenzato dall'ambiente attorno alla molecola d'acqua</p>	<p>Misura i livelli di ossigeno nel sangue, variazione della quantità di ossiemoglobina e deossiemoglobina a seconda del tipo di attività (cambia il rapporto deossiemoglobina ed ossiemoglobina)</p>
<p>Sistema di Imaging che identifica le differenze tra i tessuti nello spazio</p>	<p>Sistema di imaging che identifica le differenze tra i tessuti rispetto al tempo. Si ottengono mappe di distribuzione statistica, dati da effetti medici dell'attivazione di un'area.</p>
<p>Alta risoluzione(1mm) Risoluzione spaziale intrinseca bassa (dettagli di 1 mm sono al limite dell'osservabile). Immagine ottenuta: 1 solo volume 3D. Dimensione immagini da 256x256(immagini cardiache) pixel a 1024x1024. profondità 16 bit/pixel.</p>	<p>Media risoluzione(3mm) Risoluzione spaziale: 1-10 mm. Tipicamente 3x3x3mm. Serie di volumi 3D (4D DATA), ad esempio 1 Volume ogni 2 secondi.</p>
<p>Ampiamente utilizzata in ambito medico Economica e affidabile</p>	<p>Utilizzata per scopi sperimentali e clinici. Apparecchiature hardware e programmi software aggiuntivi, dunque più costosa</p>

CRITICHE ALLA fMRI:

- Aree diverse del cervello hanno risposte emodinamiche diverse.
- Molto rumoroso e sensibile ai piccoli movimenti.
- Distorsioni delle immagini nelle regioni dove sono presenti tessuti diversi.
- BOLD è suscettibile a fenomeni fisiologici.
- Risposta temporale lieve rispetto ad altri metodi come ECG o la MEG.
- Modelli teorici usati per descrivere il segnale della risonanza magnetica funzionale sono poco precisi e quindi difficili da falsificare (aspetto fondamentale del metodo scientifico). ECG ha tempi di risposta più brevi perché misura attività elettrica dei neuroni e non l'attività sanguigna, come la fMRI.

3.3 Compiti e funzioni testate

Nella figura di seguito si mostra l'attivazione della rappresentazione cerebrale del piede destro e sinistro. Inoltre viene mostrata la rappresentazione cerebrale di movimenti ripetitivi della lingua sotto l'attivazione di movimenti ripetitivi di mano dx e sx.

Funzione motoria

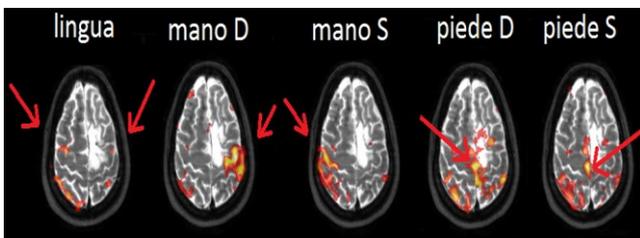


Figura 3.1 attivazione cerebrale piede destro e sinistro [6]

Memoria

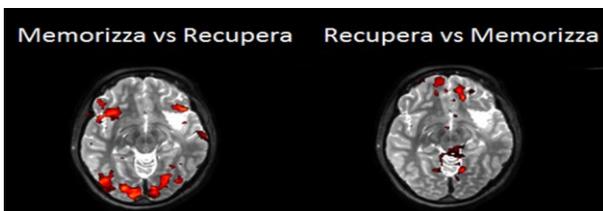


Figura 3.2 attivazione cerebrale attività di memorizzazione [7]

Udito

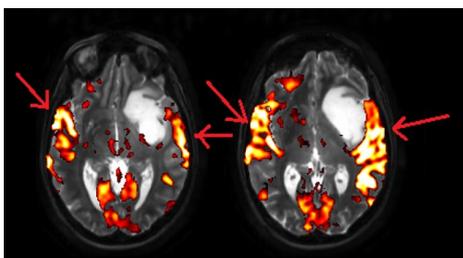


Figura 3.3 attivazione cerebrale attività di ascolto [f8]

L' fMRI, oltre ad essere importante nella ricerca per le analisi di istruzioni basilari, viene anche utilizzata per valutare differenti patologie: Dipendenza da Droghe, Depressione, Stroke, Disturbo ossessivo compulsivo, Disturbo Bipolare-, Mania, Autismo, Malattie della sostanza bianca, Sindrome da Stress Post Traumatico, Anomali Metaboliche, Accidenti Cerebrovascolari, Schizofrenia, Sindrome di Tourette, Epilessia, Parkinson, Dolore, Emicrania.

DIPENDENZA DA DROGHE

Negli studi con fMRI, vengono visualizzate immagini multiple. Studi di persone appartenenti a gruppi diversi - come tossicodipendenti e non-tossicodipendenti - possono generare differenze nelle zone cerebrali. L'fMRI è stata impiegata per studiare gli effetti delle droghe, come la cocaina. I volontari hanno riportato l'attivazione del caudato, il cingolo e PFC laterali in maniera differente rispetto ad un soggetto sano. Il cingolo anteriore ha il compito del controllo cognitivo comportamentale. La corteccia prefrontale (PFC) invece ha il compito di controllare i comportamenti cognitivi complessi, le decisioni e di moderare i comportamenti in società. I soggetti dipendenti da cocaina dunque presentavano una minore attivazione del lobo frontale rispetto ai soggetti sani durante la visualizzazione di video che stimolavano all'uso della cocaina.

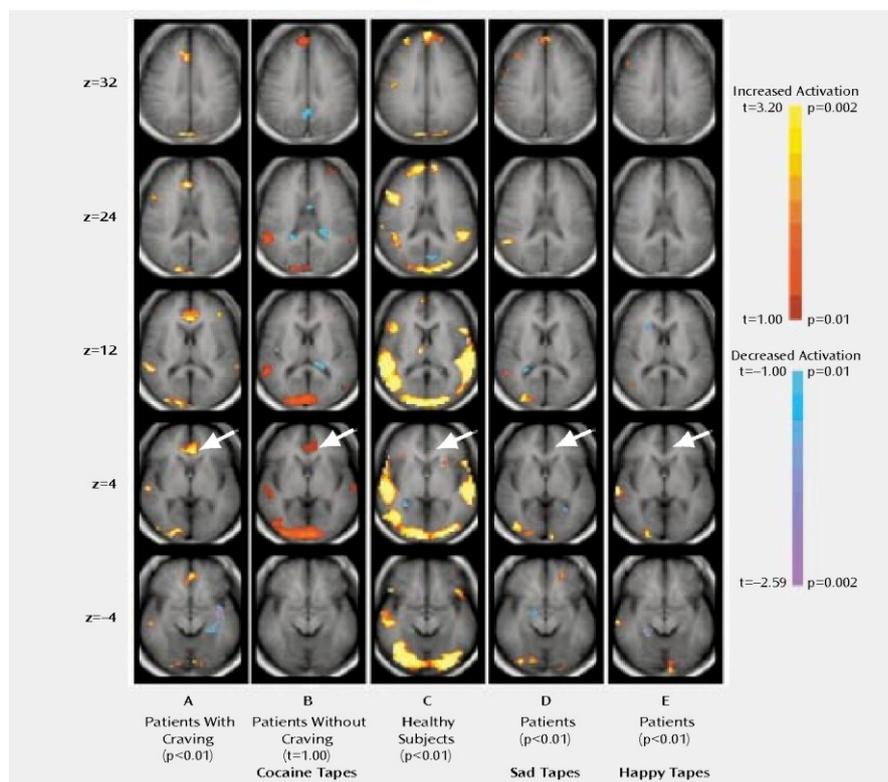


Figura 3.4 Immagini fMRI che confrontano la risposta alla visione di una videocassetta di 11 pazienti dipendenti da cocaina e di 20 pazienti sani. Nell'immagine vediamo Imaging di pazienti con Craving e senza Craving.[9]

3.4 Resting state, risonanza magnetica funzionale in tempo reale e ad alto campo

Resting state

Il Resting-State fMRI è una metodica che permette di studiare la natura della funzione corticale e la connettività in stato di riposo (persona sdraiata con occhi chiusi). Il cervello dunque risulta essere 'sveglio' e cosciente ma senza particolari stimoli. Sappiamo che le fluttuazioni a bassa frequenza del BOLD, derivanti dallo stato di riposo, sono più correlate tra loro rispetto alle fluttuazioni delle aree di attività. Dunque vi è la presenza di legami dinamici, come ad esempio il controllo delle inibizioni, l'attenzione dorsale, la modalità uditiva etc. Inoltre bisogna sottolineare che le reti funzionali legate all'attività cerebrale sono perfettamente coerenti tra di loro. Dunque si è osservato che l'attività spontanea nel cervello a riposo non è un rumore di tipo casuale. Queste fluttuazioni spontanee, possiedono uno spettro in frequenza con una distribuzione pari a $1/f$. Le frequenze associate ai pattern di correlazione spaziale del segnale BOLD, riferito al task resting-state sono di tipo spontaneo sono 0.01-0.1Hz. Le ampiezze del BOLD in bassa frequenza inoltre sono paragonabili all'ampiezza ottenuta in seguito ad un task 'attivo'.

FMRI in tempo reale

L'fMRI in tempo reale è un'altra innovazione. Si riesce infatti ad ottenere elaborazioni veloci di immagini tramite i miglioramenti negli algoritmi. Questo trattamento è utilizzato per pazienti con dolore cronico, dipendenze o disturbi psichiatrici.

FMRI ad alto campo

La MRI ad alto campo, è diventata sempre più importante perché consente un miglior rapporto segnale-rumore. Si ottiene un'immagine con miglior risoluzione spaziale e in tempi più brevi. Alcune macchine per la risonanza magnetica (attualmente in commercio) possono raggiungere campi di 7 T, mentre in ambito sperimentale vengono studiati campi da 8-9 T.

Tra alcuni vantaggi si cita:

- Informazioni strutturali dell'ordine di decimi di millimetro (risoluzione spaziale maggiore)
- Maggior informazioni funzionali
- Mappe metaboliche dettagliate

4 Risoluzione ed acquisizioni di immagini da fMRI

4.1 Risoluzione spaziale e temporale

In una normale scansione di Risonanza Magnetica Funzionale il volume del soggetto viene scansionato con una sequenza EPI (ECO-PLANAR IMAGING), producendo in pochi secondi una quantità di immagini da qualche centinaio fino ad alcune migliaia. Le immagini sono acquisite in uno K-spazio e poi convertite in spazio normale per l'utilizzo.

La risoluzione spaziale delle immagini varia a seconda della strumentazione. Generalmente è 3x3x3 mm con matrici 64x64, 128x128, 256x256. Invece la risoluzione temporale di tali immagini varia da un TR di 0.5 secondi ad un TR di 4 secondi. Generalmente è utilizzato di 2 secondi.

TR piccoli riducono il volume che si può acquisire. TR non può essere diminuito troppo: con TR piccoli il flip angle diminuisce e diminuisce anche il segnale fMRI misurato.

Ad esempio: 14 slices x TR = 1 secondo
28 slices x TR = 2 secondi

Ricordiamo inoltre che la registrazione delle immagini può essere effettuata in 3D (Volumetrica) o 2D (Slices per Slices). L'immagine ottenuta è una serie di volumi 3D, 1 volume ogni circa 2 secondi. Ogni Voxel è un cubo di tessuto di circa 2-4 mm a lato.

4.2 Acquisizione ed analisi di immagini

1. Fase Anatomica: acquisizione immagine strutturale
Viene acquisita un'immagine anatomica di tipo T1 del cervello ad elevata risoluzione che sarà poi affiancata alle regioni di attivazione.
I Voxel possono avere dimensioni di 1x1x5 mm.
2. Acquisizione immagine funzionale
Vengono acquisite una serie di immagini di tipo funzionale (T2*), a bassa risoluzione.
I Voxel possono avere dimensioni di 3.4 x 3.4 x 5 mm.
3. Coregistrazione
Appaiamento delle due immagini e coregistrazione dell'immagine strutturale-funzionale.
4. Normalizzazione, metodi stereotassici.
5. Analisi Statistica
La scansione delle fMRI varia molto da paziente a paziente a causa delle strutture anatomiche e dell'orientamento delle scansioni. Si normalizza la scansione in base ad un cervello di riferimento ad esempio il cervello di Talairach. Bisogna dunque far corrispondere il cervello del paziente al cervello di riferimento, tramite ad esempio traslazioni, scalatura, deformazioni...Può essere inoltre utile riportare localizzazioni tramite coordinate stereotassiche. Queste coordinate (x,y,z) rappresentano la distanza dalla commessura anteriore.

4.3 MNI template

Gli 'spazi MNI', studiati da Montreal Neurological Institute (MNI) ricoprono un ruolo importante nel Neuroimaging e mostrano dei modelli di spazi cerebrali.

Al giorno d'oggi, lo spazio di Talairach non gioca più un ruolo principale nelle moderne Neuroscienze. Nel campo della fMRI le leggere differenze tra le versioni dello spazio potrebbero non influire molto sull'analisi. Tuttavia nell' Imaging con stimolazione profonda, dove si considerano anche i mm, i cambiamenti tra gli spazi possono essere importanti.

Esempio di 2 tipologie di MNI:

MNI305

Il primo modello di MNI è stato MNI305. 305 Cervelli di risonanza magnetica sono stati coregistrati linearmente a 241 cervelli che sono stati coregistrati approssimativamente nell'atlante di Talairach. È accessibile a soli Template T1.

Colin27

Un membro del laboratorio dell'MNI è stato scansionato 27 volte. È il modello standard in SPM96. In molte applicazioni, come lo scanner fMRI su scanner 3T medio, lo spazio MNI non ha importanza. Le Pipeline di ricerca standard utilizzano il livellamento (capita a volte un Kernel FWHM di 8 x 8 x 8 mm) e la risoluzione fMRI è scarsa (3 x 3 x 3 mm). Invece nell'imaging DBS (Stimolazione cerebrale profonda) queste differenze assumono una certa importanza. [t15]

5 Analisi di immagini

5.1 Tipologie di sollecitazioni

Il modo con cui sollecito il sistema può essere:

1. BLOCCHI (Rect)
Sollecito e misuro, ripeto più volte per aumentare la valenza di tipo statistico.
 - Stimoli della stessa condizione presentati assieme consecutivamente
 - effetti di apprendimentoPro: Discriminazione del voxel elevata, metodo potente (rileva effetti minimi)
Contro: Sensibilità al movimento, limiti di uso per alcuni task, difficoltà nel vedere la risposta emodinamica.
2. EVENT-RELATED(Impulso)
Stimoli distanti l'uno dall'altro circa 1-2 secondi.
visualizzo immagini, attivazione e riposo non devono essere troppo lunghe.
 - Presentazione casuale degli stimoliPro: Descrizione dettagliata della risposta emodinamica, più flessibile, analizza un'ampia gamma di modelli cognitivi
Contro: Dipendenza da ISI
3. MIXED: uso 1 e 2, analisi condotte in modo indipendente.

OSSERVAZIONE: usando 3T, le oscillazioni risultano essere più ampie rispetto a quando si utilizza 1.5T. Dunque con 1.5T c'è il riscaldamento della strumentazione e come soluzione utilizzo SPM per l'elaborazione.

5.2 Pre-processing

Si inizia con una serie di dati 4D. Gli step per il pre-processing possono essere fatti in ordini diversi e non tutti vengono utilizzati

Gli step per il pre-processing sono:

- Correzione del movimento
- Slice timing
- Correzione della distorsione
- Normalizzazione spaziale
- Smoothing Spaziale
- Garanzia di qualità
- Filtraggio Temporale
- Coregistrazione

Si termina sempre con una serie di dati 4D.

Prima di fare l'analisi statistica sui dati fMRI grezzi, vengono eseguite le fasi, sopra descritte, di preelaborazione. Di seguito riporto alcuni argomenti riguardanti il pre-processing.

Correzione del movimento

Rappresenta il movimento dovuto ad uno stimolo involontario. Un movimento della testa di 4-5 mm porta ad errori nel segnale misurato. È uno tra i più grandi errori nelle acquisizioni delle immagini fMRI e si può correggere tramite appositi congegni o con la coregistrazione. Questa modifica è necessaria per mantenere una risoluzione spaziale adeguata.

Slice Timing

Quasi tutti gli studi per la fMRI ottengono le immagini con una fetta alla volta, quindi ogni fetta è sfalsata rispetto alle altre di una certa quantità temporale. Le fette non sono acquisite contemporaneamente (2D), devo riallineare le informazioni nello stesso intervallo temporale. Ciò si complica in base all'acquisizione delle fette che può essere in sequenza oppure no. Ci sono due tipologie di correzione: strategia dello spostamento dei dati tramite interpolazione dei punti e strategia dello spostamento del modello.

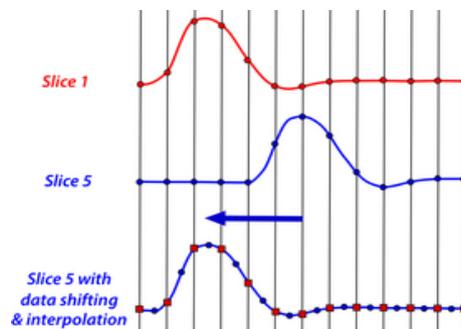


Figura 5.1 *Spostamento dei dati tramite interpolazione [10]*

Correzione della distorsione

Le sequenze fMRI/BOLD sono sensibili alla disomogeneità magnetica $T2^*$ perché acquisiscono echi di gradiente. Si ottiene dunque una disomogeneità spaziale e una perdita di segnale. Sono quindi disponibili metodi di mappatura del campo.

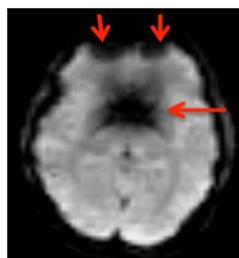


figura 5.2 *Correzione della distorsione [11]*

Normalizzazione spaziale

Trasforma il volume presente in un altro volume. Il focus della normalizzazione spaziale è quello di deformare le immagini fornite dalle scansioni cerebrali umane, in modo che una porzione anatomica ottenuta dalla scansione del cervello di una persona corrisponda alla stessa posizione in un altro soggetto.

Smoothing (Spaziale)

Serve ad allargare una parte del livello di attivazione grezza di un voxel a quelli affiancati. Aumento SNR ma si allargano le zone di attività. Per aumentare il rapporto segnale rumore le immagini sono filtrate. Rappresenta la media dei segnali provenienti dai voxel adiacenti. C'è un miglioramento del rapporto segnale-rumore. Il metodo è quello di convolvere i dati fMRI con un filtro (Kernel Gaussiano 3D). Dunque si utilizza un filtro, solitamente Gaussiano. Ricordiamo che questo metodo riduce la risoluzione spaziale. Dall'immagine presentata notiamo che l'utilizzo del filtro riduce la risoluzione spaziale (8 mm FWHM).

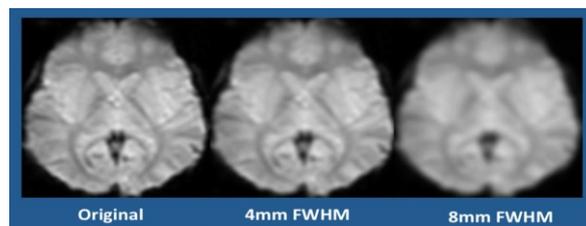


Figura 5.3 Smoothing spaziale con filtri Gaussiani e diverse lunghezze del Kernel [12]

Garanzia di qualità

Consiste in una revisione visiva di tutte le immagini sorgente poste in una singola immagine, in modo tale da escludere le sezioni che sono troppo scure, troppo luminose o presentano artefatti. Questi 'errori' possono derivare da processi fisiologici (ad esempio ansia, assunzione di farmaci) ma anche dallo scanner (ad esempio correnti parassite, disomogeneità di campo).

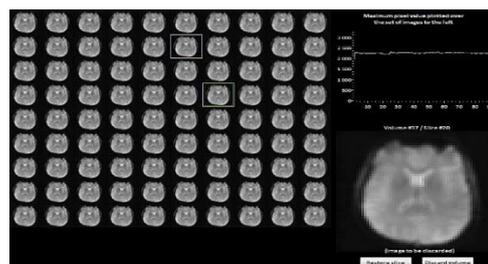


Figura 5.4 Visualizzazione di una serie di fMRI per riconoscere le singole immagini da escludere [13]

Filtraggio temporale

Nelle acquisizioni è presente rumore causato ad esempio dal respiro, dal battito cardiaco, da fenomeni di drift. Dobbiamo dunque applicare un filtro Passa Alto per rimuovere le componenti lente, come il respiro. Le fluttuazioni del segnale ad alta frequenza possono essere rimosse con il filtraggio passa basso. Tuttavia, tale rimozione viene sconsigliata perché può distogliere la stima delle HRF e ridurre i segnali fMRI.

- Cutoff: 1.5 Tempo stimolo
- Default: 128 secondi

Il filtro Passa Basso, utilizzato per rimuovere il contributo del battito, non ci interessa perché non possiedo la frequenza nel range utilizzato.

La rimozione delle derive a bassa frequenza è nota come: 'detrending'.

Coregistrazione rigida

Minimizzo la distanza tra segnale del volume di riferimento e volume registrato. Poi applico un'interpolazione lineare o un metodo come la spline.

5.3 Analisi statistica T-test e General Linear Model

Ipotizziamo di aver eseguito un esperimento che utilizza sollecitazioni a blocchi.

Per identificare la zona di attivazione si potrebbe fare una differenza tra volumi a riposo e volumi in attivazione, tuttavia questo non è possibile perché l'SNR è troppo basso.

Ricordiamo che $SNR = \mu_{\text{Inside}} / \mu_{\text{Outside}}$.

I metodi statistici utilizzati sono: T-Test e General Linear Model.

T-Test

Il T-test misura quanto si adatta il modello ai dati (segnale BOLD).

Consideriamo due medie:

m_1 = media dei valori per campioni di stimolo.

m_2 = media dei valori dei campioni riferiti allo stato di riposo.

Ipotesi: $m_1 = m_2$.

Se ipotizziamo che m_1 sia esattamente uguale a m_2 si ottiene il rifiuto della condizione e un voxel di attivazione.

Esistono 4 classificazioni importanti:

- falso negativo: Voxel classificato erroneamente come non attivo.
- falso positivo: Voxel classificato erroneamente come attivo.
- vero negativo: Voxel classificato giustamente come non attivo.
- vero positivo: Voxel classificato giustamente come attivo.

Il Voxel viene testato, se $t_v >$ soglia collego il Voxel ai Voxel attivi.

Realtà	Decisione		
		M1 = M2 VERA	M1 = M2 FALSA
	M1 = M2 VERA	OK	ERRORE TIPO1
M1 = M2 FALSA	ERRORE TIPO2	OK	

General linear model (GLM)

Il GLM rappresenta un modello di regressione lineare che mette in collegamento uno stimolo ed i dati visualizzati. In pratica afferma che, Y (segnale fMRI misurato da un singolo Voxel in funzione del tempo) può essere espressa come una o più variabili di disegno sperimentale (X), ognuna moltiplicata per un fattore di ponderazione B e con aggiunta un errore casuale. Si stimano le ampiezze utilizzando minimi quadrati lineari.

$$Y = XB + \varepsilon$$

X e B sono variabili indipendenti. Y rappresenta la matrice dei dati misurati, X ('design Matrix') descrive la risposta emodinamica che deve essere ricostruita, B rappresenta le ampiezze da stimare e ε il rumore. Y e ε rimangono come vettori a colonna singola contenenti dati del segnale fMRI o stime d'errore per un singolo Voxel in momenti successivi. X è invece formata da 5 a 10 colonne.

$$x(t) = h * u$$

(convoluzione tra h e u).

x rappresenta il segnale BOLD, h rappresenta la risposta emodinamica, u lo stimolo ($u(t) = \delta(t)$)

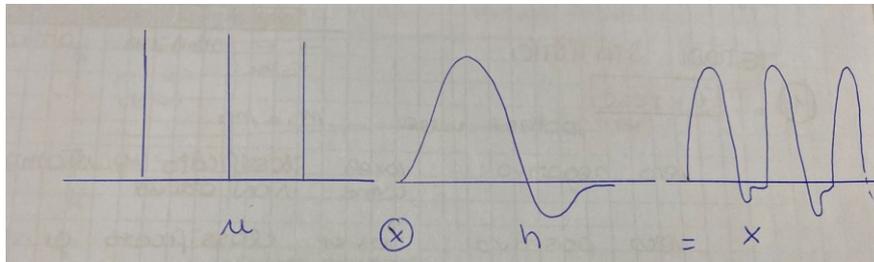


Figura 5.5 Convoluzione [14]

Esempio di prova GLM:

Primo Task: mostrata una parola, il soggetto pensa ad un verbo.

passano 21 secondi

Secondo Task: visualizzazione di un verbo e ripetizione.

passano 21 secondi

Terzo Task: riposo.

$$y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3$$

β rappresentano i pesi da stimare con il metodo dei minimi quadrati.

5.4 Modelli della risposta emodinamica

1. MODELLO CORONICAL(SPM): utilizzato nel 95% dei casi.
2. MODELLO TEMPORALE: modello utile per accentuare l'undershoot.
3. MODELLO DISPERSION: la risposta emodinamica presenta un undershoot iniziale.
4. MODELLO SENI E COSENI

5.5 Correzione confronti multipli

Esistono 2 metodologie per la correzione dei confronti multipli.

- FWE: (Family-Wise-Error): è una fase di controllo sui voxel dove si verifica che il voxel, assegnato come attivo, effettivamente lo sia.
- FDR: controllo i voxel classificati come falsi positivi.

6 Hardware e Software

6.1 Hardware per fMRI, Software e strumenti utili per il neuroimaging

I requisiti tecnologici nell'hardware si basano sull'ottenere un campo magnetico alto ($\geq 1.5T$) ed acquisizioni veloci, tutto questo tramite bobine di gradienti e sequenze di impulsi veloci.

Ci sono 4 componenti importanti: il magnete, il 'gradient coils', la radiofrequenza trasmessa, il ricevitore coil e l'elettronica associata con l'hardware del computer.

Il magnete fornisce il campo magnetico statico necessario per osservare il fenomeno di risonanza magnetica.

I 'Gradient Coils' sono utilizzati per fornire il campo magnetico più piccolo e in rapida evoluzione, necessario per la codifica spaziale degli spin nel volume sottoposto a imaging. Queste bobine vengono mantenute a temperatura ambientale e sono posizionati dentro il foro del magnete superconduttore.

La prima caratteristica importante del gradient coils è la necessità di ottenere gradienti di campo magnetico elevati. Questi ultimi permettono una codifica spaziale ad alta risoluzione. Il secondo aspetto importante è la commutazione rapida del gradiente. Immagini ultra veloci richiedono che i gradienti possano essere commutati molto velocemente.

Le bobine a radiofrequenza sono una delle componenti fondamentali di un sistema fMRI e hanno due funzioni: generare impulsi alla frequenza di Larmor per l'eccitazione dei nuclei e rilevare il segnale emesso dai nuclei con la stessa frequenza di Larmor.

Esistono due tipologie di coil: i Coil di Volume e i Coil di superficie.

I Coil di Volume sono i più utilizzati per la loro capacità di creare un campo B1 omogeneo. I Coil di superficie sono più piccoli e dunque più facili da maneggiare ed inoltre prelevano il segnale da piccole zone corporee. Così facendo si ottiene un miglior rapporto segnale-rumore. Per avere immagini di qualità la bobina deve generare un campo magnetico B1 omogeneo.

Un impulso a radiofrequenza è utilizzato per eccitare i nuclei. La risonanza risultante è un segnale a radiofrequenza. Per massimizzare la sensibilità di rilevazione, il volume da acquisire deve essere posizionato nelle immediate vicinanze della bobina di trasmissione e ricezione a radiofrequenza, la quale deve essere posizionata all'interno delle bobine di gradiente.

Di seguito vengono elencati dei software utilizzati oggi per il neuroimaging.

Analysis of Functional Neuroimages (AFNI)

<https://afni.nimh.nih.gov/>

Software leader di programmi C, Python, R e shell script, sviluppati per l'analisi e la visualizzazione di dati anatomici e funzionali (fMRI). Consiste in un insieme di programmi che possono essere utilizzati interattivamente usando script di shell per l'elaborazione batch. Il formato di questo software consiste in file di tipo .HEAD e .BRIK.

Ogni set di Dati può essere rappresentato tramite 2 tipologie di sistemi di coordinate: sistemi originali e coordinate Talairach.

BrainWave

BrainWave è uno strumento che permette di analizzare e visualizzare dati di imaging funzionale del cervello ottenuti con BrainWave.RT. Permette di analizzare immagini 3D e visualizzare i risultati delle scansioni MRI BOLD. In particolare i paradigmi vengono salvati nella struttura privata DICOM per un'analisi veloce. L'integrazione è completa, con la registrazione, la messa in rete e l'archiviazione AW. Inoltre c'è la possibilità di trasferire le attivazioni in set di dati DICOM 3D ad alta risoluzione (per le applicazioni neurologiche). BrainWave PA può risiedere sullo scanner oppure sulla stazione AW. Il software legge le acquisizioni volumetriche in T1 con le acquisizioni fMRI. Vi è la visualizzazione dei dati funzionali sovrapposti all'immagine strutturale nei rendering 2D o 3D. Inoltre BrainWave Fusion consente di vedere le tracce di materia bianca con dati funzionali su un'immagine anatomica ad alta risoluzione.

3D Slicer

Crea stacks di immagini partendo da immagini DICOM trasformandole in blocchi di dati tri-quadri e pentadimensionali, ad esempio in filmati 3D di fMRI. 3D slicer permette anche di confrontare due o più risonanze magnetiche di uno stesso soggetto nel tempo. Viene utilizzato per lo studio dell'autismo, sclerosi multipla, carcinoma prostatico, schizofrenia. Possiede la capacità di lettura di immagini DICOM e altri formati. Visualizzazione delle immagini, triangolazione di modelli di superficie 3D e rendering volumetrico. È fornito tramite una licenza BSD, gratuita e open source. Slicer si basa sulla libreria grafica VTK, la quale fornisce un alto grado di integrazione, all'interfaccia OpenGL. Sottoprogrammi utilizzati: ITK, Cmake, Cpack, VTK, IGSTK.

Conclusioni

Le varietà di applicazioni della risonanza magnetica stanno aumentando sempre di più. Come abbiamo visto, possono essere utilizzate per lo studio di varie tipologie di disturbi, come ad esempio l'autismo. Attualmente le maggiori aree di ricerca sono le correlazioni neurofisiologiche dei comportamenti, il 'Sistema di livello' per la base cerebrale dell'apprendimento e i 'Networks' per i processi cognitivi.

Le applicazioni cliniche invece sono mappare le aree funzionali nei cervelli danneggiati, fornire marcatore di stato o tratto e definire meccanismi di compensazione del danno.

La tecnologia, sta evolvendo sempre di più con la nuova generazione, lasciando spazio a innovazioni sempre più all'avanguardia. Le tecnologie presenti al giorno d'oggi, per lo studio dell'attività cerebrale, sono molto diffuse e ognuna è specifica per particolari utilizzi. La risonanza magnetica citata in questa tesi è infatti una tra le tecniche di neuroimaging più studiate ed analizzate.

Sitografia

[1] <https://www.superinformati.com/medicina-e-salute/risonanza-magnetica-rmn.htm>

[4] https://www.researchgate.net/figure/A-Andamento-temporale-del-segnale-BOLD-grafico-della-risposta-emodinamica-effettuato_fig13_267243488

[9] <https://www.semanticscholar.org/paper/Functional-magnetic-resonance-imaging-of-cocaine-Wexler-Gottschalk/f5a3aac164259c312ad4b891eb04584b5fae43b3/figure/2>

[11] <https://mriquestions.com/data-pre-processing.html>

[12] <https://mriquestions.com/data-pre-processing.html>

[13] <https://mriquestions.com/data-pre-processing.html>

[14] http://www2.units.it/bernardis/Metodi_Imaging.pdf

[15] <https://www.lead-dbs.org/about-the-mni-spaces/>

[16] [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3073717/#:~:text=Functional%20Magnetic%20Resonance%20Imaging%20\(fMRI\)%20is%20a%20class%20of%20imaging,processes%20in%20the%20resting%20brain.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3073717/#:~:text=Functional%20Magnetic%20Resonance%20Imaging%20(fMRI)%20is%20a%20class%20of%20imaging,processes%20in%20the%20resting%20brain.)

[17] https://www.treccani.it/enciclopedia/visualizzare-il-funzionamento-del-cervello-umano_%28Frontiere-della-Vita%29/

Bibliografia

[2], [3], [5], [6], [7], [8] Functional MRI, an introduction to methods. Edited by Peter Jezzard-Paul M. Matthews-Stephen M. Smith.