

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA IN BIOINGEGNERIA

TESI DI LAUREA SPECIALISTICA

**STUDIO DELL'EMODINAMICA CEREBRALE IN
PAZIENTI AFFETTI DA SCLEROSI MULTIPLA:
OTTIMIZZAZIONE DEL PROTOCOLLO DI
ACQUISIZIONE E DEL PROCESSO DI
QUANTIFICAZIONE.**

Relatore: Chiar.ma Prof.ssa Alessandra Bertoldo

**Correlatori: Ing. Denis Peruzzo
Dott. Massimiliano Calabrese**

Laureando: Marco Castellaro

Anno Accademico 2009-2010

*a Nini e Lucia,
per averlo reso possibile*

La preoccupazione dell'uomo e del suo destino devono sempre costituire l'interesse principale di tutti gli sforzi tecnici. Non dimenticatelo mai in mezzo a tutti i vostri diagrammi ed alle vostre equazioni.

ALBERT EINSTEIN

Indice

1	Introduzione	1
1.1	La sclerosi multipla	1
1.2	Obiettivo della tesi	4
1.3	Lo studio dell'emodinamica in pazienti con sclerosi multipla	5
2	Teoria	7
2.1	Basi di risonanza magnetica	7
2.1.1	Da una descrizione microscopica a una macroscopica	8
2.1.2	Sequenze di acquisizione	12
2.2	Dynamic Susceptibility Contrast - MRI	16
2.2.1	Sequenze di acquisizione	17
2.2.2	Teoria della diluizione e modello per la quantificazione	17
2.2.3	Paradigma per la quantificazione	21
2.3	Dynamic Susceptibility Contrast - MRI: Problemi Aperti	24
2.3.1	Ricircolo	24
2.3.2	Calcolo della concentrazione	26
2.3.3	Quantificazione assoluta dei parametri emodinamici	27
2.3.4	Funzione d'ingresso arteriale	28
2.3.5	Deconvoluzione	34
3	Materiali e Metodi	45
3.1	Data-Set a disposizione	45
3.2	Protocollo SM	49
3.3	DSC-MRI: acquisizione e quantificazione	52
3.3.1	Sequenze di acquisizione	53

INDICE

3.3.2	Riduzione del rumore nella AIF	61
3.3.3	Deconvoluzione: scelta della metodologia	63
3.4	DSC-MRI: analisi delle mappe di perfusione	64
3.4.1	Ambiente di analisi	64
3.4.2	Pipeline di analisi	65
3.4.3	Analisi preliminari	66
3.4.4	Coregistrazione	69
3.4.5	Segmentazione	70
3.4.6	Individuazione delle lesioni corticali di SM	73
3.4.7	Metodi di analisi della perfusione all'interno delle lesioni corticali di SM	74
4	Risultati	77
4.1	Confronto delle sequenze di acquisizione	77
4.1.1	Ispezione visiva	77
4.1.2	Selezione dei voxel	81
4.1.3	SNR: Segnale NMR	81
4.1.4	SNR: Concentrazioni	83
4.1.5	Rapporto di contrasto	87
4.2	Riduzione del rumore dell'AIF	88
4.3	Analisi del ritardo per la scelta del metodo di deconvoluzione	89
4.4	Analisi dell'emodinamica all'interno delle lesioni di SM	95
5	Discussione	99
5.1	Confronto delle sequenze di acquisizione	99
5.2	Riduzione del rumore dell'AIF	101
5.3	Scelta del metodo di deconvoluzione	102
5.4	Analisi quantitativa	102
6	Conclusioni	105
6.1	Sviluppi futuri	106
A	Double Inversion Recovery	107
	Elenco degli acronimi	113

INDICE

Elenco delle figure	115
Elenco delle tabelle	117
Bibliografia	119

Capitolo 1

Introduzione

1.1 La sclerosi multipla

La sclerosi multipla (SM) è una patologia infiammatoria degenerativa *demielinizzante* del sistema nervoso centrale, che colpisce prevalentemente soggetti giovani e di sesso femminile. La grande variabilità dei sintomi che la caratterizzano è conseguenza di un processo di degenerazione della mielina, da qui il termine demielinizzante (o mielinoclastica), che porta ad un livello di disabilità crescente con l'evolversi della patologia. La *mielina* è la guaina che riveste gli assoni dei neuroni permettendo la trasmissione rapida e integra degli impulsi nervosi. Se in uno stato di normalità le informazioni nelle fibre nervose sono trasmesse a 100 m/s , in un individuo affetto da SM la velocità scende gradualmente a 5 m/s . Purtroppo nell'individuo adulto non si ha una nuova mielinizzazione in seguito a distruzione delle guaine mieliniche. Durante il decorso della malattia la distruzione delle guaine mieliniche causa il blocco o rallentamento degli impulsi che vanno dal sistema nervoso centrale verso le diverse parti del corpo e viceversa. Le aree in cui la mielina è stata danneggiata vengono anche dette placche; da ciò deriva l'appellativo sclerosi a placche. Fino ad ora la SM è stata descritta come una patologia della materia bianca (White Matter WM), mentre il coinvolgimento della materia grigia (Gray Matter GM) nel processo di demielinizzazione è stato scoperto solo recentemente grazie a studi anatomo-patologici [13] [60]. Questa scoperta ha dato nuovo impulso alla ricerca nel campo della SM: in [11] [12]

Introduzione

[40] si descrive come la demielinizzazione degli assoni della corteccia dipenda parzialmente dalla presenza di lesioni in WM. La presenza di lesioni in GM risulta importante perchè le lesioni caratteristiche della WM non sono sufficienti per spiegare i deficit cognitivi e clinici che sviluppano alcuni soggetti [7]. La presenza di lesioni di SM in WM e in GM, insieme a misure dell'atrofia tramite tecniche MRI hanno evidenziato correlazioni con le condizioni cliniche dei pazienti e altre patologie connesse come la perdita di memoria o l'epilessia [15] [16].

Recentemente sono state avanzate molte ipotesi riguardo la relazione tra le lesioni in GM e quelle in WM: la patologia in GM potrebbe essere primaria (cioè causa delle lesioni in WM) oppure secondaria (quindi causata dal processo degenerativo degli assoni) oppure, come sembra più probabile, potrebbe essere una interazione dei due processi a causare i deficit dei soggetti.

La patologia è descritta da differenti varianti cliniche, che sono caratterizzate da decorsi differenti. Le varianti e le possibili evoluzioni della patologia sono riassunte in Fig. 1.1, in cui si rappresenta l'evoluzione del grado di disabilità con l'avanzare della malattia.

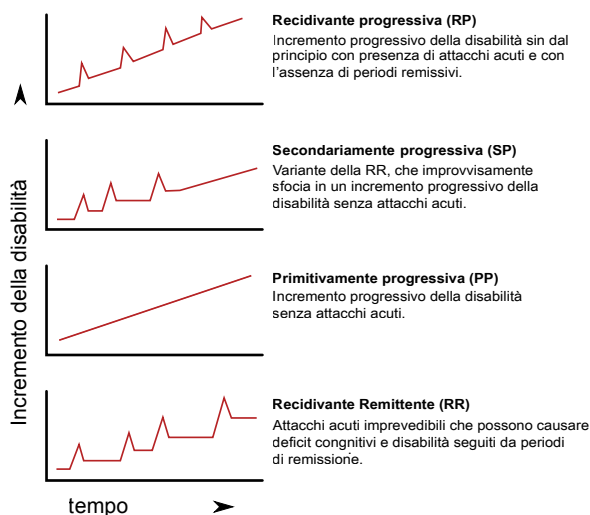


Figura (1.1). *Decorso della Sclerosi Multipla nelle sue quattro varianti cliniche in base alla disabilità.*

Per poter classificare il deficit clinico dei pazienti sono stati creati diversi

1.1 La sclerosi multipla

indici di disabilità. La disabilità neurologica viene valutata secondo una scala denominata EDSS (Expanded Disability Status Scale) istituita dal neurologo americano Kurtzke nel 1983 (Tab. 1.1). All'aumentare del valore nella scala EDSS, aumenta il deficit fisico che gli corrisponde.

Tabella (1.1). *Classificazione della disabilità neurologica attraverso la scala EDSS (Expanded Disability Status Scale)*

EDSS	Significato clinico
1-3.5	Il paziente è pienamente deambulante, pur avendo deficit neurologici evidenti in diversi settori (motorio, sensitivo cerebellare, visivo, sfinterico) di grado lieve o moderato, non interferenti sulla sua autonomia.
4	Paziente autonomo, deambulante senza aiuto e senza sosta, per circa 500 metri.
4.5	Paziente autonomo, con minime limitazioni nell'attività completa quotidiana e deambulazione possibile, senza soste e senza aiuto, per circa 300 metri.
5	Paziente non del tutto autonomo, con modeste limitazioni nell'attività completa quotidiana e deambulazione possibile, senza soste e senza aiuto, per circa 200 metri.
5.5	Paziente non del tutto autonomo, con evidenti limitazioni nell'attività completa quotidiana e deambulazione possibile, senza soste e senza aiuto, per circa 100 metri.
6	Il paziente necessita di assistenza saltuaria o costante da un lato (bastone, grucce) per percorrere 100 metri senza fermarsi.
6.5	Il paziente necessita di assistenza bilaterale costante, per camminare 20 metri senza fermarsi.
7	Il paziente non è in grado di camminare per più di 5 metri, anche con aiuto, ed è per lo più confinato sulla sedia a rotelle, riuscendo però a spostarsi dalla sedia da solo.
7.5	Il paziente può solo muovere qualche passo. È obbligato all'uso della sedia a rotelle, e può aver bisogno di aiuto per trasferirsi dalla sedia.
8	Il paziente è obbligato a letto non per tutta la giornata o sulla carrozzella. Di solito ha un uso efficiente di uno o di entrambi gli arti superiori.
8.5	Il paziente è essenzialmente obbligato al letto. Mantiene alcune funzioni di autoassistenza, con l'uso discretamente efficace di uno od entrambi gli arti superiori.
9	Paziente obbligato a letto e dipendente. Può solo comunicare e viene alimentato.
9.5	Paziente obbligato a letto, totalmente dipendente.
10	Morte dovuta alla patologia.

La recente attività di ricerca sulla SM ha chiarito come le lesioni siano un effetto della patologia e contengano zone di tessuto, sia WM che GM, la cui funzionalità è oramai compromessa. Il problema principale che la comunità scientifica sta affrontando è l'individuare la causa della formazione delle lesioni. In modo da poter intervenire precocemente prima che il tessuto venga irrimediabilmente danneggiato ed evitare la comparsa o il peggioramento di deficit fisici e cognitivi.

Introduzione

Ad oggi le lesioni in GM sono state caratterizzate grazie ad esami istologici su pazienti deceduti (studi ex-vivo). Si è riscontrata la presenza di *microglia* attivata ed un aumento del livello di *macrofagi* [32]. Questi studi hanno permesso di capire che le lesioni sono probabilmente dovute ad un processo infiammatorio. Tuttavia, non è ancora noto cosa scateni la reazione del sistema immunitario. Per poter descrivere la genesi, l'evoluzione e quindi le cause prime delle placche è necessario studiarle in-vivo. Molti gruppi di ricerca lavorano in questa direzione, utilizzando tutte le tecniche ad oggi disponibili per caratterizzare in modo non invasivo le funzionalità delle lesioni([33] [23] [86]). Recenti ed interessanti ipotesi coinvolgono un deficit della perfusione cerebrale proprio nella genesi delle lesioni [91]. In quest'ottica diventa estremamente utile ed interessante riuscire a caratterizzare la perfusione cerebrale nei soggetti affetti da sclerosi multipla.

1.2 Obiettivo della tesi

Questo lavoro di tesi si inserisce all'interno della collaborazione tra il *Dipartimento di Ingegneria dell'informazione* e il *Dipartimento di Neurologia* dell'Università degli Studi di Padova. Con la supervisione dei Prof. P. Gallo e del Dott. M. Calabrese del *Centro di riferimento per la Sclerosi Multipla della Regione Veneto* si è deciso di implementare un protocollo per lo studio dell'emodinamica cerebrale in soggetti affetti da SM. In particolare l'obiettivo è caratterizzare la perfusione nelle lesioni corticali. Il protocollo di studio è stato definito da zero, tuttavia il gruppo legato al Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione presentava già una buona esperienza nell'ambito dello studio della perfusione con la tecnica *Dynamin Susceptibility Contrast - Magnetic Resonance Imaging (DSC-MRI)*, acquisita attraverso studi precedenti.

Il mio lavoro è stato sviluppato seguendo questi punti:

- Implementazione della sequenza di acquisizione per DSC-MRI con l'hardware messo a disposizione presso la struttura convenzionata Euganea Medica.
- Definizione della procedura di quantificazione dell'emodinamica cerebrale a partire dai dati acquisiti.

1.3 Lo studio dell'emodinamica in pazienti con sclerosi multipla

- Definizione dei metodi per l'analisi statistica dell'emodinamica cerebrale nelle lesioni corticali di SM.

1.3 Lo studio dell'emodinamica in pazienti con sclerosi multipla

La letteratura relativa allo studio dell'emodinamica cerebrale in pazienti affetti da SM non è florida, ed è incentrata soprattutto sulla caratterizzazione della perfusione nella WM e in particolare nelle placche presenti in WM. Inoltre numerosi studi operano confronti della perfusione nella materia bianca apparentemente normale (Normal Appearing White Matter NAWM) tra soggetti sani e gruppi di pazienti affetti da SM Recidivante Remittente (SM-RR) o Primitivamente Progressiva (SM-PP). In [83] emerge come il flusso ematico cerebrale (Cerebral Blood Flow CBF) sia caratterizzato da un decremento significativo nelle zone periventricolari e nel putamen, in pazienti affetti da SM-RR e addirittura da un ulteriore aumento in pazienti affetti da SM-PP. Ge e colleghi in [30] riportano un decremento di CBF e del volume ematico cerebrale (Cerebral Blood Volume CBV) e un aumento del tempo medio di transito (Mean Transit Time MTT) all'interno di lesioni di SM in WM classificate non attive, e un'inversione di tendenza in lesioni classificate come attive. Grazie a ciò, essi concludono che in fase infiammatoria la perfusione aumenta per poi diminuire al termine della fase più attiva dell'infiammazione. Law e colleghi in [43] individuano un decremento del CBF e un significativo prolungamento dell'MTT tra soggetti sani e affetti da SM-RR, mentre non riscontrano cambiamenti nel CBV.

In [1] si tenta di correlare i parametri di perfusione, con la scala di disabilità EDSS su pazienti affetti da SM-RR. Lo studio riporta una buona correlazione tra i valori della scala EDSS e il parametro CBF nelle zone peri-ventricolari e con il parametro CBV rilevato nelle zone frontale e peri-ventricolari. Inoltre riporta un decremento del CBF e del CBV nelle zone della NAWM analizzate, (frontale, occipitale, peri-ventricolare) e nella zona circostante lo splenio del corpo calloso. Inglese e colleghi hanno inoltre cercato di correlare i parametri emodinamici con la misura della fatica, otte-

Introduzione

nuta tramite il Multifunctional Fatigue Inventory ([1] [68]), constatando che è presente una seppur debole correlazione con il CBF e il CBV.

Fino ad ora, quindi, non si è mai cercato di analizzare le lesioni corticali di SM, anche a causa della loro recente scoperta. In questo studio si è cercato di colmare questa lacuna e di caratterizzare la perfusione all'interno delle lesioni, situate nella corteccia cerebrale.

*“L'uomo è l'immagine dei suoi
pensieri”*

MOHANDAS KARAMCHAND
GANDHI

Capitolo 2

Teoria

2.1 Basi di risonanza magnetica

In questa sezione si descrivono i principi fondamentali della Risonanza Magnetica. A partire dai fenomeni che sono responsabili, a livello microscopico, degli effetti di magnetizzazione che subisce il corpo umano immerso in un campo magnetico. L'imaging a risonanza magnetica è basato sull'assorbimento e l'emissione di energia in uno specifico range delle frequenze radio dello spettro elettromagnetico. Il corpo umano, è principalmente costituito da acqua e grasso; l'elevata presenza di *idrogeno* in questi due costituenti fa sì che il corpo umano sia costituito per la maggioranza da atomi di idrogeno. I nuclei di idrogeno sono in grado di produrre un *segnale di risonanza magnetica nucleare* (segnale NMR). Per queste ragioni, l'immagine di risonanza magnetica (MRI) rappresenta principalmente il segnale NMR proveniente dai nuclei di questo elemento chimico.

Ogni volume di acquisizione viene diviso in fette o sezioni. Ciascuna fetta risulterà composta di vari elementi tridimensionali, detti voxel. L'immagine di una fetta risulterà composta da un insieme di elementi bidimensionali chiamati pixel; l'intensità di un pixel è proporzionale all'intensità del segnale NMR del voxel corrispondente.

2.1.1 Da una descrizione microscopica a una macroscopica

Ad ogni nucleo dell'atomo di idrogeno è associato uno spin, che provoca un momento magnetico. In assenza di campi magnetici esterni, i momenti magnetici hanno direzione casuale e risultante nulla. Ogni nucleo immerso in un campo magnetico B_0 allinea il proprio momento magnetico e si dispone secondo l'orientazione di B_0 . Più precisamente ogni atomo può disporsi su due angoli tra loro supplementari (Fig.2.1) corrispondenti a due livelli energetici differenti: spin-down ad elevata energia e spin-up a bassa energia (effetto Zeeman). Il numero di atomi con spin-up, N_{up} e il rispettivo numero con spin-down N_{down} non è costante nel tempo, ma il loro rapporto è costante, grazie alla condizione di equilibrio dinamico che si viene a creare in seguito all'applicazione di B_0 e vede $N_{up} > N_{down}$.

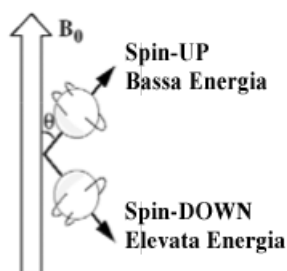


Figura (2.1). Angoli di orientazione degli atomi di idrogeno

B_0 esercita un momento meccanico sugli spin e ne modifica il momento magnetico. In particolare la velocità di rotazione è determinata dalla legge di Larmor:

$$\Omega_0 = \gamma B_0 \quad (2.1)$$

Ω_0 identifica la pulsazione di Larmor e γ il rapporto giromagnetico. Ogni spin ruota quindi attorno alla direzione di B_0 con velocità angolare Ω_0 , angolo θ (Fig. 2.2). La fase di ciascuno spin è invece casuale.

È difficile descrivere l'NMR su scala microscopica. Risulta più conveniente passare ad una descrizione macroscopica dello stesso. Ogni voxel contiene un gruppo di spin che sono soggetti allo stesso campo magnetico: il com-

2.1 Basi di risonanza magnetica

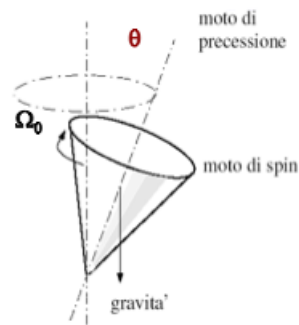


Figura (2.2). Moto di precessione degli spin.

portamento degli spin contenuti nel voxel può essere rappresentato come un vettore di magnetizzazione. La somma vettoriale dei vettori di magnetizzazione provenienti da tutti gli spin è la magnetizzazione risultante M . Quando il voxel non è sottoposto a nessun campo magnetico esterno allora la sua magnetizzazione risultante è nulla, perché gli spin sono disposti nel voxel in modo casuale. Adottando un sistema di coordinate nel quale l'asse Z è lungo la direzione del campo magnetico esterno B_0 applicato (sistema convenzionale di coordinate NMR), avremo che, all'equilibrio, anche il vettore di magnetizzazione risultante sarà non nullo e disposto lungo l'asse Z (Fig. 2.3).

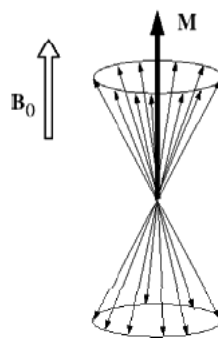


Figura (2.3). Magnetizzazione Risultante

Tempo di rilassamento spin-reticolo T_1

All'equilibrio, il vettore di magnetizzazione risultante giace lungo la direzione del campo magnetico statico B_0 ed è chiamato magnetizzazione all'equilibrio M_0 . In questa configurazione, la componente Z del vettore di magnetizzazione M_z è uguale a M_0 . M_z viene detta magnetizzazione longitudinale. In questo caso non c'è componente del vettore di magnetizzazione sul piano XY perché la fase con cui gli spin ruotano attorno a B_0 è casuale (magnetizzazione trasversale M_{xy}).

È possibile deviare il vettore di magnetizzazione dalla sua posizione di equilibrio esponendo il sistema ad un campo magnetico di *stimolazione* detto B_1 . Se si cede sufficiente energia, è possibile saturare il sistema di spin ed ottenere l'annullamento della componente M_z . Infatti se B_1 ha pulsazione Ω_{rf} coincidente con la pulsazione di Larmor Ω_0 , ottengo un effetto di risonanza, perturbando il sistema che si trova in equilibrio dinamico. In altre parole l'applicazione di B_1 provoca un'alterazione del rapporto $\frac{N_{up}}{N_{down}}$ portandolo ad un valore unitario. L'effetto che si osserva è la scomparsa del vettore di magnetizzazione lungo Z e la comparsa di una componente sul piano XY , provocata dalla rotazione degli spin attorno a B_0 , questa volta con fase comune.

Al termine dell'eccitazione il sistema ritorna alla sua condizione di equilibrio. La costante di tempo che descrive il ritorno all'equilibrio della magnetizzazione longitudinale, M_z , viene chiamata tempo di rilassamento spin-reticolo (T_1). L'equazione che descrive questo fenomeno in funzione del tempo t a partire dal suo abbattimento è:

$$M_z = M_0(1 - e^{-\frac{t}{T_1}}) \quad (2.2)$$

T_1 è quindi definito come il tempo necessario per cambiare il valore della componente Z del vettore magnetizzazione di un fattore e (Fig. 2.5)

Tempo di rilassamento spin-spin T_2 e T_2^*

Se il vettore di magnetizzazione ha una componente non nulla nel piano XY , causata da un campo magnetico B_1 applicato attraverso una bobina, essa ruoterà attorno all'asse Z ad una frequenza uguale a quella di Larmor ed

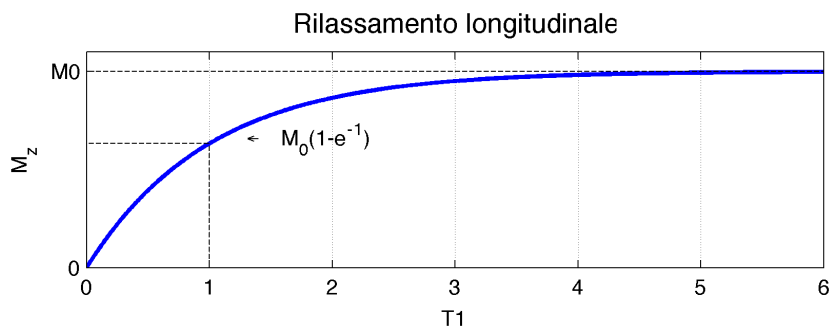


Figura (2.4). Rilassamento longitudinale misurato da T_1

il relativo moto di rotazione del vettore di magnetizzazione si dice moto di *precessione*.

Oltre a ruotare, la magnetizzazione risultante comincia a perdere fase poichè ognuno dei pacchetti di spin che la costituiscono è sottoposto ad un campo magnetico leggermente diverso e ruota ad una propria frequenza di Larmor. Più tempo passa, maggiore è la differenza di fase. Il vettore di magnetizzazione risultante è inizialmente sull'asse $+Y$.

La costante di tempo che descrive il ritorno all'equilibrio della magnetizzazione trasversale, M_{xy} , è chiamata tempo di rilassamento spin-spin, T_2 .

$$M_{xy} = M_{xy_0} e^{-\frac{t}{T_2}} \quad (2.3)$$

T_2 è sempre minore o uguale a T_1 . La magnetizzazione risultante nel piano XY va a zero e allo stesso tempo la magnetizzazione longitudinale cresce finchè lungo l'asse Z non si avrà di nuovo il valore M_0 .

La componente trasversale ruota attorno alla direzione di applicazione del campo magnetico e perde fase. Se il T_1 regola la velocità di recupero della magnetizzazione longitudinale; il T_2 è indice della velocità con cui la magnetizzazione trasversale va a zero.

Due fattori contribuiscono al decadimento della magnetizzazione trasversale:

1. le interazioni molecolari (che portano ad un effetto molecolare detto T_2 puro)

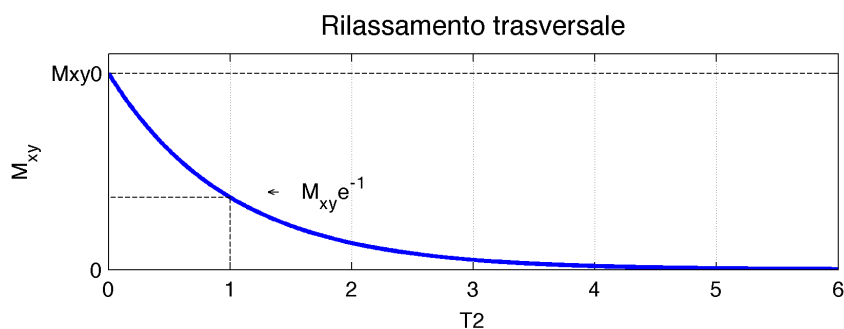


Figura (2.5). Rilassamento trasversale: andamento della magnetizzazione trasversale dopo la fase di stimolazione.

2. le variazioni di B_0 (che portano ad un effetto sul T_2 detto di disomogeneità di campo).

La combinazione di questi due fattori è quella che realmente si verifica nel decadimento della magnetizzazione trasversale. La costante di tempo combinata è chiamata T_2^* ed è contraddistinta dal simbolo T_2^* . La relazione tra il T_2 derivante da processi molecolari e quello dovuto a disomogeneità di campo magnetico è la seguente:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_{2disomog}} = \frac{1}{T_2} + \frac{\gamma\Delta B_0}{2} \quad (2.4)$$

2.1.2 Sequenze di acquisizione

La lettura del segnale NMR viene effettuata attraverso una bobina per Radio Frequenze (RF) posta nel piano trasversale (individuato dagli assi X e Y). Dato che M_{xy} è tempo variante, induce sulla bobina un segnale denominato FID (Free Induction Decay), normalmente è un segnale sinusoidale con frequenza $f = \Omega_0/2\pi$. Il FID contiene contributi dipendenti da T_1 , T_2 e la densità protonica, detta ρ , diversamente legati in base al tipo di sequenze di acquisizione utilizzate. Di seguito verranno presentate le sequenze Spin-Echo (SE) e Gradient-Echo (GE), che sono sequenze sulle quali si basano tutte le sequenze di acquisizione MRI.

Sequenza Spin Echo

Vediamo ora come si può ottenere un FID con una sequenza SE. Utilizza un impulso RF a 90° che ribalta la magnetizzazione nel piano trasversale; la magnetizzazione trasversale comincia a perdere fase. Dopo un certo tempo dall'impulso a 90° viene applicato un impulso a 180° . Tale impulso ruota la magnetizzazione di 180° rispetto all'asse X e fa sì che la magnetizzazione, almeno parzialmente, ritorni in fase e produca un segnale chiamato eco (Fig. 2.6).

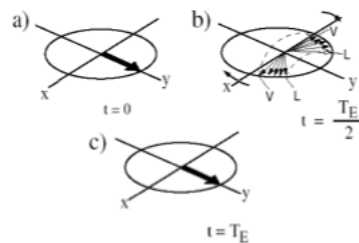


Figura (2.6). Effetto della sequenza Spin-Echo: a) impulso RF a 90° b) ribaltamento dovuto all'impulso a 180° c) Riallineamento degli spin e generazione dell'eco.

L'equazione del segnale per una sequenza SE ripetuta, espressa in funzione del tempo di ripetizione (TR) e del tempo di eco (TE), definito come il tempo tra un impulso di 90° e la massima ampiezza dell'eco, è:

$$S \propto \rho(1 - e^{-\frac{TR}{T_1}})e^{-\frac{TE}{T_2}} \quad (2.5)$$

equazione valida a condizione che il $TR \gg TE$.

Per la formazione delle immagini la sequenza, come tutte le sequenze in RM, utilizza la teoria alla base della trasformata di Fourier bidimensionale.

Nel diagramma temporale per una sequenza di acquisizione SE (Fig.2.7) sono riportati gli impulsi RF, i gradienti di campo magnetico e il segnale. Un impulso RF a 90° viene applicato insieme con un gradiente di selezione della fetta. Passa un periodo di tempo uguale a $\frac{TE}{2}$ e viene applicato un impulso a 180° in congiunzione con il gradiente di selezione della fetta. Un gradiente di codifica di fase viene applicato tra gli impulsi a 90° e 180° . Il gradiente

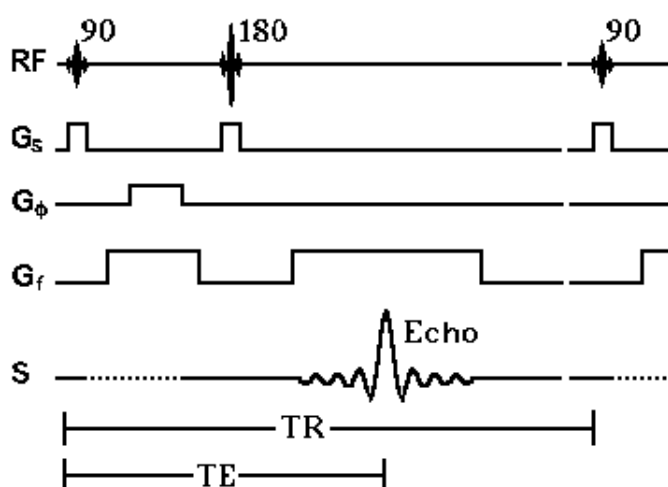


Figura (2.7). Diagramma temporale della sequenza SE. RF indica la serie di impulsi RF; G_s è il gradiente selezione della fetta; G_ϕ è il gradiente di codifica di fase; G_f è il gradiente di codifica di frequenza; S rappresenta il segnale utilizzato in fase di lettura.

di codifica di fase è variato tra G_ϕ e $-G_\phi$ in 128 o 256 passi. Il gradiente di codifica in frequenza viene applicato dopo l'impulso a 180° durante il tempo in cui viene raccolto l'eco. L'eco è il segnale registrato; il FID, che si genera dopo ogni impulso a 90° , non viene usato. Un ulteriore gradiente viene applicato tra gli impulsi a 90° e 180° . Questo gradiente agisce lungo la stessa direzione del gradiente di codifica in frequenza e sfasa gli spin in modo che tornino in fase al centro dell'eco. L'intera sequenza viene ripetuta ogni TR fino al completamento di tutti i passi della codifica di fase. La sequenza SE ha un grande svantaggio. Per ottenere il massimo segnale richiedono tutte che la magnetizzazione riacquisti la sua posizione di equilibrio lungo l'asse Z prima che venga ripetuta la sequenza. Quando il T1 è lungo, questo può prolungare significativamente la sequenza di acquisizione.

Sequenza Gradient Echo

La sequenza GE nasce per ridurre i tempi di acquisizioni legati alla SE. Se la magnetizzazione viene ruotata di un angolo θ minore di 90° la sua componen-

2.1 Basi di risonanza magnetica

te M_z riacquisterà l'equilibrio molto più rapidamente, ma ci sarà un segnale con ampiezza minore. In questo modo si perde segnale a vantaggio del tempo di acquisizione. La sequenza GE e' l'applicazione di questi principi.

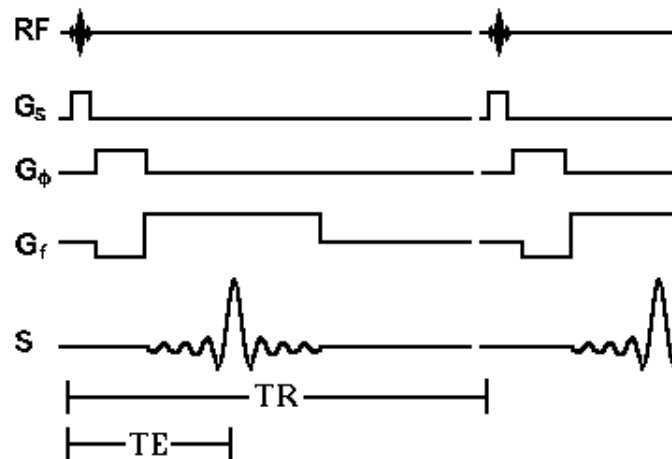


Figura (2.8). Diagramma temporale della sequenza GE. RF indica la serie di impulsi RF; G_s è il gradiente selezione della fetta; G_ϕ è il gradiente di codifica di fase; G_f è il gradiente di codifica di frequenza; S rappresenta il segnale utilizzato in fase di lettura.

Il diagramma temporale è riportato in Fig. 2.8. Nella sequenza GE viene applicato all'oggetto da esaminare un impulso RF di selezione dello strato. Questo impulso RF produce tipicamente un angolo di rotazione tra 10° e 90° . Insieme all'impulso RF viene applicato un gradiente di selezione dello strato. Poi viene applicato un gradiente di codifica di fase. Il gradiente di codifica di fase viene variato tra G_ϕ e $-G_\phi$ in 128 o 256 passi come per la sequenza SE. Un gradiente di defasamento e di codifica in frequenza viene applicato contemporaneamente al gradiente di codifica di fase per far sì che gli spin siano in fase al centro del periodo di acquisizione. Questo gradiente è di segno negativo rispetto al gradiente di codifica in frequenza acceso durante l'acquisizione del segnale. Quest'ultimo, quando attivato, produce un eho perché consente il recupero della perdita di fase avvenuta a causa del gradiente di defasamento. Il TE è definito come il tempo che intercorre tra l'inizio dell'impulso RF ed il valore massimo nel segnale. La sequenza viene ripetuta ogni TR secondi. Il

Teoria

periodo TR è dell'ordine delle decine di millisecondi.

Può essere utile a questo punto sottolineare le differenze tra una sequenza gradient echo e una sequenza spin echo. In una sequenza GE il rifasamento degli spin viene ottenuto usando un gradiente di campo magnetico invece che un impulso RF a 180°. L'uso di un gradiente di rifasamento rende le immagini prodotte intrinsecamente più sensibile alle disomogeneità di campo magnetico. D'altro canto, l'uso di un angolo di rotazione minore di 90° e di un gradiente di rifasamento conferiscono a questa sequenza un vantaggio in termini di tempo. Viene infatti largamente utilizzata per acquisizioni veloci.

2.2 Dynamic Susceptibility Contrast - MRI

La misura in vivo dell'emodinamica regionale cerebrale ha enormi potenzialità cliniche, dal momento che esiste una stretta relazione tra funzionalità fisiologica, metabolismo e apporto locale di sangue. Per valutare un flusso ematico in risonanza magnetica, si possono adottare diverse tecniche, tra cui la tecnica DSC-MRI (Dynamic Susceptibility Contrast - MRI). La DSC-MRI è una tecnica che utilizza un mezzo di contrasto intravascolare paramagnetico: il Gadolinio Gd-DTPA (Fig.2.9) e permette di misurare alcuni parametri emodinamici, quali il flusso cerebrale di sangue (CBF), il Volume Ematico (CBV) ed il Tempo di Transito Medio (MTT).

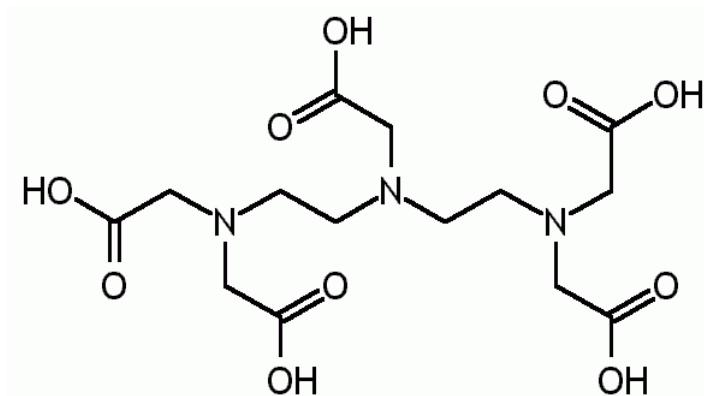


Figura (2.9). Descrizione spaziale di una molecola di Gadolinio Gd-DTPA

2.2.1 Sequenze di acquisizione

La tecnica di risonanza magnetica funzionale DSC-MRI consiste nell'acquisizione di molteplici scansioni per poter monitorare il cambiamento del segnale causato dal passaggio del mezzo di contrasto paramagnetico, la cui interazione con le molecole di idrogeno provoca un'attenuazione nel segnale misurato.

Le singole acquisizioni si possono effettuare sia con una sequenza SE che con GE perché entrambe sono sufficientemente rapide per poter acquisire più volumi durante il passaggio del tracciante. Le sequenze GE riflettono maggiormente l'informazione relativa ai vasi di dimensione maggiore (circa 20 μm di diametro). Differentemente, le sequenze SE sono influenzate maggiormente dal letto capillare e possono migliorare la qualità dell'immagine in particolari regioni cerebrali come i lobi temporali e i seni frontali [36]. Tuttavia, la sequenza GE è la sequenza più usata in DSC-MRI perché garantisce un'alta sensibilità al parametro T_2^* , maggiormente influenzato dall'agente di contrasto.

Di norma, le sequenze usate in DSC-MRI sono EPI (Echo Planar Imaging) ad alta velocità di acquisizione. Un protocollo tipico consiste in una singola acquisizione con sequenza GE con un TE dell'ordine di 40 - 60 ms ed un TR tra 800 e 1200 ms con un campo magnetico principale di 1.5T. Il parametro Flip Angle varia tra 60° - 90° e viene impostato per massimizzare l'SNR (rapporto segnale rumore) e ridurre al minimo qualsiasi effetto che coinvolga il parametro T_1 .

2.2.2 Teoria della diluizione e modello per la quantificazione

Il modello usato per caratterizzare la dinamica del tracciante che attraversa un voxel di interesse (VOI) segue i principi della cinetica dei traccianti non diffusibili ([95] [96]) che è basata sulle ipotesi seguenti:

1. L'agente di contrasto è totalmente *non diffusibile* .
2. Non c'è la presenza di *ricircolo* dell'agente di contrasto.

3. La barriera *ematoencefalica* (BBB: Blood Brain Barrier) è intatta, cioè non ci deve essere passaggio di tracciante dallo spazio intravascolare a quello extravascolare.
4. Il sistema è in *stato stazionario* per tutta la durata dell'esperimento. Questo significa che il flusso di sangue è ipotizzato costante. Come conseguenza, la DSC-MRI può essere usata per stimare sia flussi costanti che flussi che variano molto lentamente durante l'esperimento: quest'ultimi possono essere quantificati con una serie di esperimenti consecutivi.
5. L'agente di contrasto *non deve perturbare* il sistema in analisi in modo apprezzabile.

Sotto queste ipotesi, il modello permette di descrivere la concentrazione dell'agente di contrasto all'interno di un VOI del tessuto al tempo t usando le seguenti funzioni:

- la *funzione di trasporto* $h(t)$, si consideri un bolo di ampiezza unitaria di tracciante non diffusibile nel vaso d'ingresso al VOI al tempo $t=0$; $h(t)$ rappresenta la densità di probabilità che una singola particella di tracciante esca dal VOI al tempo t . Quando viene posta in ingresso al VOI una generica funzione $C_{AIF}(t)$, la concentrazione di tracciante che lascia il VOI al tempo t ($C_V(t)$) è data da

$$C_V(t) = C_{AIF}(t) \otimes h(t) \quad (2.6)$$

$h(t)$ è una caratteristica del sistema e dipende dal flusso e dalla struttura vascolare del VOI. Dimensionalmente è l'inverso di un tempo ($1/t$) e, integrata nel tempo, l'area è unitaria e adimensionale.

$$\int_0^{\infty} h(\tau) d\tau = 1 \quad (2.7)$$

- la *funzione residuo* $R(t)$: è definita come

$$R(t) = 1 - \int_0^t h(\tau) d\tau \quad (2.8)$$

2.2 Dynamic Susceptibility Contrast - MRI

Rappresenta la frazione di tracciante presente nel VOI al tempo t in seguito all'iniezione di un bolo di ampiezza unitaria di tracciante nel VOI al tempo $t = 0$. $R(t)$ è una funzione adimensionale, positiva e decrescente. Inoltre, $R(0) = 1$, il che significa che al tempo zero tutto il tracciante infuso è idealmente presente nel VOI. $R(t)$ e conseguentemente $h(t)$ descrivono completamente il sistema; una volta note, la curva della concentrazione del tracciante in uscita e di quello rimanente nel VOI possono essere determinate per qualsiasi funzione d'ingresso.

- la *Funzione d'ingresso Arteriale* (AIF: Arterial Input Function) $C_{AIF}(t)$: è la concentrazione dell'agente di contrasto che entra nel VOI al tempo t .

Considerate le funzioni appena descritte, il modello permette di quantificare tre importanti parametri che caratterizzano l'emodinamica cerebrale:

- *Volume Ematico Cerebrale* (CBV: Cerebral Blood Volume)
- *Flusso Ematico Cerebrale* (CBF: Cerebral Blood Flow)
- *Tempo di Transito Medio* (MTT: Mean Transit Time)

Il CBV è definito come il rapporto tra il volume di sangue contenuto in un VOI e il volume totale del VOI. Il CBV può essere determinato come il rapporto tra l'area sotto la curva della concentrazione del tracciante nel VOI ($C_{VOI}(t)$) e l'area sotto la curva della concentrazione della AIF ($C_{AIF}(t)$).

$$CBV = \frac{k_H \int_0^\infty C_{VOI}(\tau) d\tau}{\rho \int_0^\infty C_{AIF}(\tau) d\tau} \quad (2.9)$$

dove ρ rappresenta la densità del tessuto cerebrale e k_h sta per la differenza di ematocrito tra grandi e piccoli vasi. Dato che solo il compartimento plasmatico è accessibile al tracciante, CBV può essere suddiviso in due componenti: volume plasmatico cerebrale (CPV: cerebral plasma volume) e volume dei globuli rossi (CRCV: cerebral red cell volume); $CBV = CPV + CRCV$. Se si definisce l'ematocrito come il rapporto $H = 100 \cdot CRCV/CBV$ si può otte-

Teoria

nera $CBV = CPV + H \cdot CBV = CPV/(1 - H)$. A partire dalla definizione di CBV:

$$CBV = \frac{\text{quantità di sangue in un VOI}}{\rho \cdot \text{area sotto la curva di ingresso sanguigno}} \quad (2.10)$$

definendo

$$k_h = (1 - H_{LV})/(1 - H_{SV}) \quad (2.11)$$

e, dato che il tracciante è presente solamente nel plasma

$$CBV = \frac{\text{quantità di plasma in un VOI}}{\rho(1 - H_{SV})} \frac{1 - H_{LV}}{\text{area sotto la curva di ingresso plasmatico}} \quad (2.12)$$

si può ottenere con semplici passaggi l'Eq. (2.9)

$$CBV = \frac{\int_0^\infty C_{VOI}(\tau) d\tau}{\rho(1 - H_{SV})} \frac{1 - H_{LV}}{\int_0^\infty C_{AIF}(\tau) d\tau} = \frac{k_H \int_0^\infty C_{VOI}(\tau) d\tau}{\rho \int_0^\infty C_{AIF}(\tau) d\tau} \quad (2.13)$$

Di norma l'unità di misura del CBV è millimetri per 100 grammi di tessuto ($ml/100g$) oppure microlitri per grammo ($\mu ml/g$).

Un altro parametro caratterizzante il VOI è l'MTT, definito come il centro di massa della distribuzione $h(t)$. Dato che $h(t)$ rappresenta la densità di probabilità del tempo di transito del tracciante attraverso il VOI, l'MTT rappresenta il tempo medio necessario a una particella di tracciante per attraversare il VOI. Può essere calcolato tramite:

$$MTT = \frac{\int_0^\infty t \times h(\tau) d\tau}{\int_0^\infty h(\tau) d\tau} \quad (2.14)$$

ricorrendo alle Eq. (2.7) e (2.8) si può dimostrare che:

$$MTT = \int_0^\infty t \times h(\tau) d\tau = \int_0^\infty R(\tau) d\tau \quad (2.15)$$

Applicando il *Teorema del Volume Centrale* della teoria della diluizione [6, 49, 74] l'MTT può essere ottenuto anche come rapporto tra CBV e CBF

$$MTT = \frac{CBV}{CBF} \quad (2.16)$$

2.2 Dynamic Susceptibility Contrast - MRI

MTT è un tempo ed è espresso comunemente in secondi (s).

Partendo dalle Eq. (2.15), (2.16) e (2.9) è possibile ricavare la relazione che lega il parametro CBF alla concentrazione di agente di contrasto all'interno di un dato VOI nel seguente modo:

$$CBF = \frac{CBV}{MTT} = \frac{k_H \int_0^\infty C_{VOI}(\tau) d\tau}{\rho \int_0^\infty C_{AIF}(\tau) d\tau} \frac{1}{\int_0^\infty R(\tau) d\tau} \quad (2.17)$$

da cui

$$\int_0^\infty C_{VOI}(\tau) d\tau = \frac{\rho}{k_H} CBF \int_0^\infty C_{AIF}(\tau) \cdot \int_0^\infty R(\tau) d\tau \quad (2.18)$$

infine si ottiene

$$C_{VOI}(t) = \frac{\rho}{k_H} \cdot CBF (C_{AIF}(t) \otimes R(t)) = \frac{\rho}{k_H} \cdot CBF \int_0^t C_{AIF}(t) R(t-\tau) d\tau \quad (2.19)$$

L'operatore di convoluzione è giustificato considerando l'AIF come la somma di impulsi ideali consecutivi. Nel caso più semplice, se l'AIF fosse un singolo impulso di ampiezza $C_{AIF}(0)$, la concentrazione di tracciante nel VOI sarebbe pari alla funzione residuo moltiplicata per un fattore di scala dato dalle costanti $\frac{\rho}{k_H} \cdot CBF \cdot C_{AIF}(0)$. Nel caso generale l'AIF può essere divisa in una serie di impulsi con differenti ampiezze. La concentrazione di tracciante è data dall'integrale (i.e. la somma) della risposta ad ogni singolo impulso che forma l'AIF.

L'unità di misura del CBF è millilitri per 100 grammi di tessuto per minuto ($ml/100g/min$) o microlitri per grammo per secondo ($\mu ml/g/sec$).

2.2.3 Paradigma per la quantificazione

L'Eq. (2.19) è l'equazione centrale nell'approccio standard per determinare il CBF e l'MTT usando la tecnica DSC-MRI, il CBV può essere ottenuto facilmente dall'Eq. (2.9).

Dati $C_{VOI}(t)$ e $C_{AIF}(t)$ per calcolare il CBF è necessario effettuare un'operazione di deconvoluzione, che fornisce come risultato la funzione prodotto $R^*(t) = CBF \cdot R(t)$. Dato $R^*(t)$, il valore di CBF può essere teoricamente ottenuto come $CBF = R^*(0)$ dato che $R(0) = 1$. Tuttavia nella realtà questa

Teoria

condizione non è facilmente rispettata e si preferisce calcolare il CBF come $CBF = \max(R^*(t))$. Una volta che sono stati ottenuti i valori di CBV e CBF, l'MTT si può facilmente calcolare usando l'Eq. (2.16).

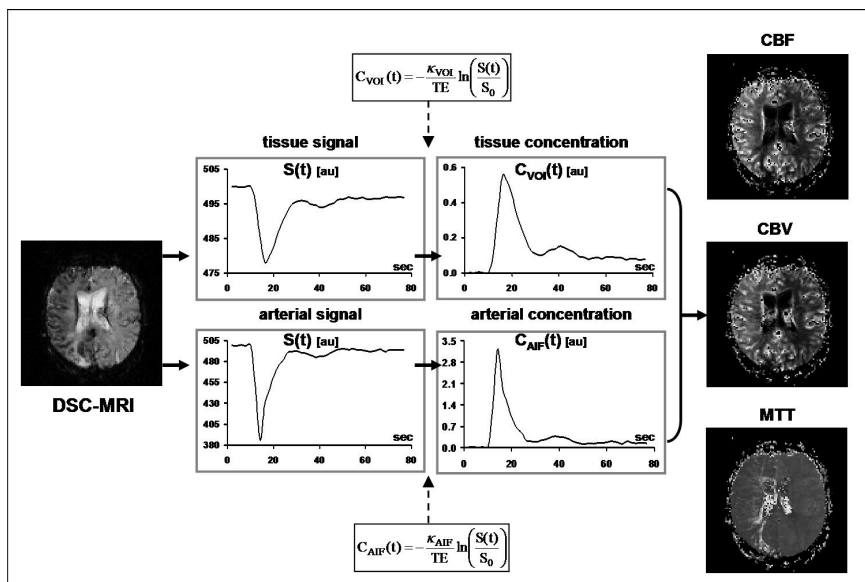


Figura (2.10). Processo di quantificazione di immagini di DSC-MRI: dall'acquisizione del segnale (sinistra) alla generazione delle mappe parametriche (destra) di CBF, CBV, ed MTT [9].

La Figura 2.10 riassume i passi principali della quantificazione di immagini DSC-MRI.

Riassumendo, per poter ottenere la quantificazione dei parametri di perfusione sono necessarie la concentrazione del tracciante nel tessuto ($C_{VOI}(t)$) e dell'arteriale ($C_{AIF}(t)$) [76]. La corretta stima della concentrazione arteriale e l'operazione di deconvoluzione sono i passaggi più delicati e verranno discussi ampiamente in seguito.

Vediamo invece ora come si ricava la concentrazione di tracciante nel tessuto a partire dal segnale NMR misurato. L'agente di contrasto presente all'interno di un VOI perturba localmente il campo magnetico, attenuando i tempi di rilassamento. Assumendo per il rilassamento un andamento mono-esponenziale, l'intensità del segnale NMR con sequenze di acquisizione pesate T_2 e T_2^* sono date da [54]

2.2 Dynamic Susceptibility Contrast - MRI

$$S = S_0(PD, TR, T_1)e^{-TE/T_2}$$

$$S = S_0(PD, TR, T_1)e^{-TE/T_2^*} \quad (2.20)$$

dove $S_0(PD, TR, T_1)$ include la dipendenza dal tempo di rilassamento longitudinale (T_1), il TR e la densità protonica. Il secondo termine descrive la perdita di rilassamento trasversale determinata dal TE e il tempo di rilassamento trasverso (T_2 or T_2^*). Quando il tracciante paramagnetico passa attraverso il letto vascolare genera una differenza di suscettività magnetica tra lo spazio intra ed extravascolare, che provoca una distorsione del campo e un fenomeno chiamato *de-phasing*; che provoca un incremento dei *tassi di rilassamento* $R_2 = \frac{1}{T_2}$ ed $R_2^* = \frac{1}{T_2^*}$ che sono legati alla concentrazione intravascolare dell'agente C_b in maniera pressochè proporzionale [41] (queste relazioni valgono per il *range* di concentrazioni che si osservano normalmente in un esame DSC-MRI).

$$R_2 = R_{20} + r_2 C_b$$

$$R_2^* = R_{20}^* + r_2^* C_b \quad (2.21)$$

dove r_2 e r_2^* sono le rilassanze trasverse e dipendono dal volume di sangue e dalla morfologia vascolare [10, 36] mentre R_{20} and R_{20}^* sono i tassi di rilassamento intrinseci del tessuto in assenza dell'agente di contrasto.

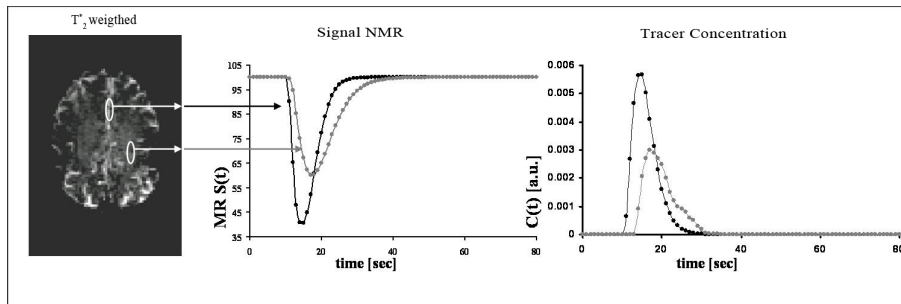


Figura (2.11). Effetto del passaggio dell'agente paramagnetico sul segnale NMR e conversione del segnale NMR in concentrazioni di agente di contrasto.

L'effetto del passaggio di un bolo di agente paramagnetico è schematizzato in figura 2.11, quando l'agente di contrasto entra nel VOI, incrementa la concentrazione del tracciante e attenua il segnale NMR.

Se S_0 e $S(t)$ sono le intensità del segnale SE allo stato basale (i.e. prima dell'arrivo del tracciante) e al tempo t , in seguito all'iniezione dell'agente di contrasto, allora la concentrazione $C_t(t)$ si può ricavare dalle Eq. (2.21) e (2.20), così ottenendo

$$C_t(t) = \frac{1}{r_2}[R_2(t) - R_2(0)] = -\frac{\kappa_{VOI}}{TE} \log \left[\frac{S(t)}{S(0)} \right] \quad (2.22)$$

nella quale κ_{VOI} è una costante di proporzionalità non nota del VOI; dipendente dal tessuto, dall'agente di contrasto, dalla forza del campo magnetico e dalla sequenza di stimolazione, essendo non nota questa costante viene posta normalmente a uno, introducendo quindi un errore nella stima di $C_t(t)$.

L'Eq. (2.22) si riferisce ad una sequenza di acquisizione SE, nel caso la sequenza di acquisizione fosse GE si può ricavare un'equazione simile.

2.3 Dynamic Susceptibility Contrast - MRI: Problemi Aperti

2.3.1 Ricircolo

Una delle ipotesi della teoria della diluizione è la totale assenza di ricircolo del tracciante. Purtroppo questo non è il caso degli esperimenti di DSC-MRI, infatti il $C_{VOI}(t)$ misurato può includere il contributo del ricircolo, individuabile come un secondo picco, molto più basso rispetto a quello principale, oppure un ritorno incompleto allo stato basale dopo il primo passaggio del tracciante (caratterizzato dal picco principale).

Un possibile approccio per separare i contributi dovuti ai successivi passaggi del tracciante consiste nel considerare solamente i dati che includono il picco iniziale, quindi dall'inizio dell'esperimento fino al momento in cui appare il ricircolo. L'intrinseca arbitrarietà nella scelta della soglia e il parziale sovrapporsi del primo picco con il profilo proprio del ricircolo sono le limitazioni principali di questo metodo.

2.3 Dynamic Susceptibility Contrast - MRI: Problemi Aperti

Una tecnica più raffinata usa una funzione *Gamma-variata* per descrivere la $C_{VOI}(t)$ [8, 55, 56, 62]. La forma della Gamma-variata generalmente utilizzata è:

$$\Gamma(t; A, \alpha, \beta, t_0) = A \cdot (t - t_0)^\alpha \cdot e^{-\frac{t-t_0}{\beta}} \quad (2.23)$$

dove A , α , β e t_0 sono i parametri da stimare.

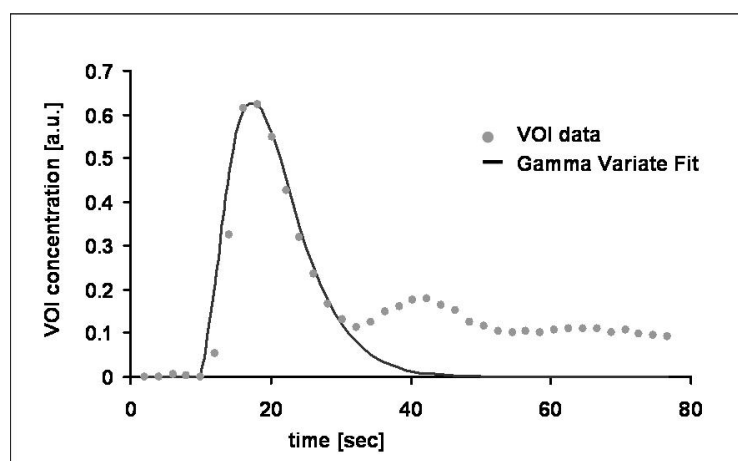


Figura (2.12). Tipico andamento nel tempo della concentrazione di tracciante (curva a punti) in presenza di tracciante e fit con una funzione Gamma-variata (linea continua) per eliminare il ricircolo.

In Figura 2.12 è riportato un esempio di fit con Gamma-variata di un tipico andamento in un VOI. In generale, se i dati non vengono corretti dal ricircolo, il CBV e gli altri parametri saranno sistematicamente sovrastimati.

Alternativamente a quanto esposto, è possibile non effettuare la correzione per il ricircolo su tutti i dati. In [39] viene dimostrato come si possano ottenere comunque buone stime dei parametri emodinamici non effettuando il fit con una Gamma-variata. Questo approccio, basato sul principio di sovrapposizione degli effetti, richiede come unica limitazione il dover includere nell'AIF il ricircolo.

2.3.2 Calcolo della concentrazione

Un'importante ipotesi fatta nella conversione da segnale NMR acquisito alla curva della concentrazione di tracciante è che le costanti r_2 e r_2^* presenti nelle Eq.(2.21) ed (2.22) siano le stesse in tessuti differenti [48]. Modelli teorici mostrano che la costante di proporzionalità può dipendere fortemente dalla scelta della sequenza di acquisizione e dalla morfologia vascolare. Per esempio, la rilassanza extra-vascolare per una sequenza GE è pressochè indipendente dalla misura dei vasi con diametro più grande di 10-20 μm [10], dando quindi lo stesso peso a venule ed arteriole e peso minore al contributo dei capillari. Quindi, tessuti con differenti proporzioni di capillari, arteriole e venule potrebbero avere rilassanze differenti.

La rilassanza intra-vascolare è spesso sostituita con la rilassanza molare dell'agente di contrasto, ma in una sequenza GE non è del tutto vero, in quanto la rilassanza dipende da specifiche proprietà geometriche del VOI. Inoltre, utilizzando una sorgente intravascolare per l'AIF, bisogna tenere in considerazione che la rilassanza non è la stessa che nel letto microvascolare.

Utilizzando sequenze SE, il segnale extra-vascolare è più sensibile alla componente del segnale proveniente dai capillari, che ha una rilassanza significativamente minore rispetto ai vasi di dimensione maggiore.

Un'altra importante ipotesi è la presenza di una *Barriera Emato Encefalica* (BBB: Blood Brain Barrier) intatta perché un danno a livello della BBB comporterebbe la fuoriuscita del tracciante nello spazio extra-vascolare. Questo fenomeno è utilizzato per localizzare la rottura della BBB in alcune malattie. Tuttavia, questa fuoriuscita provoca una grande confusione nelle acquisizioni vascolari: dato che il tracciante ha un accesso diretto al tessuto ed esercita un più elevato effetto di rilassamento sui parametri T_1 , T_2 e T_2^* . La conseguenza maggiore è la diminuzione di T_1 e T_2^* nel tessuto che provoca un'alterazione del contrasto dell'immagine in base al grado della pesatura in T_1 e T_2^* . Quindi, nel caso in cui la BBB risulti compromessa, il modello esposto precedentemente non è più valido.

Nel modello del tracciante NMR si assume che il tasso di rilassamento sia direttamente proporzionale alla concentrazione intravascolare dell'agente di contrasto (Eq.(2.21)). Alcuni studi suggeriscono che in acquisizioni tramite

2.3 Dynamic Susceptibility Contrast - MRI: Problemi Aperti

sequenze SE questo non è sempre verificato in quanto alle alte concentrazioni di tracciante, il tasso di rilassamento varia all'innalzarsi della concentrazione. Questo fatto introduce un errore sistematico nella quantificazione assoluta dei parametri [36]. Modelli teorici suggeriscono inoltre che la rilassanza extra-vascolare dei capillari in sequenze GE potrebbe essere non lineare anche alle basse concentrazioni.

2.3.3 Quantificazione assoluta dei parametri emodinamici

La *quantificazione* assoluta dei valori di CBF e CBV è fortemente dipendente dai valori delle costanti k_{VOI} , ρ , H_{LV} ed H_{SV} presenti nelle Eq. (2.22), (2.9), (2.11) e (2.19) [72]. k_{VOI} dipende dal tessuto, dall'agente di contrasto, dall'intensità del campo magnetico e dalla sequenza di stimolazione e di acquisizione. Questo significa che lo si considera incognito ed è assunto generalmente unitario. La conseguenza di ciò è che la curva di concentrazione del tracciante ottenuta dall'Eq. (2.22) non ha unità di misura ed è considerata adimensionale. Per quanto riguarda le costanti ρ , H_{LV} ed H_{SV} vengono solitamente utilizzati dei valori costanti. Tuttavia si è dimostrato che tali valori non sono effettivamente costanti e variano all'interno di una popolazione [65]. Secondo [65, 67], i valori proposti per ρ e k_H generano valori di CBF che concordano con valori di flusso ottenuti, su soggetti normali, con altre tecniche (come la PET: Tomografia ad emissione di positroni). Ciò nonostante gli stessi valori utilizzati in soggetti fumatori non forniscono valori di CBF affidabili [22]. Per di più, la validità di questi valori in condizioni patologiche non è ancora stata del tutto verificata.

Per ovviare a queste limitazioni sono stati proposte molte alternative, in [56] Østergaard e colleghi ottengono un valore di CBF assoluto assumendo un ematocrito microvascolare costante all'interno del cervello e assegnando un valore di CBF, pari a $22ml/100ml/min$, nella materia bianca. Il CBF assoluto delle altre regioni del cervello è stato poi ottenuto come il rapporto con la materia bianca. Questo approccio è basato su studi PET, che mostrano come la materia bianca, in soggetti normali, abbia un valore uniforme ed indipendente dall'età del soggetto [44]. In [51, 57, 58] il confronto tra misure MRI e

PET ha permesso di individuare un fattore di conversione per poter risalire al valore assoluto del CBF con tecniche di indagine MRI.

Tuttavia non è stato ancora trovato uno standard che permetta di ottenere una quantificazione assoluta dei parametri di perfusione.

2.3.4 Funzione d'ingresso arteriale

Per AIF si intende l'andamento della concentrazione di tracciante, nel vaso che irrori il VOI. È sin dai primi esperimenti effettuati con la tecnica DSC-MRI la selezione dell'AIF è un passo cruciale nella quantificazione delle immagini, dato che essa è necessaria per poter calcolare le mappe parametriche di CBF, CBV ed MTT.

I fattori che influenzano la forma dell'AIF sono il tipo di infusione del tracciante, l'eiezione sistolica cardiaca, la geometria vascolare e infine la resistenza vascolare cerebrale: l'AIF cambia quindi da soggetto a soggetto ma anche da un esperimento ad un altro e, non ultimo, cambia da un tessuto all'altro. È facile capire come, idealmente, si dovrebbe avere a disposizione la misura diretta dell'AIF per ogni singolo soggetto preso in esame, e ripetuta ad ogni nuovo esperimento e per ogni voxel dell'immagine. L'AIF appena descritta prende il nome di *AIF locale* [3, 21, 34]. Nella pratica, sia essa clinica o di ricerca, questo non è possibile e quindi viene estratta una AIF unica per tutti i voxel. Questa soluzione prende il nome di *AIF globale* e trascura, quindi, ogni distanza finita tra il sito di misura dell'arteriale e i vari voxel analizzati. Con "estrarre" la AIF si intende selezionare uno o più voxel interamente contenuti all'interno di un vaso arteriale il cui segnale medio viene considerato una stima della AIF. Per ridurre le differenze tra la vera AIF e quella misurata, il sito prescelto per l'estrazione dovrebbe essere il più vicino possibile alla regione di interesse (ROI: region of interest) [2, 19], e posto su un grande vaso che irrori l'intera ROI che si sta quantificando [17, 56, 62]. L'arteria che si preferisce utilizzare solitamente, quando si analizza un'intero cervello, è l'Arteria cerebrale media (MCA o Arteria Silviana) perché la sua posizione simmetrica garantisce il minimo ritardo tra AIF e tessuto [?, 46, 56]. Altri siti utilizzati sono l'Arteria Cerebrale Anteriore (ACA) oppure l'Arteria cerebrale Interna [19].

2.3 Dynamic Susceptibility Contrast - MRI: Problemi Aperti

La stima dell'AIF può essere influenzata da numerosi effetti indesiderati, i quali possono introdurre degli errori nell'AIF: i quali a loro volta si riflettono sui parametri di perfusione stimati. Quello che segue è un elenco dei problemi più comuni legati alla selezione dell'AIF.

Uno dei problemi più comuni che si incontrano nella stima dell'AIF è il cosiddetto *effetto da volume parziale*. Dato che le immagini di DSC-MRI hanno una risoluzione spaziale relativamente bassa, un voxel prescelto per l'AIF può contenere al suo interno sia l'arteria che il tessuto circostante e quindi la misura dell'arteriale risulterà affetta da bias, dovuto alla presenza di un contributo dato dal tessuto e non dal vaso. L'effetto di volume parziale dipende dalle dimensioni del vaso, posizione e orientamento [27, 80] e tende a provocare una sovrastima del CBF. In letteratura sono presenti molti metodi per la sua correzione, basati sull'introduzione di un opportuno fattore di scala [45], oppure sull'utilizzo di un algoritmo ad-hoc per ottenere l'AIF corretta [80, 82].

Per poter ricavare la concentrazione ($C_{VOI}(t)$) si ipotizza che tra la concentrazione di tracciante e il tasso di rilassamento ci sia una relazione lineare, vedi Eq. (2.22). Bisogna tenere presente però che se la concentrazione nel voxel aumenta, questa ipotesi non è più valida e si rischia di introdurre un errore sistematico [27, 28, 36, 37, 64]. Questo fenomeno prende il nome di *effetto di saturazione*. Un metodo di correzione per ovviare a questo effetto indesiderato è stato proposto da [14]: l'autore divide la curva di concentrazione arteriale in campioni attendibili (a bassa concentrazione) e non attendibili (ad alta concentrazione) e procede alla ricostruzione dei campioni non attendibili attraverso una combinazione polinomiale del terzo ordine.

Dato che tra il sito di misura dell'AIF ed i voxel esiste una distanza finita, l'arteriale può essere affetta da *ritardo* e *dispersione*, specialmente in presenza di patologie. Con ritardo si intende un arrivo del tracciante al VOI, con un ritardo puro t_d rispetto all'AIF, denotata con $C_{AIF}(t)$ l'AIF estratta dalle immagini (misurata) e con $C_{AIF}^{VOI}(t)$ l'AIF in ingresso al VOI:

$$C_{AIF}^{VOI}(t) = C_{AIF}(t + t_d) \quad (2.24)$$

se si utilizza C_{AIF} invece della vera C_{AIF}^{VOI} si dovrebbe considerare la presenza di ritardo nel procedimento di stima della funzione residuo $h(t)$.

Teoria

Si può spiegare il fenomeno della dispersione considerando il percorso del tracciante nei vasi. Passando dal sito di misura dell'AIF attraverso vasi di diametro via via minore il bolo di tracciante viene disperso, per cui il profilo di $C_{AIF}^{VOI}(t)$ risulta modificato rispetto a $C_{AIF}(t)$. Di seguito è riportata una possibile formulazione matematica della dispersione, a partire dalla definizione di una funzione che descrive il trasporto vascolare, $VTF(t)$ (Vascular tissue function VTF), si definisce:

$$C_{AIF}^{VOI}(t) = C_{AIF}(t) \otimes VTF(t) \quad (2.25)$$

con l'ipotesi che

$$\int_0^{\infty} VTF(t)dt = 1 \quad (2.26)$$

È stato dimostrato in [18, 59, 87] che la dispersione nell'AIF stimata introduce errori significativi nella quantificazione delle immagini DSC-MRI. Se con $d(t)$ si indica la *funzione di dispersione*, la funzione residuo ($R^*(t)$), ottenuta tramite deconvoluzione tra la concentrazione tessutale e l'AIF diventa

$$R^*(t) = CBF \cdot R(t) \otimes d(t) \quad (2.27)$$

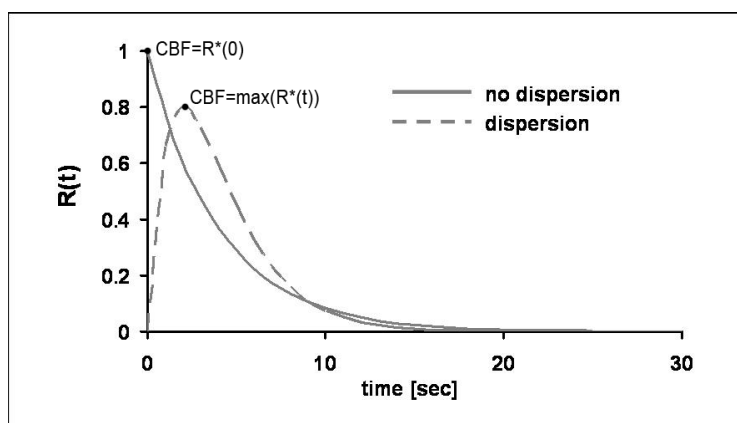


Figura (2.13). Funzione residuo $R(t)$ in assenza (linea continua) o in presenza (linea tratteggiata) di dispersione.

con $R^*(0) = 0$ e $\int_0^{\infty} R^*(\tau)d\tau = CBF \cdot MTT$. Ritardo e dispersione modificano la forma della curva dell'arteriale e di conseguenza la forma di $R^*(t)$

2.3 Dynamic Susceptibility Contrast - MRI: Problemi Aperti

Questo implica che il CBF non sia più ottenuto come $R^*(t)$ in $t=0$ (si veda la sezione 2.2.3 a pagina 21) ma come il suo valore massimo ($CBF = \max\{R^*(t)\}$) [18, 20, 56], introducendo un errore nella quantificazione del CBF. Esempi di AIF affette e non affette da dispersione sono riportate in Fig. 2.13. In [18] l'autore mostra come 1-2 secondi di ritardo possano introdurre una sottostima del 40% per il CBF e una sovrastima ancora maggiore, pari al 60% per quanto riguarda l'MTT. In presenza di patologie cerebrovascolari, come l'ischemia cerebrale o le stenosi carotidee, queste problematiche sono molto frequenti, per non dire onnipresenti e minano la qualità delle indagini DSC-MRI.

Per ridurre l'effetto del ritardo e della dispersione si può utilizzare una AIF locale [2, 19], tuttavia finora sono stati effettuati solo pochi tentativi con questo approccio [21, 47]. L'uso di un'arteriale locale al posto di un'AIF globale può ridurre il ritardo e la dispersione ma introduce un aumento nell'effetto da volume parziale. Quindi, come precedentemente puntualizzato, la scelta del sito di misura per l'AIF deve essere effettuata con la massima cura: considerando sia le limitazioni tecniche quanto le condizioni patologiche.

La *sequenza di acquisizione* usata influenza anch'essa l'AIF. In [10], l'autore dimostra come immagini funzionali ottenute tramite SE abbiano una sensibilità microvascolare maggiore, producendo immagini di buona qualità. D'altro canto, l'AIF prodotta con questa sequenza è influenzata dall'informazione dei vasi più piccoli e può quindi sottostimare l'andamento dell'arteriale, come riportato in [56]. D'altro canto, una sequenza GE, che pesa maggiormente l'informazione proveniente da vasi di dimensione maggiore non sottostimando l'AIF, risente maggiormente dell'effetto di volume parziale rispetto alla sequenza SE [81].

Selezione Manuale

Come precedentemente illustrato, la determinazione dell'AIF è un passo delicato nella quantificazione delle immagini di DSC-MRI. Un possibile approccio è affidarsi a un medico, che sceglie manualmente i voxel classificandoli come arteriali da un'immagine MR anatomica o direttamente su un'immagine DSC-MRI. Nel caso di MR anatomica è necessaria successivamente un'operazione di coregistrazione tra le due immagini (funzionale ed anatomica). Que-

Teoria

sta trasformazione può introdurre bias nell'AIF a causa del diverso posizionamento delle fette o di operazioni di adattamento dei dati (di norma un'immagine anatomica è a più elevata risoluzione rispetto ad una funzionale). Nel secondo caso, la bassa risoluzione spaziale delle immagini DSC-MRI può portare ad errori nella selezione dei voxel. Ulteriori limitazioni nella selezione manuale dell'arteriale sono la necessità di avere a disposizione personale addestrato, l'intrinseca soggettività dell'operazione e la bassa riproducibilità. A dispetto di quanto sopra, la selezione manuale dell'AIF rimane il metodo più utilizzato per la quantificazione di immagini DSC-MRI.

Selezione Automatica

In letteratura sono proposti diversi metodi che cercano di superare i problemi legati alla selezione manuale dell'AIF. Qui verrà presentato il metodo pubblicato da Peruzzo e colleghi [61] che è stato utilizzato in questo studio. L'algoritmo è semiautomatizzato e può essere suddiviso in 4 fasi:

1. individuazione della slice contenente l'Arteria Cerebrale Media (MCA)
2. disegno di una regione di interesse (ROI) dove è più probabile sia localizzata la MCA
3. filtro per la selezione dei voxel candidati
4. analisi iterativa con cluster gerarchico

Il primo passo consiste nell'individuazione da parte di un operatore una slice contenente la MCA. La scelta della MCA è giustificata dal fatto che essa è l'arteria che consente di minimizzare il ritardo tra l'AIF e i voxel della corteccia cerebrale. Normalmente viene scelta la fetta subito superiore al *corpo calloso*, il quale costituisce un riferimento facilmente individuabile ed è posto subito al di sotto della MCA. La regione disegnata automaticamente al secondo passo è di tipo ellittico (Fig. 2.14) in quanto ci si aspetta che la gran parte dell'arteria sia compresa nel centro della slice, a causa della conformazione anatomica dei vasi cerebrali (Fig. 2.15). Infatti l'arteria MCA dopo aver oltrepassato il corpo calloso compie una curva in direzione antero-posteriore.

2.3 Dynamic Susceptibility Contrast - MRI: Problemi Aperti

ROI ellittica per ricerca AIF - Sogg 1 Slice 8

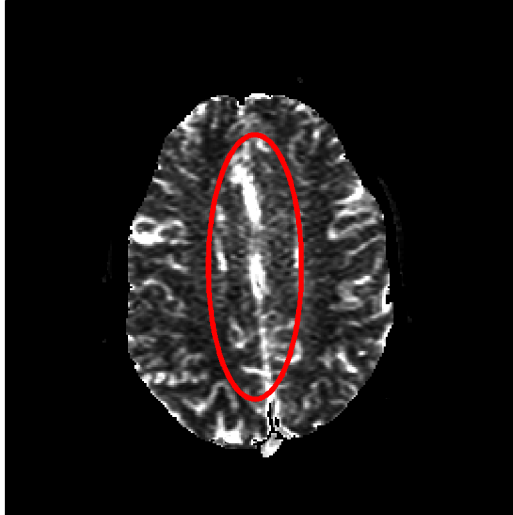


Figura (2.14). Esempio di ROI ellittica posizionata al centro della fetta in cui avviene la selezione dei voxel di arteriale.

La conformazione scelta per la ROI permette quindi di includere una porzione più ampia possibile della MCA, escludendo al tempo stesso una buona porzione di tessuto periferico.

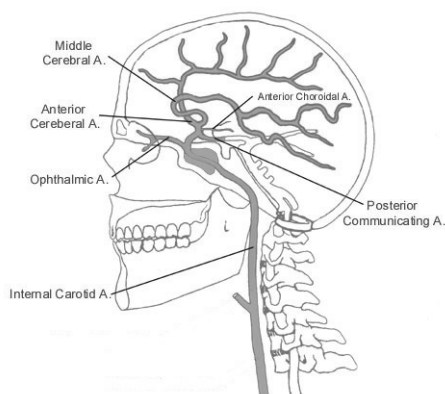


Figura (2.15). Maggiori arterie dell'encefalo e loro configurazione anatomica, queste informazioni sono utilizzate per la ricerca dell'AIF.

Teoria

Nel terzo passo l'algoritmo applica un'operazione di filtraggio per selezionare i voxel all'interno della ROI secondo questo procedimento:

- Per ogni voxel viene calcolato l'integrale definito (area under the curve - AUC). Successivamente per minimizzare l'effetto di volume parziale vengono scartati il 40% dei voxel con l'AUC minore.
- Dato che i voxel con TTP con maggiore ritardo rappresentano venule e vene, vengono scartati il 40% dei voxel con TTP più elevato.
- Vengono eliminati l'ulteriore 5% dei voxel che possiedono l'indice di regolarità minore. L'indice di regolarità I_{reg} è definito come:

$$I_{reg} = \int_0^{\infty} \left(\frac{\partial^2 C(t)}{\partial t^2} \right)^2 dt \quad (2.28)$$

fornisce una stima della regolarità del segnale, in questo caso della concentrazione $C(t)$ del tracciante nel VOI. Ci si aspetta che un voxel contraddistinto da un segnale irregolare sia un voxel rumoroso e quindi da scartare.

Infine viene effettuata un'analisi di clustering gerarchico iterativa per individuare i voxel arteriali. Ad ogni ciclo i voxel vengono divisi in due cluster secondo la distanza Euclidea. Poi la curva del centroide (media del cluster) che presenta il picco più elevato viene selezionato, solo nel caso in cui la differenza di picco tra due andamenti medi sia inferiore al 5% allora viene selezionato il cluster con tempo al picco (Time to peak TTP) minore. Successivamente, il cluster selezionato viene analizzato nuovamente tramite clustering gerarchico. Questo processo viene ripetuto ricorsivamente fino a che il cluster selezionato contiene meno di sei voxel.

2.3.5 Deconvoluzione

Come accennato nella sezione 2.2.3 pag. 21) per poter quantificare il parametro CBF a partire dall'Eq. (2.22) è necessario svolgere un'operazione di deconvoluzione tra $C_{VOI}(t)$ e $C_{AIF}(t)$.

2.3 Dynamic Susceptibility Contrast - MRI: Problemi Aperti

La Deconvoluzione è un'operazione matematica che permette di ricostruire la risposta impulsiva di un sistema, a partire dai segnali di ingresso e di uscita al sistema. I principali problemi legati a questo strumento matematico sono il *mal-condizionamento* e la *mal-posizione* del problema stesso. Il concetto di mal-posizione significa, in pratica, che gli stessi segnali discreti in ingresso e in uscita, possono portare a differenti ed equivalenti soluzioni al problema di deconvoluzione. Il mal-condizionamento indica, invece, che un basso livello di rumore nei segnali in uscita porta inevitabilmente a grandi errori nella quantificazione della risposta impulsiva. Questo implica che piccole variazioni nel segnale di uscita possono essere amplificate dall'operazione di deconvoluzione, provocando enormi variazioni nella risposta impulsiva. Per di più, il mal-condizionamento aumenta sia in caso di campionamento più fitto che nel caso di sistemi risposta lenta.

Oltre al mal-condizionamento e alla mal-posizione, la deconvoluzione è ulteriormente complicata da alcune *caratteristiche dei sistemi fisiologici* [26]. Prima di tutto il passo di campionamento nei soggetti è, di norma, rarefatto e a causa di ragioni sia etiche che economiche generalmente non uniforme. Oltre ai problemi sopracitati, i segnali biologici sono intrinsecamente positivi, quindi le stime negative che possono essere ricavate da un punto di vista matematico non hanno significato fisiologico.

I metodi per effettuare l'operazione di deconvoluzione sono classificati in 2 categorie principali: *modello-dipendente* e *modello-indipendente*, anche chiamati metodi *parametrici* e *non-parametrici*.

Nell'approccio *modello-dipendente*, la funzione incognita da deconvolvere viene descritta da una funzione parametrica. In questo modo, l'operazione di deconvoluzione diventa un problema di stima parametrica, superando così i problemi di mal-condizionamento e mal-posizione. Nella stima dei parametri si possono utilizzare dei criteri per escludere soluzioni non fisiologici. D'altro canto però questa metodologia introduce pesanti ipotesi sulla forma di $R(t)$ e può introdurre un *bias* nella stima del CBF. Esempi di metodi modello-dipendente applicati alla quantificazione di immagini DSC-MRI può essere trovato in [42, 50, 59, 94].

Al contrario, nei metodi *modello-indipendenti* non si devono fare ipotesi di alcun genere su $R(t)$: quindi sono più potenti e meno affetti da bias di

Teoria

quelli modello-dipendenti. D'altronde sono maggiormente sensibili ai problemi di mal-condizionamento e mal-posizione. Una delle metodiche modello-indipendente più semplici è quella di usare teorema della convoluzione delle trasformate di Fourier: che permette di calcolare la convoluzione di due funzioni come il prodotto delle trasformate. Applicando il teorema all'Eq. (2.22)

$$\mathcal{F}\{C_{VOI}(t)\} = \mathcal{F}\{CBF \cdot R(t) \otimes C_{AIF}(t)\} = CBF \cdot \mathcal{F}\{R(t)\} \cdot \mathcal{F}\{C_{AIF}(t)\} \quad (2.29)$$

il valore del parametro CBF può quindi essere dedotto facilmente:

$$CBF \cdot R(t) = \mathcal{F}^{-1} \left[\frac{\mathcal{F}\{C_{VOI}(t)\}}{\mathcal{F}\{C_{AIF}(t)\}} \right] \quad (2.30)$$

dove \mathcal{F}^{-1} è l'inversa della trasformata di Fourier \mathcal{F} . I risultati ottenuti con questo metodo sono molto discordanti. In [69] si presentano CBF stimati in maniera soddisfacente, mentre in [56] si evidenzia la presenza di una sottostima sistematica del CBF in condizioni di flusso elevato.

Un altro metodo modello-indipendente è basato sull'ipotesi seguente: gli istanti di campionamento della concentrazione arteriale e tessutale sono uniformi, posti in istanti equidistanti l'uno dall'altro, $t_i = t_{i+1} + \Delta t$ e $R^*(t) = CBF \cdot R(t)$ è approssimata ragionevolmente con una funzione costante in ogni intervallo Δt . Sotto queste ipotesi, il problema di deconvoluzione discreta in DSC-MRI può essere scritto come

$$C_{VOI}(t_j) \cong CBF \cdot \Delta t \sum_{i=0}^j C_{AIF}(t_i) R(t_j - t_i) \quad (2.31)$$

che in forma matriciale diventa

$$\mathbf{C}_{VOI} = CBF \cdot \Delta t \cdot \mathbf{C}_{AIF} \cdot \mathbf{R} \quad (2.32)$$

$$\Delta t \begin{pmatrix} C_{AIF}(t_1) & 0 & \dots & 0 \\ C_{AIF}(t_2) & C_{AIF}(t_2) & \dots & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ C_{AIF}(t_N) & C_{AIF}(t_{N-1}) & \dots & C_{AIF}(t_1) \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} R(t_1) \\ R(t_2) \\ \dots \\ R(t_N) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} C_{VOI}(t_1) \\ C_{VOI}(t_2) \\ \dots \\ C_{VOI}(t_N) \end{pmatrix}$$

2.3 Dynamic Susceptibility Contrast - MRI: Problemi Aperti

dove C_{VOI} è un vettore $N \times 1$, C_{AIF} è una matrice $N \times N$, \mathbf{R} è un vettore $N \times 1$ (N è il numero di campioni di $C_{\text{VOI}}(t)$). L'Eq. (2.32) è un'equazione matriciale con una soluzione esplicita se C_{AIF} è invertibile (i.e. $\det(C_{\text{AIF}}) \neq 0$). In un caso simile la soluzione si può ricavare da:

$$CBF \cdot \Delta t \cdot \mathbf{R} = C_{\text{AIF}}^{-1} \cdot C_{\text{VOI}} \quad (2.33)$$

Questo approccio è chiamato *deconvoluzione "grezza"* (raw deconvolution) [25] e garantisce una corrispondenza perfetta tra le misure e i dati convoluti. Ciò nonostante, la funzione residuo ricostruita presenta oscillazioni non fisiologiche.

Il metodo di regolarizzazione di *Philips-Tikhonov*, è un metodo di deconvoluzione e prende il nome dai due studiosi che, lo hanno sviluppato in modo autonomo, per migliorare le prestazioni della raw-deconvolution. Per far ciò il problema è stato riformulato nella forma di un problema di ottimizzazione (i.e. trovare il minimo di una funzione costo). La funzione obiettivo può essere divisa in due termini: il primo coincide con la deconvoluzione "grezza" e che ha lo scopo di mantenere l'aderenza ai dati della soluzione. Il secondo rappresenta la stima di un'indice di irregolarità, è calcolato come la derivata m -esima dell'energia e ha il compito di mantenere una certa regolarità della soluzione. Nel contesto a cui vogliamo applicarlo, cioè per la quantificazione delle immagini DSC-MRI, il problema di ottimizzazione può essere scritto come

$$\hat{\mathbf{R}} = \min_{\hat{\mathbf{R}}} \{ (C_{\text{VOI}} - C_{\text{AIF}} \hat{\mathbf{R}})^T \Sigma_{C_{\text{VOI}}}^{-1} (C_{\text{VOI}} - C_{\text{AIF}} \hat{\mathbf{R}}) + \gamma \hat{\mathbf{R}}^T \mathbf{F}^T \mathbf{F} \hat{\mathbf{R}} \} \quad (2.34)$$

dove la matrice $\Sigma_{C_{\text{VOI}}}$ rappresente la matrice di covarianza dell'errore sui dati, \mathbf{F} è una matrice $N \times N$ che contiene i pesi, scelti in modo che $\mathbf{F} \hat{\mathbf{R}}$ rappresenti il vettore delle m -derivate di \mathbf{R} . γ è un parametro scalare non negativo, chiamato *parametro di regolarizzazione* e consente di legare i due termini della funzione costo sopracitati, assegnando loro pesi relativi differenti, (es. valori di γ elevati producono soluzioni molto regolari, valori bassi di γ portano a soluzioni che seguono più fedelmente i dati). In letteratura sono stati presentati diversi metodi per la selezione di γ : il criterio di discrepanza, il

criterio del minimo rischio, il criterio di ordinaria cross-validazione, il criterio di cross-validazione generalizzata e il criterio L-curve.

Una diversa interpretazione del problema di regolarizzazione si può ottenere se lo si affronta in un *ambito stocastico*. In questo caso, \mathbf{R} e \mathbf{C}_{VOI} si ipotizzano vettori a media nulla con matrici di covarianza $\Sigma_{\mathbf{R}}$ e $\Sigma_{\mathbf{C}_{\text{VOI}}}$. Il problema di deconvoluzione pertanto può essere risolto con una stima *Bayesiana*. Se si opera in quest'ottica perc'ò è necessario poter disporre della matrice di covarianza di \mathbf{R} , $\Sigma_{\mathbf{R}} = \frac{1}{\gamma}(\mathbf{F}^T \mathbf{F})^{-1}$. La stima alla Bayes è basata sulla *conoscenza a priori* sulla regolarità della $R(t)$ che abbiamo a disposizione. Una semplice descrizione probabilistica a priori di una funzione “*smooth*” considera $R(t)$ come la realizzazione di un processo stocastico ottenuto da una serie di m integratori con in ingresso un rumore bianco a media nulla e varianza $\frac{1}{\gamma}$ (per $m = 1$ la funzione residuo è modellata con un modello random walk).

Negli ultimi decenni sono stati proposti e sviluppati in letteratura alcuni metodi non parametrici per la soluzione del problema di deconvoluzione [4, 53, 55, 85, 89, 90]. È chiaro come l'operazione di deconvoluzione sia la più importante questione ancora aperta per la quantificazione del CBF. Anche se le sue limitazioni sono molte e largamente descritte, la *Singular Value Decomposition* (SVD) rappresenta la tecnica gold-standard per le analisi di immagini DSC-MRI [55, 56]; la sua evoluzione, la *Block-Circulant Singular Value Decomposition* (cSVD), migliora alcuni dei limiti della SVD, ed è anch'essa molto utilizzata in ambito clinico.

Singular Value Decomposition

L'operazione SVD appartiene all'algebra lineare e viene considerata uno dei più importanti metodi di fattorizzazione di matrici rettangolari sia reali che complesse ed ha molte applicazioni nell'analisi dei segnali e in generale in statistica. Può essere vista come la generalizzazione del teorema di scomposizione spettrale, che afferma che matrici normali possono essere rese diagonali utilizzando una base di autovettori. L'SVD può essere usata, per esempio, per calcolare la pseudo-inversa di una matrice. Per di più la si può utilizzare per ricavare il rango effettivo di una matrice oppure per lo studio di *problemi lineari inversi* o nell'analisi di metodi di Regolarizzazione. Come detto sopra

2.3 Dynamic Susceptibility Contrast - MRI: Problemi Aperti

è molto utilizzata in campo statistico e nell'analisi dei segnali, essendo legata alla Principal Component Analysis (PCA) o in problemi di riconoscimento di pattern.

Una versione modificata della SVD, chiamata SVD troncata, è stata introdotta per la prima volta nel contesto DSC-MRI nel 1996 da Østergaard e colleghi, ed è diventata la tecnica più diffusa per la quantificazione dell'emodinamica cerebrale in DSC-MRI [55, 56].

Per poter affrontare la deconvoluzione in modo algebrico si deve partire dalla riformulazione dell'integrale nell'Eq. (2.19) nell'ambito dei segnali discreti. La notazione vettoriale può essere applicata all'Eq. (2.31)

$$\mathbf{A} \cdot \mathbf{b} = \mathbf{c} \quad (2.35)$$

dove \mathbf{b} è un vettore contenente gli elementi di $R(t_i)$, $i = 1, 2, \dots, N$, e \mathbf{c} è un vettore che contiene le misure di concentrazione di tracciante nel tessuto. Per poter risolvere l'Eq.(2.35) devono essere minimizzati sia l'effetto del rumore che la distanza tra le predizioni e i dati misurati

$$| \mathbf{A} \cdot \mathbf{b} - \mathbf{c} | \quad (2.36)$$

dove $| |$ nell'Eq.(2.36) rappresenta la norma.

L'approccio algebrico ipotizza che le concentrazioni in arteria e nel tessuto siano costanti tra i campioni, vedi ad esempio la costruzione della matrice C_{AIF} nell'Eq. (2.32) Tuttavia nell'analisi DSC-MRI, ci si aspetta che sia l'AIF che la funzione residuo varino su scale temporali minori del tempo di campionamento: tutto ciò fa concludere che il considerare le misure costanti a tratti sia una approssimazione mediocre. Quindi si ipotizza che $C_{AIF}(t)$ ed $R(t)$ abbiano una variazione lineari nel tempo. Sotto questa ipotesi gli elementi a_{ij} della matrice C_{AIF} nell'Eq.(2.32) diventano

$$a_{ij} = \begin{cases} \Delta t [C_{AIF}(t_{i-j-1}) + 4 \cdot C_{AIF}(t_{i-j}) + C_{AIF}(t_{i-j+1})] / 6 & 0 \leq j \leq i \\ 0 & \text{altrimenti} \end{cases}$$

Considerando gli elementi della matrice \mathbf{A} , l'SVD risolve l'Eq. (2.36) costruendo le matrici \mathbf{V} , \mathbf{W} and \mathbf{U}^T in modo che l'inversa di \mathbf{A} (\mathbf{A}^{-1}) possa essere riscritta come

$$\mathbf{A}^{-1} = \mathbf{V} \cdot \mathbf{W} \cdot \mathbf{U}^T \quad (2.37)$$

dove \mathbf{W} sia una matrice diagonale (gli elementi esterni alla diagonale sono quindi uguali a zero) contenente gli autovalori di \mathbf{A} e \mathbf{V} e \mathbf{U}^T siano matrici ortonormali. Ottenendo la matrice inversa \mathbf{A}^{-1} si può calcolare $R(t)$ come:

$$\mathbf{b} = \mathbf{V} \cdot \mathbf{W} \cdot (\mathbf{U}^T \cdot \mathbf{c}) \quad (2.38)$$

La principale proprietà dell'SVD è che gli elementi diagonali di \mathbf{W} sono zero o molto vicini a zero e corrispondono all'Eq.(2.31) in forma lineare. Questo permette di identificare gli elementi della matrice \mathbf{A} che provocano oscillazioni non fisiologiche nella soluzione \mathbf{b} . In altre parole, gli autovalori più piccoli, legati alle componenti più lente del sistema, sono responsabili del mal-condizionamento nella deconvoluzione. L'operazione di SVD fissa un valore di soglia P_{SVD} al di sotto del quale gli autovalori vengono posti a zero. In questo modo si incrementa la regolarità della soluzione e si minimizzano gli effetti indesiderati.

L'SVD è, come precedentemente detto, l'approccio più usato per quantificare immagini DSC-MRI. D'altro canto, negli ultimi anni le evidenti limitazioni a cui si va incontro utilizzandola sono state ampiamente evidenziate in letteratura [46, 52, 70, 73, 88, 90]. In particolare è stato dimostrato come il CBF che si ottiene con la SVD dipende molto dal valore di soglia (P_{SVD}) prescelto per eliminare gli elementi minori sulla diagonali della matrice \mathbf{W} . La soglia che viene utilizzata di norma è il 20% del valore singolare massimo. Questo valore è stato scelto dopo studi effettuati con il tipico rapporto segnale rumore dei dati DSC-MRI [55, 56]. Sebbene lo studio presentato da [46] suggerisca che la soglia debba essere ottimizzata per ogni SNR, il valore di soglia al 20% rimane il valore più utilizzato. Andersen e colleghi, nel loro lavoro [4], evidenziano come la soglia proposta da Liu e colleghi non sia ottimale nel caso in cui la funzione residuo sia descritta da un modello non esponenziale. Inoltre, l'approccio di Liu e colleghi fornisce risultati migliori rispetto all'utilizzo di

2.3 Dynamic Susceptibility Contrast - MRI: Problemi Aperti

una soglia unica fissata a priori solamente in simulazione. Questo suggerisce come, nonostante la dipendenza dal rumore del livello di soglia proposta in [46] sia reale, tale relazione sia molto complessa e influenzata da molti altri fattori. Inoltre l'operazione di SVD introduce oscillazioni indesiderate e valori negativi nella ricostruzione di $CBF \cdot R(t)$, producendo una funzione residuo poco plausibile dal punti di vista fisiologico. Spesso si ha la necessità non solo di avere a disposizione il valore massimo della funzione residuo, ma anche l'intera curva. Per esempio, in presenza di ritardo e dispersione solo un'accurata stima della forma di $CBF \cdot R(t)$ può essere utile a correggere l'errore. In questi casi, quindi, non è appropriato utilizzare il metodo SVD convenzionale.

Block-Circulant Singular Value Decomposition

Nel 2003, Wu e colleghi hanno proposto una versione modificata della SVD, la cSVD. Questo metodo migliora la stima del flusso calcolando la deconvoluzione attraverso una matrice "block-Circulant". Il punto di forza di questa metodologia è la sua insensibilità al differente tempo di comparsa del tracciante nell'AIF e nel tessuto [90].

Nella realtà, l'arrivo del mezzo di contrasto in $C_{VOI}(t)$ può subire un ritardo pari a t_d , dato che l'AIF misurata ($C_{AIF}^*(t)$) non è necessariamente la reale AIF per quel tessuto ($C_{AIF}(t)$), quindi $C_{AIF}^*(t) = C_{AIF}(t - t_d)$, perciò $R^*(t)$ dovrebbe essere $R(t + t_d)$ per $C_{VOI}(t)$, ma se assumiamo vera l'ipotesi di causalità, $R^*(t)$ non può essere stimata correttamente dall'inversione effettuata nell'Eq. (2.31), come avviene nella SVD.

Sfruttando il concetto di *deconvoluzione circolare*, $R^*(t)$ può essere rappresentata con $R(t)$ traslata di t_d , nel tempo, in modo circolare. È stato dimostrato che la deconvoluzione circolare è equivalente a quella lineare, ma soffre di aliasing. Compiendo un'operazione di *zero-padding* (aggiungendo in coda una sequenza di zeri), portando la serie di campioni di $C_{AIF}(t)$ e $C_{VOI}(t)$, di lunghezza N , ad una lunghezza L , pari a $2N$, si può ovviare all'aliasing. Sostituendo nell'Eq. (2.36) la matrice A con una matrice block-Circulant D i cui elementi sono

$$d_{i,j} = \begin{cases} a_{i,j} & \text{for } j \leq i \\ a_{L+i-j,0} & \text{altrimenti} \end{cases}$$

Teoria

Si può riformulare l'Eq.(2.35) come

$$\mathbf{g} = \mathbf{D} \cdot \mathbf{f} \quad (2.39)$$

dove \mathbf{g} , \mathbf{f} e \mathbf{D} corrispondono rispettivamente a \mathbf{c} , \mathbf{b} ed \mathbf{A} nell'Eq.2.35 dopo lo zero-padding. Utilizzando l'SVD, l'inversa di \mathbf{D} viene scomposta in

$$\mathbf{D}^{-1} = \mathbf{V}_c \cdot \mathbf{W}_c \cdot \mathbf{U}_c^T \quad (2.40)$$

ed esplicitando \mathbf{f}

$$\mathbf{f} = \mathbf{V}_c \cdot \mathbf{W}_c \cdot (\mathbf{U}_c^T \cdot \mathbf{g}) \quad (2.41)$$

L'utilizzo della deconvoluzione circolare, a causa della discontinuità a $t = 0$ e $t = L$, può provocare un'aumento del leakage in frequenza, che porta alla comparsa di oscillazioni spurie nel segnale deconvoluto. Aumentando il valore di soglia P_{SVD} dell'SVD si possono ridurre le oscillazioni. Si può far variare P_{SVD} finché le oscillazioni della funzione residuo si abbassano oltre un certo livello. In [90], il valore ottimo di P_{SVD} è stato determinato con simulazioni, minimizzando l'errore medio di stima del CBF su tutte le funzioni residuo considerate, ipotizzando un ritardo pari a zero.

I risultati riportati da Wu e colleghi mostrano come le stime dei parametri emodinamici fornite dalla cSVD non sono influenzate dal tempo di arrivo del tracciante, ovviando al problema presente nell'SVD convenzionale e rendendo la cSVD una tecnica modello indipendente che non risente delle differenze del ritardo di comparsa del tracciante. Le prestazioni della cSVD sono comparabili all'SVD standard anche quando non c'è differenza tra tempo di comparsa del tracciante nell'AIF e nel tessuto; in particolare Wu e colleghi hanno dato indicazioni di come, in questo caso, l'SVD ottenga valori di CBF sovrastimati.

Lo stesso lavoro pone attenzione anche agli effetti del cambiamento del tasso di campionamento e come esso influenza la stima del flusso. Se il TR aumenta, le prestazioni di SVD e cSVD calano, perché il periodo di campionamento non è sufficiente per caratterizzare le proprietà emodinamiche del tessuto in modo adeguato. Inoltre la soglia ottimale della cSVD cambia: diventa logicamente meno stringente. Se la differenza tra i tempi di comparsa non sono multipli di TR , cSVD mostra delle leggere oscillazioni, paragonabili

2.3 Dynamic Susceptibility Contrast - MRI: Problemi Aperti

a quelle dovute al rumore o a quelle ottenute con SVD. Per di più Wu e colleghi propongono un confronto tra una block-Circulant SVD (cSVD) a soglia fissa e una block-Circulant che varia la soglia utilizzata nella SVD in base ai dati di ogni voxel, chiamata oSVD. I risultati ottenuti mostrano come oSVD sia superiore a cSVD anche per tessuti di diverso tipo, dato che utilizza un metodo di *soglia adattativa locale*. La procedura cSVD promette di rendere le stime del flusso ematico insensibili al tempo di comparsa del tracciante, ma bisogna ancora lavorare per poterne definire meglio il dominio di validità, inoltre mostra alcune limitazioni. Come prima cosa sia la cSVD che la oSVD classificano tessuti differenti solo sulla base delle informazioni relative al CBF (al flusso), ma in alcune applicazioni cliniche è necessario aver a disposizione l'intera forma della funzione residuo e non solo il valore del CBF. Queste tecniche, inoltre non considerano il problema della *dispersione*. Come per la SVD, il segnale $R(t)$ è caratterizzato dalla presenza di valori negativi nell'andamento del segnale deconvoluto.

Come per SVD, sia cSVD che oSVD devono fissare un valore di *soglia* per eliminare le oscillazioni spurie nella $R(t)$ deconvoluta. Nel caso della cSVD, la soglia ottima viene fissata *a posteriori* minimizzando l'errore medio nella stima del flusso in un contesto di simulazione. Questo metodo non può essere applicato ad un soggetto clinico reale. Utilizzando la versione oSVD si può parzialmente ovviare al problema utilizzando una tecnica di selezione adattativa della soglia, basata sulle caratteristiche concentrazioni di ogni pixel, come proposto in [46]. La forma della funzione residuo stimata $R(t)$ presenterà, al di là di tutto, delle oscillazioni indesiderate.

*“Il pensiero fa la grandezza
dell'uomo”*

BLAISE PASCAL

Capitolo 3

Materiali e Metodi

3.1 Data-Set a disposizione

Il data-set sperimentale è stato acquisito presso Euganea Medica, centro per la diagnostica, di Agostino di Albignasego (PD), facente parte del gruppo Data Medica.

Gli esami di 51 soggetti, tutti con diagnosi conclamata di SM-RR (12 uomini e 40 donne) sono stati acquisiti nel periodo dal 15/10/2009 al 15/12/2009. In Tab. 3.1 sono riportati per ogni soggetto le informazioni relative allo stadio di avanzamento della malattia, il periodo dalla diagnosi ed eventualmente la terapia seguita. Il range in scala EDSS del gruppo di soggetti esaminati è compreso tra 1 e 6 con una media di 2,5 circa. L'età media dei pazienti è $37,97 \pm 11,37$ anni. La durata media della malattia, dal momento della diagnosi è di $9,69 \pm 7,75$ anni. Per quanto riguarda la terapia, si sono analizzati un totale di 31 pazienti sotto terapia farmacologica (Tab. 3.2) e 21 in semplice osservazione dell'evoluzione della malattia. Nella Tab. 3.1, l'ultima colonna definisce un sottogruppo di soggetti, a cui è stato possibile applicare la studio della perfusione in zone lesionate della corteccia cerebrale: la selezione dei soggetti e delle stesse placche sarà discussa nei capitoli successivi. Per questo scopo in Tab. 3.3 si può trovare un sommario delle caratteristiche dei soggetti selezionati.

Materiali e Metodi

Tabella (3.1). *Elenco soggetti esaminati e ulteriori informazioni (la sigla oss. indica un soggetto in osservazione che non è sottoposto a terapia farmacologica). L'ultima colonna rappresenta il numero di lesioni valutabili con la tecnica DSC-MRI.*

Sogg.	Sesso	Età [Anni]	EDSS	Durata malattia [Anni]	Terapia	N° Les rif. DSC
01	F	36	3	1.4	Copaxone	-
02	M	30	1	3.3	oss.	-
03	F	34	1.5	7.5	Avonex	9
04	F	56	2	4.8	oss.	-
05	F	47	3.5	12.2	oss.	6
06	F	21	2.5	6.1	Tysabri	2
07	F	51	3	37	oss.	3
08	F	32	1	4	oss.	-
09	F	34	2	13.3	Tysabri	2
10	F	33	2	16	Avonex	-
11	F	13	1.5	0.6	Avonex	-
12	M	31	1.5	2.8	Betaferon	-
13	F	42	4	11	Rebif 22	-
14	M	26	1.5	2.8	Copaxone	9
15	F	43	6	26	Mitoxantrone	1
16	F	46	2	11	oss.	-
17	F	55	1.5	3	oss.	-
18	F	29	3	2.5	oss.	3
19	F	47	1.5	10.8	oss.	-
20	F	24	1.5	5.6	Rebif 44	-
21	F	23	2	11	Tysabri	-
22	F	51	3.5	15	Copaxone	-
23	M	40	2.5	9.5	Tysabri	-

Continua nella pagina successiva ...

3.1 Data-Set a disposizione

Tabella 3.1 – Continua ...

Sogg.	Sesso	Età [Anni]	EDSS	Durata malattia [Anni]	Terapia	N° Les rif. DSC
24	M	36	1	12.5	Copaxone	-
25	F	41	2.5	6.8	Tysabri	-
26	F	27	1	7.4	oss.	7
27	F	21	2	2.5	oss.	2
28	F	46	1.5	0.7	oss.	-
29	F	52	2	31	Avonex	-
30	F	23	2	4.3	Avonex	3
31	M	38	3	9	Tysabri	-
32	F	37	1	6	Rebif 44	-
33	F	36	3.5	4	Rebif 22	-
34	F	33	1	9	Avonex	-
35	F	33	1	1.5	Rebif 44	-
36	M	30	6	15	oss.	13
37	F	29	1.5	12	Tysabri	-
38	M	34	2	2	oss.	-
39	M	41	4	7	oss.	1
40	F	31	4	11	Tysabri	-
41	F	61	6	21	oss.	1
42	F	40	2.5	3	oss.	-
43	F	51	3.5	18	Betaferon	-
44	M	27	1.5	6	Tysabri	-
45	F	60	4	12	Tysabri	1
46	F	32	1	3	oss.	-
47	M	38	3	14	oss.	12
48	F	48	6	18	Ciclofosfamide	-
49	F	42	2.5	12	Rebif 44	-
50	F	30	1	5	oss.	1

Continua nella pagina successiva ...

Materiali e Metodi

Tabella 3.1 – Continua ...

Sogg.	Sesso	Età [Anni]	EDSS	Durata malattia [Anni]	Terapia	N° Les rif. DSC
51	F	67	2	9	oss.	-
52	M	47	3.5	24	Avonex	-

Tabella (3.2). *Legenda delle terapie e relativa posologia a cui sono sottoposti alcuni pazienti del dataset.*

Nome	Principio attivo	Dosaggio	Via	Posologia
Copaxone	Glatiramer acetate	20 mg	s.c.	1 volta/die
Avonex	Interferone β_{1a}	30 μg	i.m.	1 a sett.
Rebif	Interferone β_{1a}	22 μg 44 μg	s.c.	3 a sett.
Betaferon	Interferone β_{1b}	250 μg	s.c.	giorni alterni
Tysabri	Natalizumab	300 mg	e.v.	1 al mese
Ciclofosfamide	Endoxan	800 mg/m ² s.c.	e.v.	1 al mese

s.c. sotto cute; i.m. intra-muscolo; e.v. endo-vena; s.c. superficie corporea

Tabella (3.3). *Riassunto delle caratteristiche del data-set selezionato per lo studio della perfusione nelle placche corticali di SM.*

N° Soggetti	17 (3M,14F)
Età	36,22 ± 12,59 anni
EDSS	3,06 ± 1,68
Durata malattia	11,5 ± 9,31 anni
Lesioni visibili in DSC per soggetto	4,47 ± 4,06

3.2 Protocollo SM

In questa sezione verrà descritto il protocollo standard SM che è stato applicato a tutti i 52 soggetti del data-set iniziale. Non tutte le analisi che sono state effettuate sono necessarie per lo studio della perfusione, ma verranno ugualmente descritte per completezza e per dare una stima del processo di acquisizione totale, in termini di tempo. La seduta di analisi è infatti suddivisa in più acquisizioni atte a sondare particolari aspetti morfologici e funzionali dell'encefalo. La sequenza di acquisizione DSC-MRI per lo studio della perfusione è stata inserita all'interno di un protocollo sperimentale pre-esistente, in quanto si vuole cominciare ad andagare anche la perfusione nelle regioni della corteccia colpite dalla patologia. Gli aspetti della sequenza utilizzata e della collocazione all'interno del protocollo verranno sviluppate nei capitoli successivi.



Figura (3.1). *Strumentazione di risonanza magnetica Philips Achieva 1.5T A-series, disponibile presso Euganea Medica in fase di calibrazione. È possibile vedere il contenitore di acqua e sali usato come phantom in quest'operazione.*

Materiali e Metodi

Lo scanner messo a disposizione è un *Philips Achieva 1.5T A-series* (Fig. 3.1), la bobina ricevente, è una *SENSE Neurovascular coil a 16 canali* (Bobina utilizzata per esami di risonanza magnetica cerebrale in Fig. 3.2). Per quanto riguarda l'iniezione dell'agente di contrasto, per tutti i protocolli testati, è stata utilizzata una pompa azionata a distanza: *MEDRAD Spectris Solaris EP MR Injection System* (Fig. 3.3).



Figura (3.2). Bobina RF Philips SENSE Neurovascular coil, utilizzata per le acquisizioni presso Euganea Medica.



Figura (3.3). Pompa d'infusione MEDRAD Spectris Solaris EP MR Injection System utilizzata per iniettare l'agente di contrasto nei pazienti durante l'esame.

L'attuale protocollo di acquisizione SM, con agente di contrasto, prevede le seguenti acquisizioni durante la stessa seduta di analisi e nel seguente ordine:

1. **Immagini strutturali pesate T_1** con protocollo T_1 W-3D.
2. Immagini strutturali pesate T_2 con protocollo Turbo Spin Echo (TSE).
3. Immagini FLAIR per lo studio delle lesioni in materia bianca.
4. Immagini Dual Turbo Spin Echo (DTSE) per la refertazione.
5. Immagini per lo studio della diffusione con protocollo Diffusion Tensor Imaging (DTI).
6. **Immagini di GM con protocollo Double inversion Recovery (DIR)** (App. A).
7. **Immagini GE per lo studio dell'emodinamica cerebrale con la tecnica DSC-MRI.**
8. Immagini SE pesate T_1 per lo studio dell'accumulo di gadolinio nei tessuti. Vengono acquisite due tipi di immagini, una acquisizione di tipo trasversale e una sagittale.

Tra quelle esposte, solo le sequenze in grassetto verranno utilizzate in questo studio. Le loro caratteristiche e il loro ruolo verranno ora esposte più approfonditamente. La sequenza T_1 W-3D, i cui parametri di acquisizione sono riportati nella terza colonna in Tab. 3.4, fornisce immagini strutturali, cioè relative alla morfologia dell'encefalo. Con queste immagini si possono ottenere informazioni ad alta risoluzione sulla conformazione anatomica del soggetto. Questa sequenza di acquisizione viene ripetuta tre volte e successivamente mediata per ridurre possibili errori di misura.

La seconda tipologia di immagini acquisite consiste in immagini di sola GM, ottenute con un protocollo di acquisizione denominato Double inversion Recovery (DIR) (App. A), utilizzato per selezionare le placche lesionate dalla SM. Il protocollo sperimentale per immagini DIR, utilizzato per questo studio è riportato nella seconda colonna in Tab. 3.4.

Materiali e Metodi

Tabella (3.4). Parametri delle sequenze del protocollo SM. Sono riportate tutte le sequenze acquisite. Verranno utilizzate solo quelle acquisite con il protocollo DIR e T1W-3D

Nome sequenza	DTI	DIR	T1W-3D	T2W	DUAL-TSE	FLAIR	SE-T1W	
Seq. Base	SE	IR	FFE	SE	SE	IR	SE	SE
Fast Mode	EPI	TSE	-	TSE	TSE	TSE	-	-
FOV [mm]	240	250	250	240	250	250	250	250
RFOV [%]	100	80	80	100	85	80	80	80
Scan Perc. [%]	100	70	80	80	80	80	80	80
SENSE	2	no	no	1,5	no	no	no	no
Matrice acquisita	96 × 96	256 × 256	256 × 256	256 × 256	256 × 256	240 × 240	224 × 224	192 × 192
Matrice ricostruita	256 × 256	256 × 256	256 × 256	256 × 256	256 × 256	288 × 288	256 × 256	256 × 256
N° Slice	50	50	120	20	20	50	20	20
Spessore Slice [mm]	3	3	1.2	5	5	3	5.5	4.5
Gap[mm]	0	0	0	1	1	0	1	0.45
Echi	1	1	1	1	2	1	1	1
TE [ms]	74	25	4.6	100	20 - 120	120	10	12.1
Flip Angle	90°	-	30°	90°	90°	100°	90°	69°
TR[s]	8	15	0.025	4	2.2	10 s	0.6	0.4
TI [s]	-	3.4	-	-	-	-	-	-
Ritardo TI [ms]	-	285	-	-	-	-	-	-
IR/TI [s]	-	-	-	-	-	2.5	-	-

Infine vengono acquisite le immagini per lo studio della perfusione, tramite un protocollo di acquisizione DSC-MRI studiato ad-hoc e che verrà illustrato più approfonditamente nella sezione successiva.

Il tempo di acquisizione totale va in media dai 45 ai 50 minuti. Per aiutare il paziente a ridurre il più possibile i movimenti del capo, la testa viene bloccata con delle fasce elastiche all'interno della bobina di ricezione e trasmissione degli impulsi a radio-frequenza.

3.3 DSC-MRI: acquisizione e quantificazione

Posizionamento all'interno del protocollo di acquisizione

Come accennato in precedenza, il protocollo per lo studio della perfusione tramite immagini DSC-MRI è stato inserito all'interno di un esame più ampio, nel quale era già prevista una acquisizione con agente di contrasto. Infatti venivano acquisite immagini con una sequenza GE circa cinque minuti dopo

3.3 DSC-MRI: acquisizione e quantificazione

l'iniezione del tracciante per poter individuare le zone in cui la BBB è danneggiata. Il Gadolinio infatti, dove la BBB è parzialmente o totalmente compromessa diffonde nei tessuti circostanti creando un accumulo di tracciante. In questo modo è possibile classificare zone di WM e GM dette placche attive, caratterizzate proprio da BBB compromessa. In queste zone la tecnica DSC-MRI non è efficace, proprio per l'ipotesi di BBB intatta, fatta dal modello utilizzato per interpretare il segnale. Queste immagini sono state analizzate tramite ispezione visiva e abbiamo constatato che le placche attive sono presenti molto raramente e in zone circoscritte alla sola WM (presenti solo nel sogg. 18). La procedura esposta prevede un *tempo di attesa* tra l'iniezione dell'agente di contrasto e l'acquisizione: è proprio durante questo periodo di tempo che si è introdotta l'acquisizione DSC-MRI. In particolare si è programmata la pompa di infusione, per un'iniezione controllata automaticamente dopo 30 secondi di acquisizione DSC-MRI senza agente di contrasto. Questo ha permesso di introdurre la sequenza DSC-MRI nel protocollo di acquisizione senza aumentare il tempo totale di acquisizione.

3.3.1 Sequenze di acquisizione

Prima di esaminare nel dettaglio le sequenze di acquisizione testate si farà una descrizione dei parametri caratterizzanti il protocollo di acquisizione delle immagini DSC-MRI. La caratteristica principale delle immagini acquisite tramite queste sequenze risiede in una saturazione T_2^* .

Vincoli di acquisizione

L'analisi DSC-MRI ha come obiettivo il segnale NMR, caratterizzato dalla comparsa dell'agente di contrasto e dalla relativa attenuazione subita, così da poterne ricavare la concentrazione e successivamente i parametri emodinamici: CBV, CBF ed MTT. I vincoli sperimentali che devono essere rispettati in fase di acquisizione sono:

- Breve tempo di ripetizione (TR).
- Elevata qualità del segnale.
- Elevata Definizione spaziale.

Materiali e Metodi

Queste richieste sono tra loro contrastanti perché al migliorare delle caratteristiche geometriche si ha un inevitabile innalzamento del tempo di ripetizione. L'obiettivo di questo lavoro è stato trovare un buon compromesso che ci permettesse di avere una buona robustezza nella quantificazione dei parametri che descrivono l'emodinamica cerebrale. La strumentazione permette di variare numerosi parametri, all'interno di questo tipo di sequenze, che sono legati in diversi modi ai vincoli di acquisizione richiesti.

Tempo di Ripetizione

Il TR definisce il tempo totale di acquisizione di un volume cerebrale; di norma non deve di norma non deve superare i 2 secondi. Il motivo di questa restrizione sta nel fatto che se supera questo valore, la curva di comparsa del tracciante non risulta descritta adeguatamente per poter effettuare le analisi successive. Per aver una buona descrizione, soprattutto del “*picco principale*”, si ha bisogno del maggior numero di campioni possibile. Un *TR* troppo elevato, quindi, provoca la perdita di acquisizione della cinetica dell'agente di contrasto. Per questo motivo si è impostato lo scanner perché acquisisse le immagini di DSC-MRI con il minor *TR* possibile, in corrispondenza degli altri parametri fissati manualmente.

Parametri Geometrici

Il parametri più importante da questo punto di vista sono il numero di righe e di colonne in cui è divisa l'immagine e che definiscono la *risoluzione spaziale* delle immagini DSC-MRI. Nella maggior parte dei casi la DSC-MRI offre delle immagini a risoluzione più bassa (valori tipici sono 128×128 pixels) rispetto ad altre indagini di tipo anatomico, che possono arrivare anche a 1024×1024 pixels per immagine. Ovviamente, il valore di questo parametro è cruciale, perché determina, a parità di Field of view (FOV), la dimensione effettiva del voxel su cui verranno effettuate le analisi e di cui verranno calcolati i parametri emodinamici. Il FOV definisce la dimensione fisica dell'immagine che si vuole ricostruire. Un valore utilizzato di norma è 200 – 250 mm. (Es. in un'immagine 128×128 pixel, con FOV 200 mm, la dimensione di ogni singolo voxel sarà $200/128 =$ circa $1,6 \times 1,6$ mm). Nella scelta del protocollo, quindi, si

3.3 DSC-MRI: acquisizione e quantificazione

è tenuto in grande considerazione il valore della risoluzione spaziale, perché voxel di grande dimensione aumentano l'*effetto di volume parziale* e riducono il dettaglio anatomico.

Oltre alla risoluzione bisogna definire il numero di *fette* o “slice” da acquisire, lo spessore di ciascuna fetta e lo spazio che intercorre tra una fetta e la successiva. In particolare, nel nostro caso, la necessità primaria è stata quella di acquisire la *corteccia cerebrale*, dove sono posizionate le lesioni corticali oggetto della nostra ricerca. Tuttavia, nel posizionamento del volume di acquisizione bisogna anche prevedere l'inclusione dello *splenio del corpo calloso*, che come vedremo in seguito, risulta necessario alle operazioni di coregistrazione. In ogni immagine acquisita con sequenze DSC-MRI, ogni singolo pixel rappresenterà quindi un volume di tessuto acquisito, di dimensioni definite dai parametri appena descritti.

Parametri di sensibilità all'agente di contrasto

Come già descritto nella sezione 2.2.1, il passaggio dell'agente di contrasto influenza il segnale NMR misurato e, in particolare i tempi di rilassamento (T_1 , T_2 e T_2^*). Tuttavia, l'effetto dell'agente di contrasto sul segnale NMR misurato può essere anche modulato attraverso il protocollo di acquisizione. In particolare, alcuni parametri relativi alla sequenza di acquisizione permettono di aumentare o diminuire l'influenza dell'agente di contrasto sul segnale misurato.

- Tempo di eco (TE);
- Flip angle.

Il TE va mantenuto tra 40 e 50 ms per ottenere, in fase di lettura, un FID di ampiezza accettabile. Il Flip angle è stato impostato a 90° in tutte le sequenze per ottenere una massima pesatura T_2^* .

Parametri di qualità del segnale

Lo scanner utilizzato ha la possibilità di impostare tre ulteriori parametri che influenzano la qualità del segnale acquisito e in particolare l'SNR.

Materiali e Metodi

- Rectangular FOV (FOV % o RFOV)
- Scan percentage
- Parametro SENSE©

Il parametro RFOV definisce un differente FOV nelle direzioni di codifica di fase e frequenza. È possibile ridurre di una percentuale stabilita lo spazio acquisito lungo la direzione della codifica di fase riuscendo comunque a ricostruire tutto il FOV. Questo significa che, acquisendo un numero minore di colonne, rispetto alle righe, si ottiene un'immagine rettangolare. Riducendo il FOV in codifica di fase, si ottengono tempi di acquisizione minori e una risoluzione spaziale invariata. Nel caso di acquisizione di oggetti ovali, come nel nostro caso, l'utilizzo del RFOV è giustificato dall'intrinseca conformazione dell'oggetto da acquisire, in quanto non è necessario acquisire all'esterno dell'encefalo.

Scan Percentage identifica il numero di linee del k-spazio acquisite nella direzione di codifica di fase. Il fatto che sia in percentuale fa capire come le linee del k-spazio, più lontane dal centro non vengano utilizzate e poste a zero. Segue un esempio di calcolo delle dimensioni dei voxel del k-spazio acquisiti con i seguenti parametri:

FOV: 380 mm

RFOV: 90%

Risoluzione 240×240 pixel

Scan Percentage: 70%

- Codifica di frequenza

$$FOV_{freq} = 380mm$$

$$Risoluzione_{freq} = 240$$

$$Dimensione\ Voxel_{freq} = \frac{FOV_{freq}}{Risoluzione_{freq}} = \frac{380}{240} = 1.58mm$$

- Codifica di fase

$$FOV_{fase} = FOV \cdot RFOV = 380 \cdot 0,9 = 342mm$$

3.3 DSC-MRI: acquisizione e quantificazione

$$Risoluzione_{fase} = Risoluzione \cdot RFOV \cdot ScanPercentage = 240 \cdot 0,9 \cdot 0,7 = 151$$

$$Dimensione\ Voxel_{fase} = \frac{FOV_{fase}}{Risoluzione_{fase}} = \frac{342}{240} = 2.26mm$$

Da notare che l'RFOV è relativo al FOV della matrice nella direzione di codifica di fase, e quindi non ha effetto sulla dimensione effettiva dei pixel. Semplicemente riduce il tempo di acquisizione perché vengono registrate meno linee del k-spazio.

Tutti questi parametri danno informazioni sulla qualità complessiva del segnale, in termini di livello di rumore nei dati nelle diverse sequenze testate.

Finora i parametri geometrici e di qualità del segnale riguardano la matrice acquisita realmente dalla macchina. Le analisi successive verranno effettuate su immagini con risoluzione maggiore, (*risoluzione dopo ricostruzione*), questo ad opera di algoritmi di interpolazione incorporati nel software Philips.

Per quanto riguarda il parametro SENSE, è un indice di un protocollo proprietario protetto da brevetto Philips che si basa sulle mappe di sensibilità [38]. Il suo effetto è una diminuzione dei tempi di acquisizione a discapito dell'SNR.

Sequenze di acquisizione testate

In questa sezione verranno presentate le sequenze di acquisizione che sono state testate per definire un protocollo di acquisizione per lo studio dell'emodinamica cerebrale. L'acquisizione delle sequenze è stata effettuata su 3 soggetti diversi. Non è stato possibile effettuare il test delle tre sequenze sullo stesso soggetto, perché tra una acquisizione con agente di contrasto e la successiva, devono passare almeno 24 ore. Non è comunque consigliabile effettuare due acquisizioni nella stessa settimana, a causa della tossicità del Gd-DTPA.

Per semplicità si farà riferimento alle tre sequenze con i termini DSC_1 , DSC_2 e DSC_3 . In Tab. 3.5 sono elencati i parametri che sono alla base della definizione della sequenza.

Tutte le sequenze sono ricavate a partire da una sequenza GE pesata T_2^* , alla quale sono stati modificati i parametri per poter ottenere diverse risoluzioni. Da notare come si sono variati i valori di *Scan Percentage* in abbina-

<i>Nome Sequenza</i>	DSC₁	DSC₂	DSC₃
TR [s]	1.550	1.375	1.719
<i>Parametri di sensibilità all'agente di contrasto</i>			
TE [ms]	50	40	50
Flip Angle	90°	90°	90°
<i>Parametri Geometrici</i>			
Matrice Acquisita	160 × 70	208 × 105	288 × 106
Matrice Ricostruita	256 × 256	256 × 256	336 × 336
Spessore Fetta [mm]	6	6	6
Spazio intra-fetta [mm]	1.5	1	1
N° Fette	12	12	12
Dimensione Voxel [mm ³]	0.9 × 0.9 × 6	0.9 × 0.9 × 6	0.7 × 0.7 × 6
FOV [mm]	230	230	230
<i>Parametri di qualità del segnale NMR</i>			
RFOV [%]	70	70	70
SENSE	0	1.5	2
Scan percentage [%]	63	72	52

Tabella (3.5). *Parametri delle sequenze DSC-MRI: i parametri dei protocolli testati sono suddivisi in base all'effetto che hanno sul segnale NMR, in base alla geometria della dimensione dei voxel e a come sono influenzati dall'agente di contrasto.*

3.3 DSC-MRI: acquisizione e quantificazione

mento al parametro SENSE per mantenere un TR ben al di sotto dei 2 secondi per tutte le sequenze. I fattori che influenzano la sensibilità all'agente di contrasto non sono stati fortemente modificati tra le varie sequenze perché sono poco influenti sul valore del TR.

Inoltre la tabella mostra come la matrice di acquisizione (dati grezzi) aumenti in modo concorde all'aumento della risoluzione. In particolare le sequenze DSC₁ e DSC₂ differiscono solamente per l'utilizzo del protocollo SENSE e per la matrice di acquisizione di dimensioni maggiori: in questo caso l'ausilio del SENSE riesce a diminuire il tempo di acquisizione, mantenendo un TR accettabile. Anche acquisendo meno dati il software di ricostruzione dello scanner riesce a fornire, anche per la sequenza DSC₁ la stessa matrice di uscita.

Confrontando invece le colonne riferite a DSC₂ e DSC₃ ci si accorge di come aumentando risoluzione ed intervento del SENSE e altresì diminuendo il parametro Scan Percentage si riesca ad acquisire immagini con dimensioni del voxel (in ogni fetta) di $0.7 \times 0.7 \text{ mm}^2$.

Durante la definizione dei protocolli di acquisizione è emersa la natura discreta del valore minimo di TR, esso è impostato dalla macchina e non può essere modificato. Inoltre, variazioni minime di qualche parametro possono portare a incrementi consistenti del TR. In particolare, le sequenze testate sono state ottimizzate sotto questo aspetto, la variazione di uno qualsiasi degli altri parametri porta all'incremento del TR oltre la soglia limite dei 2 secondi.

Metodi per il confronto delle acquisizioni testate

La valutazione delle sequenze è stata effettuata inizialmente tramite *ispezione visiva*, cioè con la semplice stampa a video della somma, nel tempo, per ogni voxel, del segnale NMR. In questo modo si ottiene un volume di acquisizione con un contrasto anatomico elevato, ideale per verificare, preliminarmente, anche il livello di rumore. Questa operazione è stata svolta per ogni sequenza acquisita, su tutte le fette. Una prima ispezione consente anche di confermare che sia assenti movimenti importanti del soggetto e che la porzione di encefalo acquisita sia corretta. Per poter analizzare meglio, tramite

Materiali e Metodi

ispezione visiva, il livello di rumore si è proceduto anche visualizzando in sequenza tutte le immagini acquisite.

Per poter quantificare in modo numerico le prestazioni di ciascuna sequenza si è operato un confronto in termini di Rapporto Segnale Disturbo (Signal Noise Ratio, SNR). Ogni sequenza di acquisizione testata è stata valutata dividendo una slice centrale in quattro quadranti ed estraendo manualmente, per ogni quadrante due voxel apparentemente di GM e altrettanti voxel di WM, per un totale di sedici voxel. Gli andamenti del segnale NMR sono stati confrontati in base al SNR, calcolato come il rapporto tra l'energia del segnale utile e quella relativa al rumore presente. Se si considera il rumore scorrelato dal segnale utile, allora:

$$SNR = \frac{E_{\text{Segnale utile}}}{E_{\text{Rumore}}} = \frac{\int_{-\infty}^{+\infty} |S(t)|^2 dt}{\int_{-\infty}^{+\infty} |N(t)|^2 dt} = \frac{\int_0^{+\infty} |S_{\text{utile}}(t)|^2 dt - \int_0^{+\infty} |N(t)|^2 dt}{\int_0^{+\infty} |N(t)|^2 dt} \quad (3.1)$$

Per poter calcolare sia l'energia del segnale utile che quella del rumore si è sottratta al segnale la componente continua S_0 , stimata come la media dei primi 20 campioni. Questo perché S_0 non rappresenta né rumore né il segnale utile. Successivamente si è ottenuta una stima del rumore di misura e si è potuto calcolare l'energia, come il quadrato della somma dei campioni, essendo il campionamento a passo costante. Per calcolare l'energia del segnale NMR utile si sono considerati invece i secondi 20 campioni, in cui è presente il rumore, ma è presente soprattutto il picco principale, che influenza maggiormente il calcolo delle concentrazioni e quindi la quantificazione dei parametri emodinamici. La sovrapposizione del rumore nei campioni dal ventesimo al quarantesimo produce una leggera sovrastima dell'energia del segnale utile ciò nonostante l'effetto del segnale utile è predominante e questo non inficia pesantemente il calcolo dell'SNR.

$$SNR = \frac{\sum_{i=20}^{40} (S_{NMR} - S_0)^2 - \sum_{i=1}^{20} (S_{NMR} - S_0)^2}{\sum_{i=1}^{20} (S_{NMR} - S_0)^2} \quad (3.2)$$

Lo stesso approccio è stato ripetuto per i dati di concentrazione ottenuti a partire dai segnali misurati per calcolarne l'SNR. Per il calcolo della concentrazione a partire dai voxel selezionate, si è utilizzato un software creato

3.3 DSC-MRI: acquisizione e quantificazione

ad hoc. L'analisi è stata suddivisa in due categorie, per facilitare la valutazione delle performance: SNR calcolati a partire da segnali in voxel di GM e di WM. Si è poi valutata la media e la deviazione standard campionarie degli SNR così ottenuti.

È stato stabilito un ulteriore parametro di confronto tra le sequenze: il rapporto di contrasto; definito come il rapporto tra l'ampiezza media dell'attenuazione subita del segnale NMR in GM e WM. Più elevato risulta e migliore è la capacità della sequenza di acquisizione di produrre immagini in cui si riesca a distinguere più facilmente i tessuti da analizzare: WM e GM.

$$C = \frac{S_0[GM] - \min(S_{NMR}[GM])}{S_0[WM] - \min(S_{NMR}[WM])} \quad (3.3)$$

3.3.2 Riduzione del rumore nella AIF

Come già ampiamente illustrato nel Cap. 2.3.4 la selezione dell'arteriale influenza in modo pesante la quantificazione dei parametri emodinamici. Si è cercato quindi di ridurre il più possibile il rumore presente nella AIF al fine di migliorare le stime dei parametri di perfusione.

A questo punto si è tentato di ridurre il rumore presente nell'AIF selezionata. Per fare ciò si è modificato l'algoritmo di fit già esistente, migliorandone le prestazioni. L'andamento finale dell'AIF è stato calcolato fittando l'andamento del segnale misurato a partire dal centroide dell'ultimo cluster ottenuto. Il fit è stato eseguito con una funzione Gamma-variata modificata per poter mimare anche il comportamento dovuto al ricircolo (Eq. 3.5 e 3.6).

La funzione di ingresso arteriale C_{AIF} è rappresentata da due componenti: il picco principale di comparsa del tracciante ($C_P(t)$) e il ricircolo ($C_R(t)$). Il ricircolo è ottenuto dal picco principale convoluto con un esponenziale decrescente per mimare la dispersione caratteristica del ricircolo e ritardato di un tempo finito t_D . In formule:

$$C_{AIF}(t) = C_P(t) + C_R(t) \quad (3.4)$$

$$C_P(t) = \begin{cases} 0 & t < t_0 \\ \Gamma(t; A, \alpha, \beta, t_0) = A \cdot (t - t_0)^\alpha \cdot e^{-\frac{t-t_0}{\beta}} & \text{altrimenti} \end{cases} \quad (3.5)$$

$$C_R(t; k, t_D, \tau) = k \cdot C_P(t - t_D) \otimes e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (3.6)$$

L'operazione di fit è stata effettuata utilizzando l'Optimization ToolboxTM compreso in MatLab© e in particolare la funzione *lsqnonlin(f(x))* che permette di individuare il minimo di una funzione costo non lineare:

$$\min_x \|f(x)\|_2^2 = \min_x (f_1(x)^2 + f_2(x)^2 + \dots + f_n(x)^n) \quad (3.7)$$

I pesi utilizzati nel fit sono stati calcolati in modo da dare più evidenza ai dati relativi al picco principale per poter seguire meglio la dinamica del tracciante.

Non avendo a disposizione nessuna descrizione statistica del rumore presente nei dati, è stata utilizzata una semplice proporzione inversa per poter dare più peso a concentrazioni maggiori e considerare meno affidabili livelli bassi di concentrazione, dove il rumore diventa più rilevante:

$$w(t) = \frac{1}{0.01 + AIF(t)} \quad (3.8)$$

Inizialmente si è provato un fit unico per la stima di tutti i parametri ($\mathbf{p} = [\mathbf{A}, \alpha, \beta, \mathbf{t}_0, \mathbf{k}, \mathbf{t}_D, \tau]$). Con questo approccio si sono riscontrati problemi di sensitività e di minimi locali, dovuti alla complessità del modello che risulta descritto da un numero di parametri troppo elevato.

Per ottimizzare la stima di si è scelto di dividerla in due parti, per la facilità con cui si può dividere C_{AIF} in due componenti. In questo modo il modello scelto per ogni componente risulta più semplice e la stima dei parametri non causa problemi. Vediamo come si è proceduto al fit:

1. fit della sola componente $C_p(t)$ (coinvolge solo i parametri $[\mathbf{A}, \alpha, \beta, \mathbf{t}_0]$) utilizzando i campioni del segnali compresi da zero fino a quando il segnale non scende al di sotto del 10% del picco. In questa fase si è aumentato il “peso” del campione massimo, per il campione subito precedente e con il successivo in modo rimanere il più aderenti possibile all'altezza del picco nei dati.

3.3 DSC-MRI: acquisizione e quantificazione

2. i parametri stimati precedentemente sono stati considerati come costanti, per eseguire il fit di $C_{AIF}(t)$ e completare la stima dei parametri relativi alla componente $C_r(t)$, $[k, t_D, \tau]$.

3.3.3 Deconvoluzione: scelta della metodologia

Per risolvere l'operazione di deconvoluzione tra $C_{VOI}(t)$ e $C_{AIF}(t)$ e per poter così quantificare il parametro CBF si è scelto di valutare qualte, tra SVD e cSVD, fosse la tecnica più adatta al caso in esame.

Come già anticipato nel Cap. 2.3.5 la principale differenza tra i due metodo è *l'insensibilità al ritardo* della cSVD e la capacità di quest'ultima di ridurre l'errore della SVD, in presenza di dati affetti da ritardo, e fornire risultati confrontabili nel caso sia assente. Per poter valutare il ritardo nel data-set in nostro possesso si è scelto di utilizzare la differenza di *tempo di picco* (Time To Peak, TTP), tra i voxel e l'AIF

$$Rit_{VOI} = TTP_{VOI} - TTP_{AIF} \quad (3.9)$$

si può considerare Rit_{VOI} una stima del ritardo dato che il TTP può essere considerato una stima del tempo di comparsa del tracciante nel tessuto. Per avere il vero tempo di comparsa del tracciante del tessuto si sarebbe dovuto misurare l'istante in cui la concentrazione comincia ad aumentare, a causa dell'arrivo dell'agente di contrasto. Tuttavia a causa del rumore presente nei dati ottenere una buona stima del tempo di arrivo è molto difficile. Per questo motivo si è scelto di utilizzare il TTP, ottenuto come il tempo in cui si misura la massima concentrazione di tracciante nel voxel. Il parametro TTP oltre ad essere di più semplice quantificazione è meno soggetto al rumore.

Nella classificazione del ritardo non sono stati considerate significative differenze comprese tra $-TR$ e $+TR$ perché queste possono essere associate al rumore presente nei dati (soprattutto nei voxel tessutali). Un ritardo di $2 \cdot TR$ non produce differenze confrontabili con i due metodi di deconvoluzione utilizzati. Se invece, la differenza di TTP rientra in uno dei seguenti casi:

$$\begin{cases} Rit_{VOI} > 3 \cdot TR & \text{Ritardo inaccettabile con SVD} \\ Rit_{VOI} < -2 \cdot TR & \text{Causalità} \end{cases} \quad (3.10)$$

Materiali e Metodi

il voxel viene classificato come non accettabile. I limiti scelti ed espressi dall'Eq. (3.10) sono rappresentativi di due condizioni che posso verificarsi e devono essere evitate. Per poter utilizzare l'algoritmo SVD: il ritardo troppo elevato, mentre l'ipotesi di causalità è una condizione necessaria per l'utilizzo di entrambi i metodi, perché troppi voxel in anticipo suggeriscono che l'AIF scelta non è adatta allo scopo.

3.4 DSC-MRI: analisi delle mappe di perfusione

In questa sezione verranno descritte le tecniche utilizzate per l'analisi degli esami effettuati. Queste includono una analisi del movimento involontario dei soggetti durante le acquisizioni DSC-MRI, una procedura di mascheramento dei dati, la coregistrazione delle sequenze, l'estrazione delle regioni di interesse (ROI) caratterizzate da lesioni di SM in GM. Infine si descriverà come si è effettuata la quantificazione dei parametri emodinamici e come sono stati confrontati.

3.4.1 Ambiente di analisi

Tutte le analisi illustrate in questo lavoro sono state svolte utilizzando la suite MatLab (abbreviazione di Matrix Laboratory), versione 7.9 (rel. 2009b) prodotto da The MathWorks, Inc. ©1984-2009.

Un ulteriore strumento utilizzato è il toolbox *Statistical Parametric Mapping* (SPM) [29], versione 8: è stato prodotto per l'analisi di mappe statistiche dalla *Wellcome Trust Centre for Neuroimaging*. SPM8 è distribuito secondo licenza *General Public Licence* (GNU) e può essere ottenuto ed utilizzato gratuitamente, previa registrazione, direttamente dal sito web

<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>

Il corredo dei software è completato da un altro toolbox scritto in linguaggio MatLab: *Nifti toolbox*, distribuito anch'esso con licenza GNU ed ottenibile dal sito web:

<http://www.rotman-baycrest.on.ca/~jimmy/NIFTI/>

3.4.2 Pipeline di analisi

Per comprendere meglio l'ordine con cui è stato analizzato ogni soggetto è sufficiente seguire il flusso di lavoro illustrato in Fig. 3.4. Nelle sezioni seguenti è riportata, per ogni fase del processo, una breve descrizione, con elencati i parametri utilizzati. Il grafico mostra come si siano seguiti parallelamente tre filoni di elaborazione principali:

1. Analisi anatomica: le immagini pesate T_1 sono utilizzate per ottenere informazioni anatomiche supplementari e segmentare i diversi tessuti.
2. Analisi di perfusione: Immagini DSC-MRI per eseguire un'analisi dell'emodinamica e utilizzate come template dimensionale.
3. Individuazione delle lesioni: Immagini DIR utilizzate per l'estrazione delle lesioni di SM situate in corteccia cerebrale.

L'analisi anatomica e le operazioni di coregistrazione sono state effettuate tramite SPM8, mentre le analisi di perfusione e l'individuazione delle placche sono state eseguite utilizzando specifici programmi MatLab sviluppati all'interno del gruppo di ricerca.

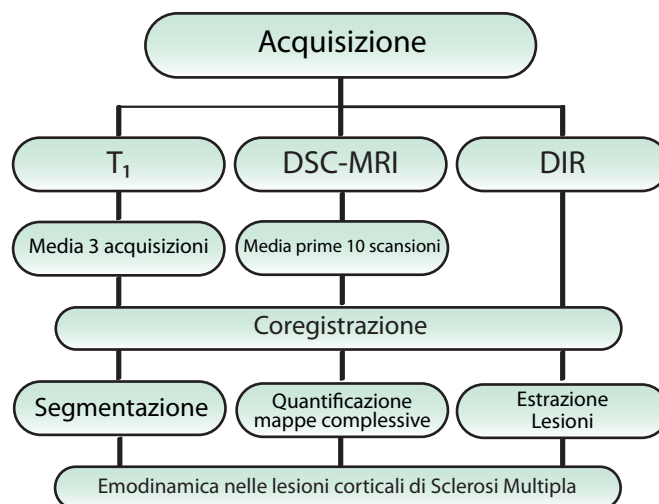


Figura (3.4). Pipeline di analisi

3.4.3 Analisi preliminari

Movimento dei soggetti

In prima istanza si è pensato di correggere i dati del segnale NMR per il movimento. SPM8 racchiude al suo interno una serie di routine che permettono la correzione di n acquisizioni ad un profilo iniziale. Il software permette di correggere eventuali movimenti del paziente, ottimizzando una trasformazione a 9 parametri, per poter controllare traslazioni (su X , Y , Z) e rotazioni rigide (attorno agli assi appena citati). I risultati hanno riportato come, proprio in corrispondenza all'arrivo del tracciante, l'algoritmo di correzione tendesse ad apportare grandi modifiche alle immagini acquisite. In linea di principio e nella grande maggioranza dei casi si è verificato come la correzione maggiore avvenisse solamente in questi istanti di acquisizione, mentre negli altri istanti, le correzioni tendono a rimanere entro termini accettabili. Questo può suggerire che le ampie correzioni applicate dal software al momento di arrivo del tracciante non siano dovute a reali movimenti del paziente ma piuttosto all'effetto che il tracciante ha sul segnale misurato. Alla luce di quanto esposto si è ritenuto opportuno non correggere tutti i soggetti con questo algoritmo ma solamente a soggetti con evidenti movimenti. Successivamente non si sono osservati soggetti con movimenti evidenti.

Mascheramento dei dati

Tutte le immagini utilizzate sono state mascherate, per eliminare zone estranee allo studio. Il mascheramento è stato ottenuto in 3 fasi:

1. Determinazione, tramite ispezione visiva dell'istogramma delle intensità dei voxel di tutto il volume acquisito, di una soglia tale che permetta di dividere le distribuzioni dei voxel in due classi, una rappresentante l'encefalo e la seconda rappresentante il rumore presente nel resto dell'immagine acquisita.
2. Constatato che la maschera ottenuta al punto uno produce bordi ben definiti e credibili, ma esclude voxel all'interno dell'encefalo si è utilizzato l'algoritmo presentato da Soille [71], che permette di ottenere maschere

3.4 DSC-MRI: analisi delle mappe di perfusione

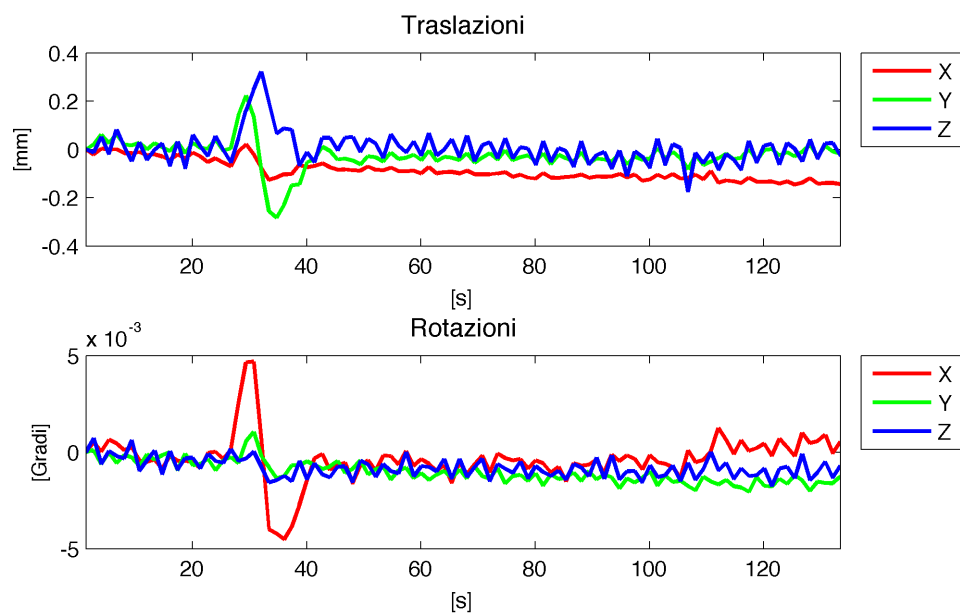


Figura (3.5). Stima dell'andamento del movimento stimato per il Sogg. 4. Notare i tre assi di traslazione e di rotazione su cui viene stimata la correzione.

Materiali e Metodi

senza discontinuità spaziali. L'algoritmo è implementato dalla funzione di MatLab *imfill()* contenuta nell'*Image Processing Toolbox*TM.

3. Spesso si sono riscontrati più di un gruppo connesso di voxel, si sono considerati e inclusi nella maschera finale solamente i gruppi connessi di dimensione maggiore di 200 voxel. Questo per eliminare voxel esterni all'encefalo, in particolare dello scalpo, che sarebbero stati inclusi nella maschera.

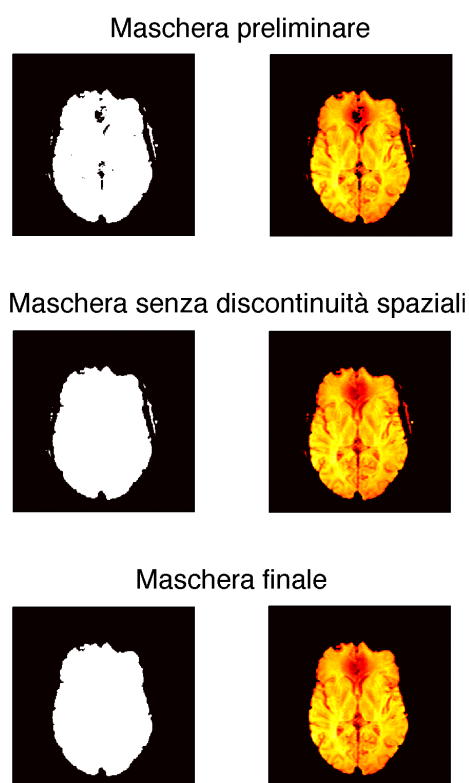


Figura (3.6). Esempio del processo di mascheramento delle immagini relativo al Sogg. 13 slice 7. La colonna di sinistra mostra la maschera binaria ottenuta nei passaggi dell'algoritmo. A destra è riportata l'immagine somma con l'applicazione della maschera di sinistra.

3.4.4 Coregistrazione

Questa fase del processo di analisi riguarda la *Coregistrazione* delle immagini acquisite. Con coregistrazione si intende la ricerca di alcuni parametri, propri di una trasformazione affine, che permetta di allineare ad uno spazio comune tutte le immagini utilizzate.

Come immagine riferimento è stata utilizzata la scansione effettuata tramite DSC. Il motivo di questa scelta è il limitato numero di fette che si ha a disposizione in immagini di questa sequenza. Si sarebbe potuto riportare le analisi su un template con un numero maggiore di slice, ma si avrebbe dovuto interpolare i dati DSC e di fatto si sarebbe falsato lo studio dei parametri emodinamici. Le altre immagini, a parità di risoluzione spaziale (in termini della singola fetta) dispongono di un più elevato numero di fette ed è quindi più plausibile utilizzare un'interpolazione su queste piuttosto che su dati DSC. Il numero di fette è legato anche allo spessore delle fette stesse. Le immagini di DSC-MRI, con una risoluzione assiale di 6 mm per fetta, sono le acquisizioni con lo spessore maggiore tra quelle a disposizione, dato che immagini DIR hanno risoluzione assiale pari a 3 mm e le immagini strutturali circa 2,4 mm.

SPM8 comprende una serie di funzioni adatte allo scopo, la coregistrazione implementata utilizza l'algoritmo di Collignon e colleghi [24]. Le varie acquisizioni hanno ovviamente differenti riferimenti, differenti inclinazioni e immagini di differenti zone dell'encefalo. Nel protocollo DSC, dato che la priorità dello studio è la corteccia, si è preferito orientare l'acquisizione in questa zona: includendo, dove possibile, la parte superiore dell'encefalo, comprendendo quindi la più ampia porzione di corteccia possibile.

Il protocollo di acquisizione della DSC-MRI è stato utilizzato quindi come *template* sul quale si cerca di far combaciare le informazioni strutturali e cliniche. In Fig. 3.7 si può notare il tipico risultato di una coregistrazione effettuata con SPM8, una trasformazione di tipo affine interamente caratterizzata dalle 3 equazioni e dai 9 parametri che vengono stimati tramite la minimizzazione di una funzione costo, detta *Normalized Mutual Information* [75]. L'immagine alla quale si è deciso di fare riferimento come base per il processo di coregistrazione è la media delle prime 10 acquisizioni effettuate con

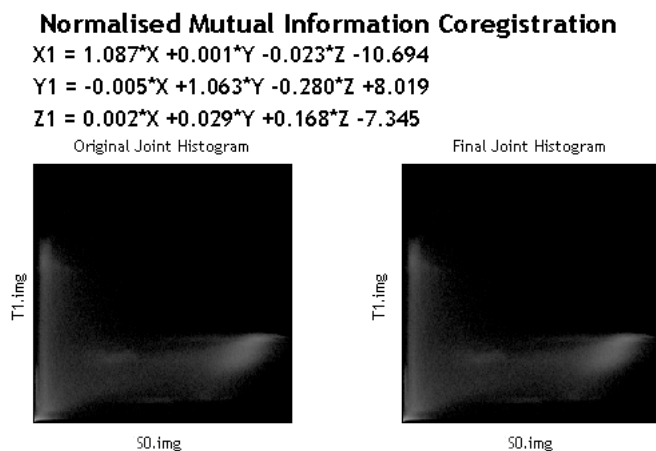


Figura (3.7). Tipico risultato di coregistrazione tra DSC-MRI e T_1 effettuata con SPM8

il protocollo DSC-MRI, in questo modo si è ottenuta un'immagine che rappresenta S_0 in ogni pixel (Eq. 2.20), e quindi il comportamento del tessuto prima della comparsa dell'agente di contrasto. S_0 rappresenta, per quanto riguarda immagini DSC-MRI, un buon riferimento anatomico, dato che si tratta sostanzialmente di immagini pesate T_2^* . Si è operata la media per migliorare il livello di rumore nel template.

Nel caso di coregistrazione di immagini a più elevata risoluzione assiale si è reso necessario un'operazione di "Reslice" delle scansioni per adattarle alla risoluzione del template DSC-MRI. Gli algoritmi utilizzati, implementati in SPM8, fanno uso di B-spline [77] [78] [79] e interpolazioni lineari. Le impostazioni utilizzate per la coregistrazione effettuata con SPM8 sono riportate in Tab. 3.6.

3.4.5 Segmentazione

L'operazione di segmentazione si è resa necessaria per poter suddividere le zone dell'encefalo, e classificarle come WM, GM o Fluido Cerebro Spinale (CSF: Cerebral Spinal Fluid). Innanzitutto le tre diverse acquisizioni strutturali pesate T_1 sono state mediate per migliorare il rumore presente nei dati. L'immagine ottenuta è stata coregistrata al template DSC, per migliorare i

3.4 DSC-MRI: analisi delle mappe di perfusione

Tabella (3.6). Parametri per l'interpolazione delle scansioni con diversi protocolli. Le acquisizioni DSC-MRI vengono utilizzate come template.

Imm. Template		Imm. da Coregistrare		Algoritmo Interpolazione
Protocollo	Slice	Protocollo	Slice	
DSC-MRI	12	DIR	50	<i>B-spline</i> grado 5
		T1	120	Tri-Lineare

risultati della segmentazione e poterli utilizzare nell'analisi della perfusione nei tessuti cerebrali. Successivamente, sull'immagine media coregistrata, è stata effettuata un'operazione di segmentazione su base statistica, tramite le funzioni incluse in SPM8, che utilizzano l'algoritmo di Ashburner e colleghi [5]. L'algoritmo fornisce come risultato delle mappe probabilistiche che rappresentano, per ogni voxel, la probabilità di appartenere ad uno specifico tessuto cerebrale. I parametri utilizzati per la segmentazione sono quelli di "default" in SPM8 e sono riportati in Tab. 3.7. In Fig. 3.8 è raffigurata una mappa probabilistica ottenuta con SPM8 per il Sogg. 3, relativa alla slice 9 e a fianco una maschera binaria ottenuta con una soglia pari al 90%.

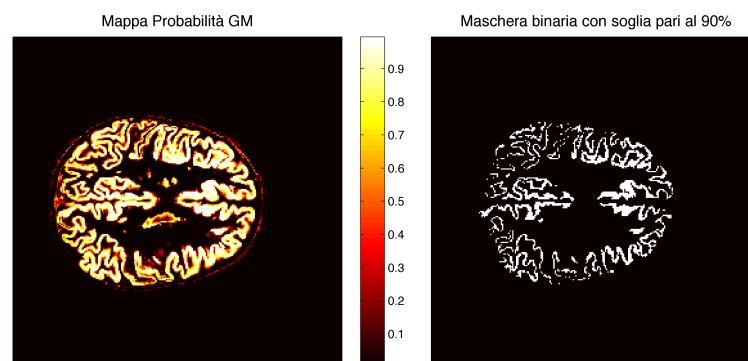


Figura (3.8). A sinistra un esempio di segmentazione, ottenuta sul soggetto 3 - slice 9 e a destra la maschera binaria corrispondente, ottenuta con soglia pari al 90%.

Materiali e Metodi

Tabella (3.7). Parametri impostati in SPM8 per l'operazione di Segmentazione.

Parametro	Valore assegnato in SPM8
Materia Grigia	Native Space
Materia Bianca	Native Space
Fluido Cerebro Spinale	Native Space
Correzione disomogenità B_0	Attivo
Estrazione encefalo	Non attivo
Prior probabilistici tessuti	Default
Mix di Gaussiane	[2 2 2 4]
Atlante	ICBM - Europe
Warping	1
Cut-Off Freq. Warp.	25
Regolarizzazione Bias	0.0001
Bias FWHM	60 mm Cut-off
Distanza di campionamento	3
Mascheramento	Attivo

3.4.6 Individuazione delle lesioni corticali di SM

Ad ogni soggetto del data-set è stato applicato un algoritmo, sviluppato da un altro membro del gruppo di lavoro, per l'estrazione delle lesioni di MS presenti nella corteccia cerebrale [84]. L'algoritmo lavora su immagini acquisite con la tecnica Double Inversion Recovery (DIR) (App. A). Le immagini utilizzate sono state coregistrate sul template DSC. L'analisi si può suddividere in tre fasi:

1. Estrazione dell'encefalo (*Skull-Stripping*)
2. Prima identificazione locale delle lesioni, operata suddividendo in 8 aree l'immagine, così da ovviare al problema causato dalle disomogeneità del campo magnetico
3. Classificazione finale e distinzione tra *Lesioni* e altre regioni caratterizzate da *iperintensità*

Tutte le lesioni evidenziate dall'algoritmo sono state poi validate manualmente da un Neurologo con ampia esperienza nel settore.



Figura (3.9). Esempio di estrazione di Lesioni corticali. In verde si può osservare la zona dell'immagine classificata come lesione di SM.

3.4.7 Metodi di analisi della perfusione all'interno delle lesioni corticali di SM

Un'analisi in termini assoluti, dei parametri CBF e CBV, è fortemente dipendente dai valori che si decide di assegnare alle costanti k_{VOI} , ρ , H_{LV} e H_{SV} , indicati nell'Eq. (2.22). Ovviamente le costanti variano da soggetto a soggetto, in relazione al mezzo di contrasto, al tessuto e anche in base alle disomogeneità del campo magnetico B_0 .

Per poter effettuare una analisi della perfusione all'interno di lesioni corticali, si è deciso di procedere in termini di *differenza percentuale* tra la zona lesionata e la GM non lesionata. Così facendo, si è evitato sia ai problemi di quantificazione assoluta citati, che alle variazioni dell'emodinamica dovute all'età, alle condizioni patologiche e alle variazioni specifiche relative ad ogni soggetto. Sostanzialmente si è ricercata una possibile variazione dei parametri emodinamici all'interno della lesione in relazione alla porzione rimanente, nella slice selezionata, della corteccia cerebrale.

Per classificare la GM apparentemente normale (Normal Appearing Gray Matter NAGM) si è ricorsi alle mappe ottenute tramite segmentazione di acquisizioni pesate T_1 e opportunamente coregistrate il protocollo DSC-MRI. È stata applicata ad ogni mappa di probabilità di GM una soglia pari al 99% in modo da includere nell'analisi solo voxel con elevata probabilità di essere GM. Successivamente si è operata un'operazione di XOR (OR esclusivo binario) tra la maschera così calcolata e le zone classificate come lesioni, in questo modo si è ottenuta una maschera di NAGM.

Procedendo in quest'ottica si sono calcolate le medie di ogni parametro nei voxel all'interno di ogni singola lesione e le medie nei voxel di NAGM rimanenti nella slice. Si è definito un *indice di differenza percentuale media* per ogni parametro stimato con la tecnica DSC-MRI:

$$Diff\% = \frac{(Lesione - NAGM)}{NAGM} \quad (3.11)$$

Ovviamente gli indici calcolati sono adimensionali, ma possono dare un'indicazione di massima su come è caratterizzata l'emodinamica nelle lesioni corticali di SM.

3.4 DSC-MRI: analisi delle mappe di perfusione

C'è la possibilità che le disomogeneità di campo magnetico influiscano sulla stima della perfusione cerebrale nelle diverse zone dell'encefalo. Per fugare ogni dubbio riguardante la disomogeneità di campo magnetico si è proceduto in due modi distinti. In prima istanza si sono calcolati gli indici di differenza percentuale per tutti i parametri rispetto all'intera NAGM. Per confermare che l'approccio adottato fosse valido si è selezionato una ROI circolare nell'intorno della lesione, contenente almeno 150 pixel di NAGM e si sono ripetute le analisi comparative.

Lesione da SM e ROI circolare - Sogg. 5 slice 8

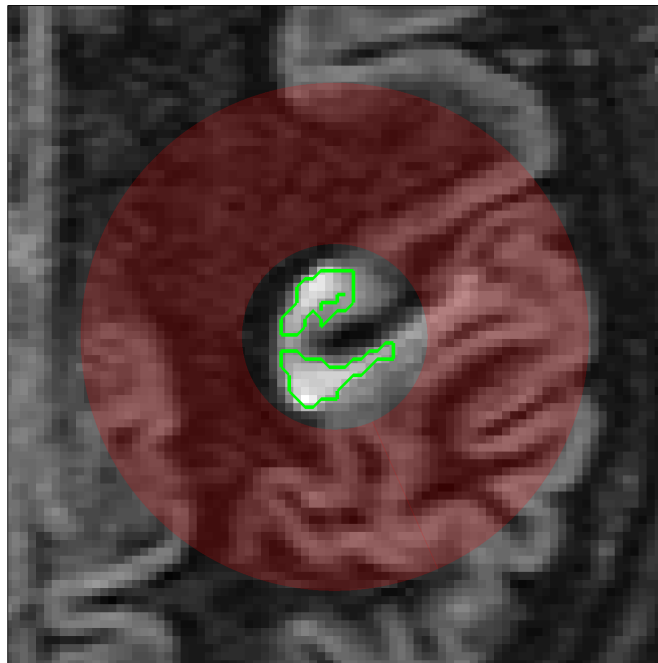


Figura (3.10). In rosso è evidenziata una ROI ellittica nell'intorno della lesione del Sogg. 5 - slice 8. Viene utilizzata per calcolare gli indici di differenza percentuali tra la NAGM e le zone lesionate. In verde sono segnati i bordi della lesione corticale di SM.

Avendo pochi soggetti a disposizione e constatata la distribuzione non uniforme del numero di lesioni per soggetto; gli indici descritti sono stati ulteriormente analizzati, raggruppandoli anche per soggetto. In questo modo si potrà verificare se le variazioni riscontrate in termini medi nel totale delle lesioni,

Materiali e Metodi

si allineano anche in relazione ai singoli soggetti presi in esame.

*“Follia è fare sempre la stessa
cosa e aspettare risultati
diversi”*

ALBERT EINSTEIN

Capitolo 4

Risultati

In questo capitolo verranno presentati i risultati ottenuti seguendo le elaborazioni presentate nel capitolo 3. Innanzitutto si confronteranno le sequenze di acquisizione utilizzate, successivamente si presenteranno il fit ottenuto per l'AIF e il ritardo di arrivo del tracciante. Infine si presenteranno dei risultati preliminari relativi allo studio della perfusione nelle placche corticali dovute alla SM.

4.1 Confronto delle sequenze di acquisizione

4.1.1 Ispezione visiva

In questa sezione si riportano le immagini relative alla somma del segnale, nel tempo, del segnale NMR acquisito con le tre sequenze testate, si ricorda che ogni sequenza è stata testata su soggetti diversi. Queste immagini sono state utilizzate per poter verificare il corretto posizionamento del volume di acquisizione, nonchè offrono la possibilità di notare la presenza, ove avvengano, di errori di ricostruzione del software di interpolazione della macchina oppure di difetti macroscopici nelle immagini acquisite. Si può notare come le acquisizioni siano tutte a 12 fette (Fig. 4.1, 4.2, 4.3). Inoltre si può osservare come i tagli siano molto simili per tutti i soggetti presi in esame e come non ci siano artefatti evidenti. Le immagini acquisite con la sequenza DSC₁ sembrano essere più “smooth” rispetto alle altre. Infine la sequenza DSC₃ sembra aver il miglior dettaglio anatomico.

Risultati

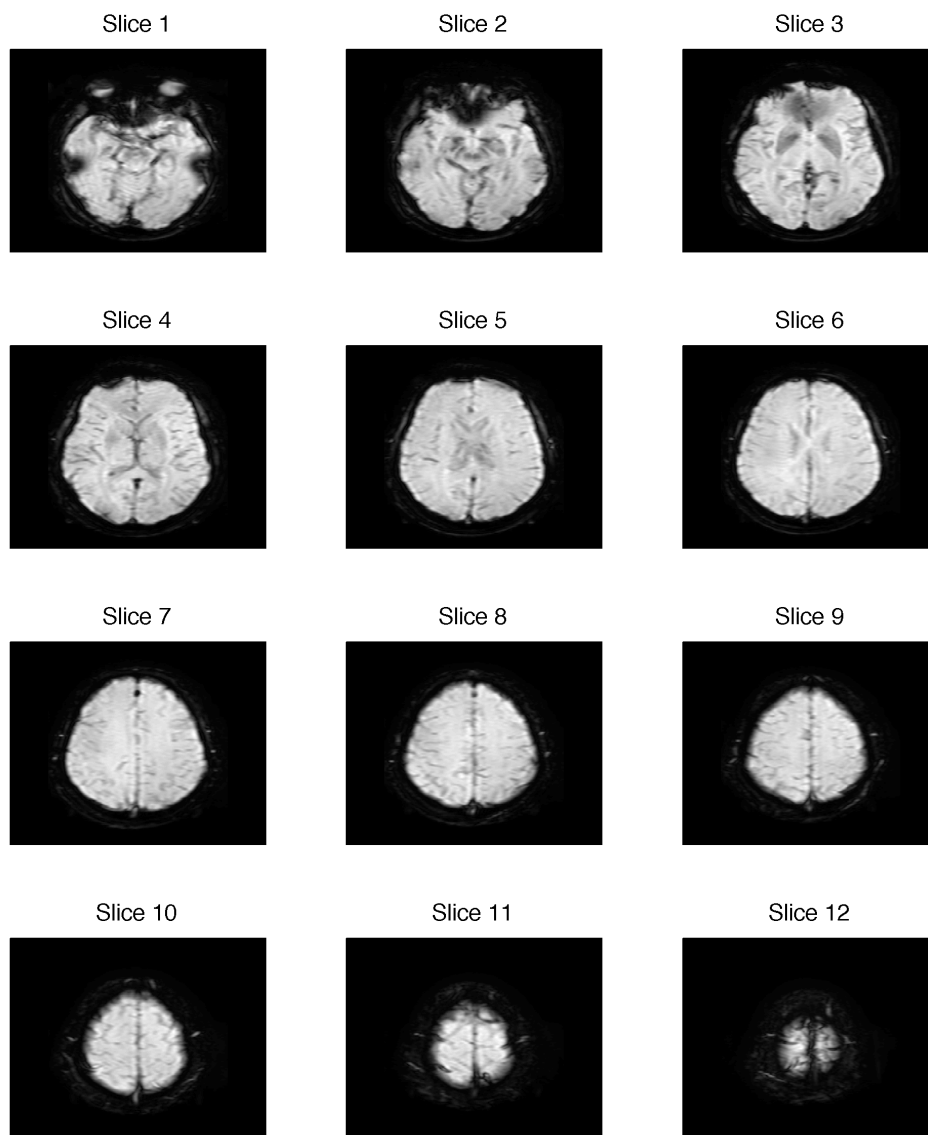


Figura (4.1). DSC_1 : Sogg. 1 - Immagini della somma degli andamenti del segnale NMR. Utili per il loro elevato contrasto anatomico e per verificare la porzione di volume acquisito e l'assenza di difetti macroscopici.

4.1 Confronto delle sequenze di acquisizione

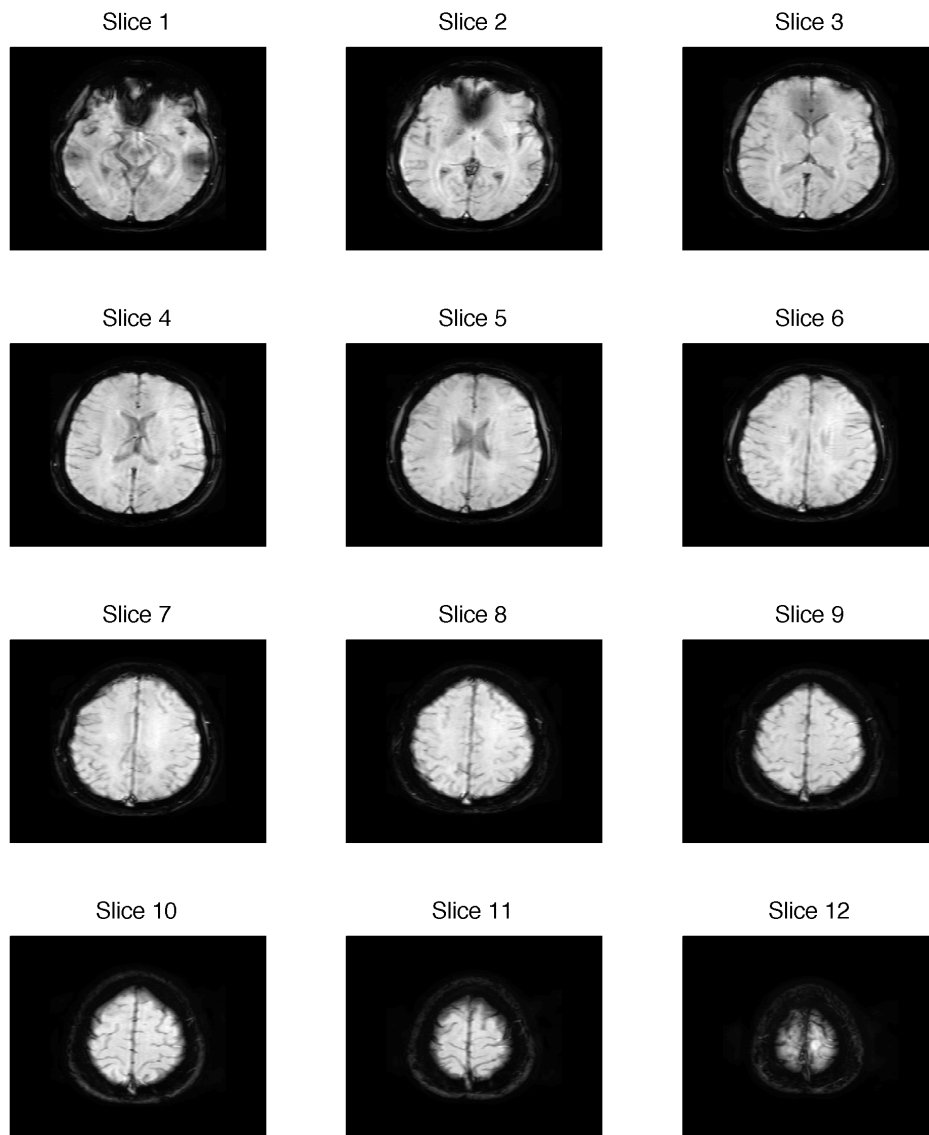


Figura (4.2). DSC_2 : Sogg. 2 - Immagini della somma degli andamenti del segnale NMR. Utili per il loro elevato contrasto anatomico e per verificare la porzione di volume acquisito e l'assenza di difetti macroscopici.

Risultati

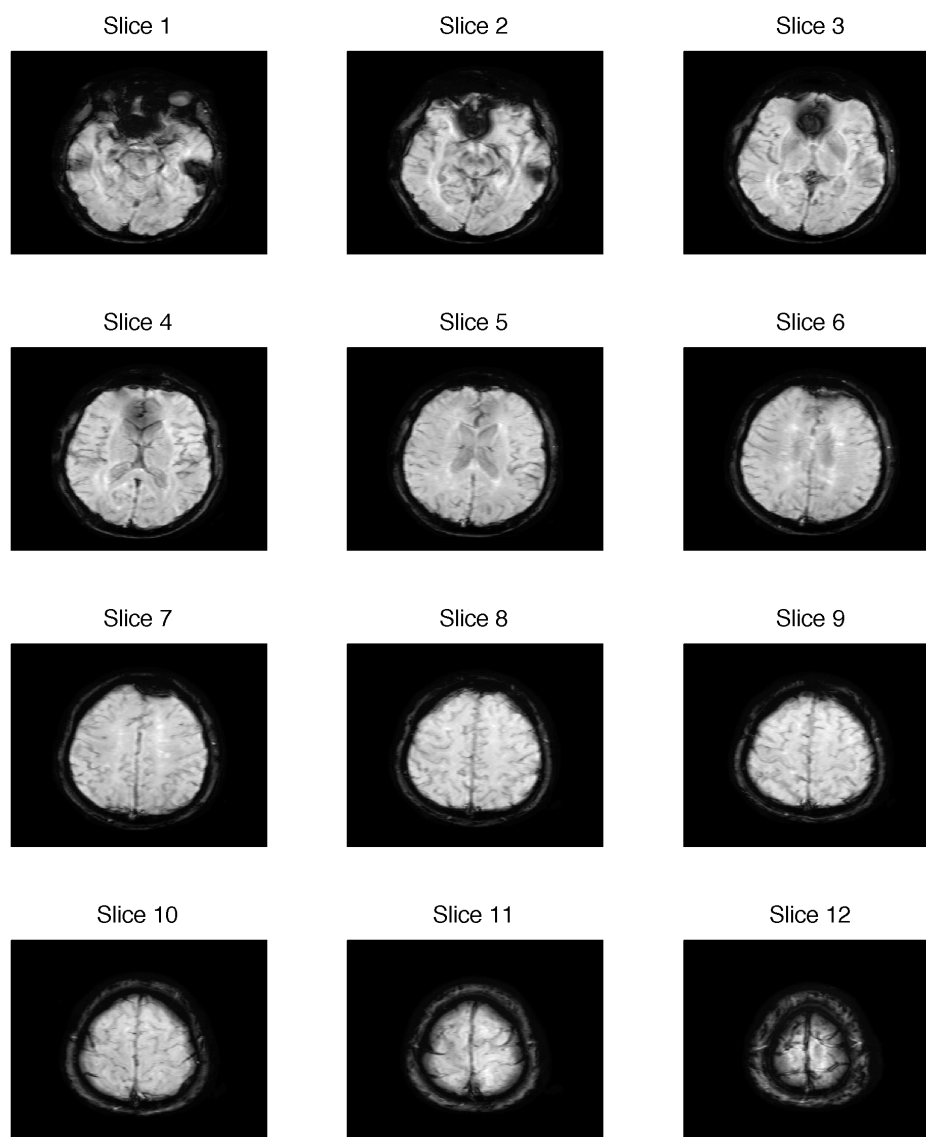


Figura (4.3). DSC_3 : Sogg. 3 - Immagini della somma degli andamenti del segnale NMR. Utili per il loro elevato contrasto anatomico e per verificare la porzione di volume acquisito e l'assenza di difetti macroscopici.

4.1 Confronto delle sequenze di acquisizione

4.1.2 Selezione dei voxel

La quantificazione numerica della qualità del segnale acquisito è stata effettuata a partire da segnali NMR di voxel scelti manualmente, sia di WM che di GM. Nelle Tab. 4.1 sono riportati i voxel scelti per lo studio, sono divisi per quadrante e per tipologia di tessuto. Ogni coppia (r,c) rappresenta le coordinate spaziali per poter individuare il voxel selezionato. Si sono rappresentate le collocazioni dei voxel su immagini “somma” (Fig. 4.4) per poter verificare la tipologia di tessuto da cui provengono i segnali NMR e le relative concentrazioni utilizzate per il calcolo dell’SNR relativo.

Tabella (4.1). Voxel selezionati, suddivisi per quadrante, per protocollo testato e per tipologia di tessuto.

	DSC ₁				DSC ₂				DSC ₃			
GM	101	92	100	175	104	88	100	174	154	112	117	210
	127	82	124	180	74	102	109	180	119	117	148	229
	179	74	163	181	176	90	189	160	229	121	256	223
	192	90	182	153	157	81	151	182	251	121	248	208
WM	100	112	90	157	92	108	123	161	129	147	165	205
	125	100	117	154	107	107	98	154	152	140	144	196
	150	100	162	96	147	93	152	158	189	138	192	196
	162	152	146	140	162	104	141	147	222	140	231	193

4.1.3 SNR: Segnale NMR

Si sono messi a confronto gli andamenti temporali dei voxel selezionati ed acquisiti con le tre diverse sequenze. In blu sono segnati voxel acquisiti tramite il protocollo DSC₁, in rosso acquisizioni DSC₂ ed infine in verde DSC₃. Nelle Fig. 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, sono riportati gli andamenti medi (linea continua) e le aree di confidenza (calcolate come $media \pm SD$) ottenuti per ciascun protocollo, divisi in GM (Fig. 4.5 e 4.7) e WM (Fig. 4.6 e 4.8).

La scala dell’asse dei tempi scelta è rappresentata in multipli di TR. Da notare che le sequenze testate hanno TR differenti: una rappresentazione su

Risultati

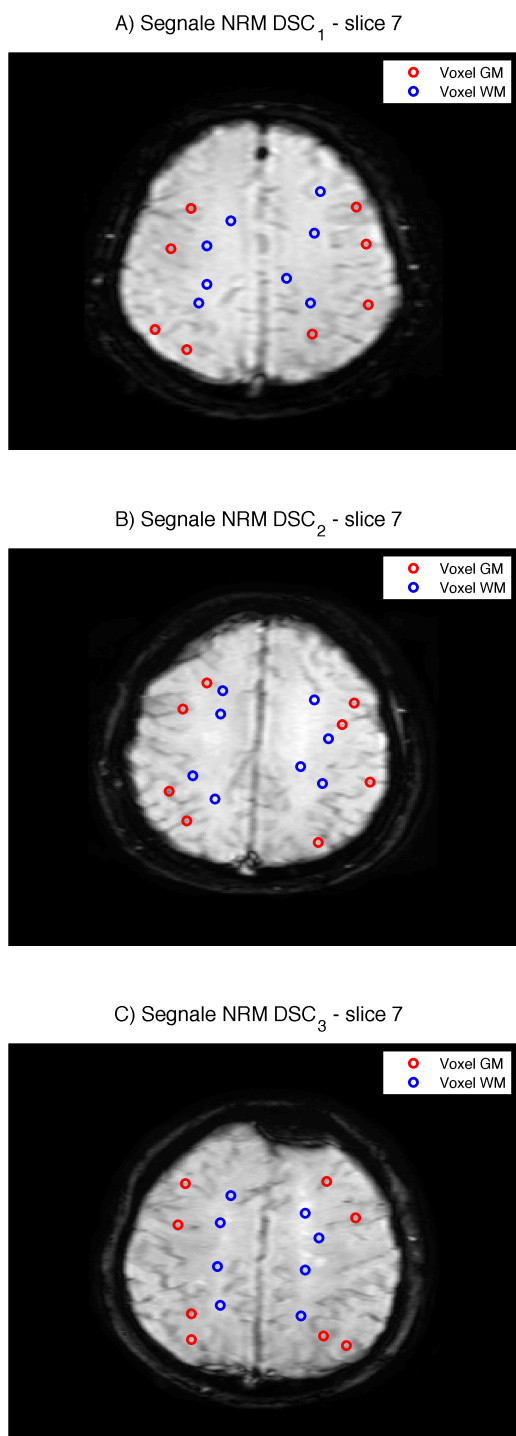


Figura (4.4). Collocazione dei voxel scelti per il confronto delle sequenze di acquisizione sulle immagini somma: **A)** DSC₁ **B)** DSC₂ **C)** DSC₃

4.1 Confronto delle sequenze di acquisizione

scala temporale assoluta (per esempio in secondi) avrebbe creato confusione perché gli andamenti sarebbero risultati sfasati.

I segnali sono caratterizzati da una prima parte costante, dovuta al fatto che l'agente di contrasto non è ancora arrivato nel tessuto selezionato, seguita da un decremento repentino del segnale e un rapido recupero dovuti al passaggio dell'agente di contrasto. Nell'ultima parte del segnale è possibile individuare ulteriori oscillazioni dovute al ricircolo del tracciante nei tessuti cerebrali. Si noti come il livello iniziale del segnale e il rapporto tra il segnale iniziale e l'ampiezza del decremento siano diversi nelle diverse sequenze testate. Inoltre i segnali acquisiti presentano diversi livelli di rumore, maggiormente visibili nella parte iniziale del segnale. La sequenza DSC₂ presenta in stato stazionario un livello di rumore leggermente più elevato rispetto alle altre, compensato però da un livello di attenuazione, dovuto al passaggio dell'agente di contrasto, maggiore.

Per poter calcolare l'SNR si è dovuto sottrarre la componente continua del segnale, in quanto essa non costituisce né rumore né segnale utile, individuata come la media dei primi 20 campioni (S_0) relativa ad ogni acquisizione. I grafici delle Fig. 4.5 e 4.6 rappresentano gli andamenti descritti in presenza della componente continua; nelle Fig. 4.7 e 4.8 si possono notare gli andamenti del segnale dopo aver sottratto la componente continua.

Il calcolo dell'SNR è stato eseguito per ogni voxel selezionato tramite l'Eq. (3.2). È stata calcolata la media e l'SD dell'SNR in base al tessuto di appartenenza. I risultati ottenuti sono contenuti nella Tab. 4.2. Si noti come la sequenza di acquisizione DSC₂ abbia un SNR medio superiore alle altre, questa differenza si nota maggiormente per andamenti di voxel di GM, dove l'attenuazione subita dal segnale NMR, dovuta al passaggio dell'agente di contrasto, è evidentemente maggiore.

4.1.4 SNR: Concentrazioni

In questa sezione si riportano i risultati ottenuti nel calcolo delle concentrazioni dei voxel selezionati e del relativo SNR. In questo caso non è servito sottrarre la componente continua, in quanto questa viene eliminata nel passaggio da segnale NMR a concentrazione di tracciante. Come per i segnali

Risultati

Tabella (4.2). SNR relativo ai segnali NMR acquisiti con le tre sequenze di acquisizione testate. Sono riportati l'SNR medio e le relative SD calcolati nei voxel selezionati per le diverse tipologie tessutali.

	Sequenza	GM	WM
$SNR_{Segnale\ NMR}$	DSC₁	109,94 ± 28,46	5,91 ± 6,31
	DSC₂	122,65 ± 43,59	8,41 ± 6,51
	DSC₃	27,64 ± 23,79	1,82 ± 0,98

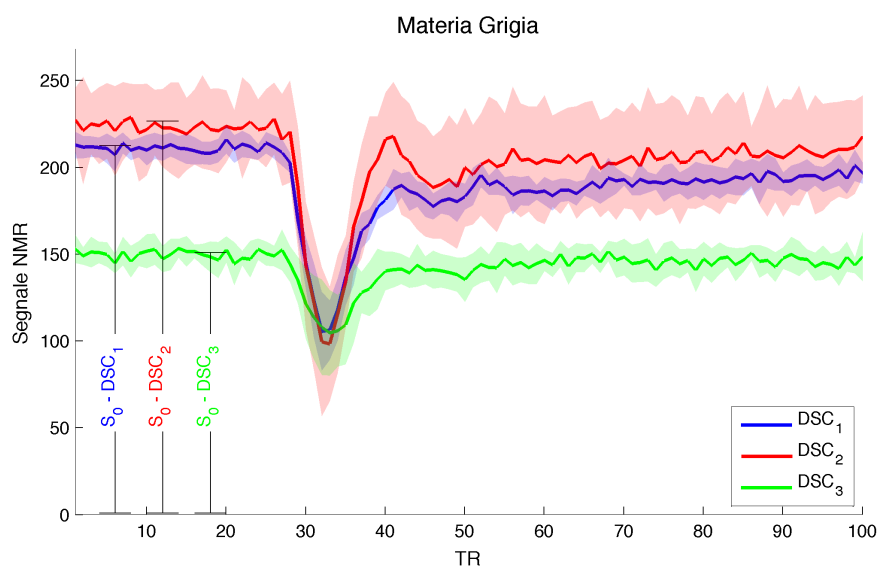


Figura (4.5). Andamenti dei voxel selezionati di GM per ogni sequenza acquisita: media (linea continua) e fasce di confidenza corrispondenti a $media \pm SD$ (area). A sinistra si sono evidenziate le componenti continue misurate.

4.1 Confronto delle sequenze di acquisizione

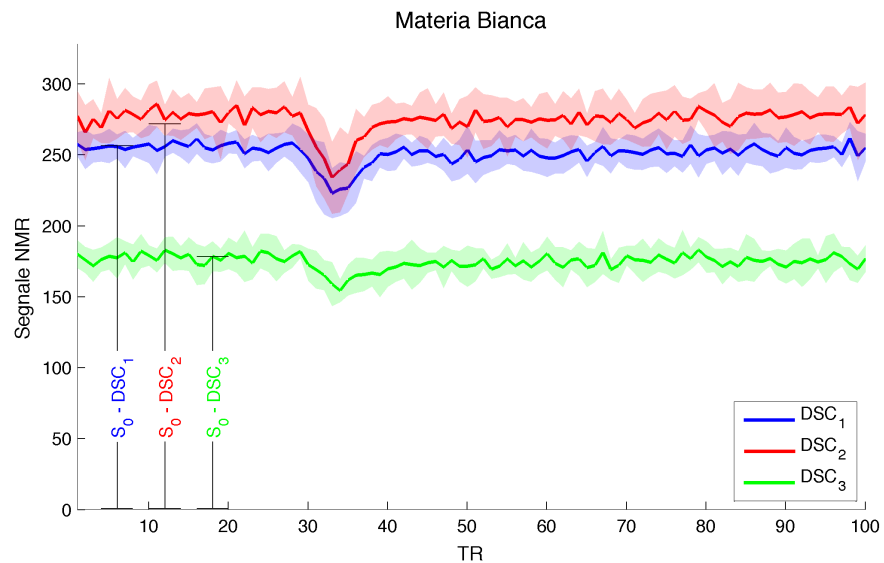


Figura (4.6). Andamenti dei voxel selezionati di WM per ogni sequenza acquisita: media (linea continua) e fasce di confidenza corrispondenti a $media \pm SD$ (area). A sinistra si sono evidenziate le componenti continue misurate.

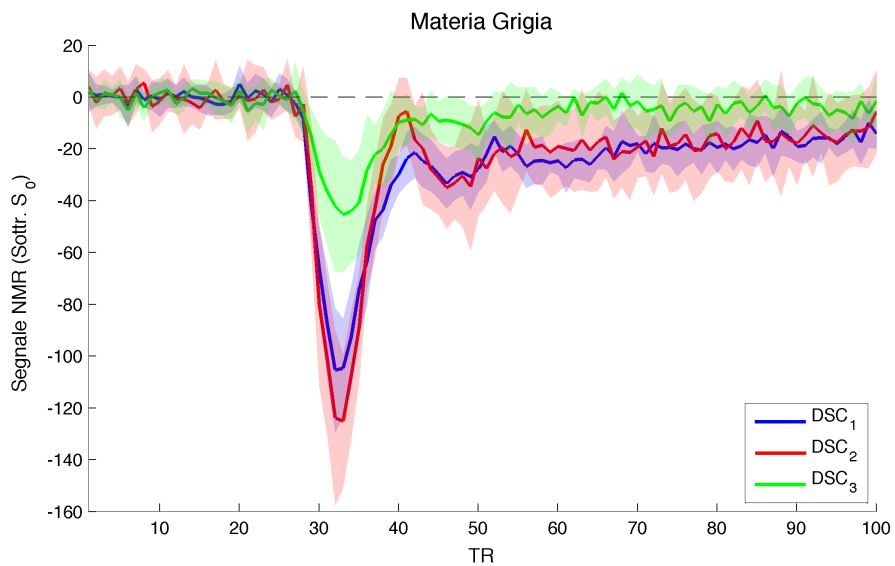


Figura (4.7). Andamenti dei voxel selezionati di GM per ogni sequenza acquisita con sottrazione della componente continua S_0 : sono riportate le medie (linea continua) e le fasce di confidenza corrispondenti a $media \pm SD$.

Risultati

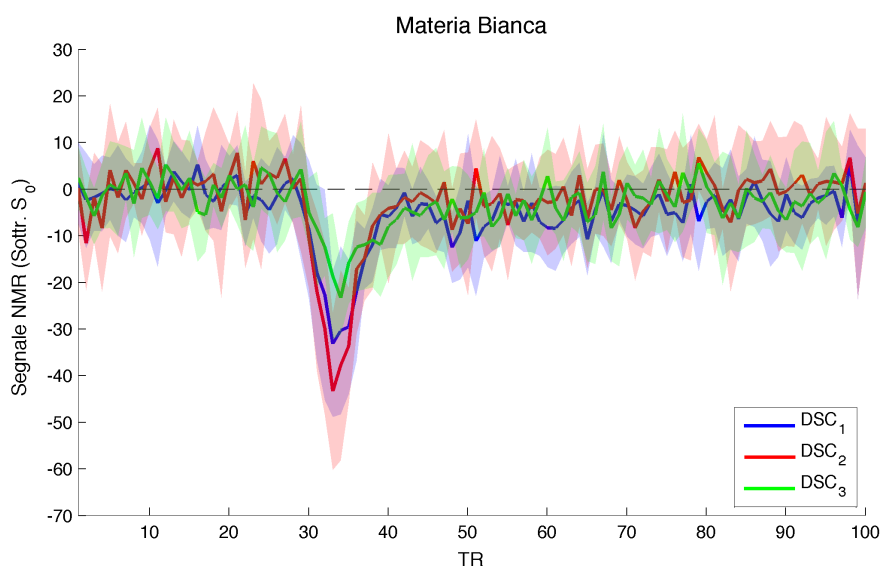


Figura (4.8). Andamenti dei voxel selezionati di WM per ogni sequenza acquisita con sottrazione della componente continua S_0 : sono riportate le medie (linea continua) e le fasce di confidenza corrispondenti a $media \pm SD$.

NMR si sono costruiti dei grafici per visualizzare l'andamento delle concentrazioni. Sono riportati le concentrazioni medie (linea continua) ricavate per ogni sequenza acquisita, e le fasce di confidenza (calcolate come $media \pm SD$, indicate con le aree colorate). Anche in questo caso i risultati ottenuti sono riportati suddivisi per tessuto di appartenenza dei voxel selezionati.

Da notare come l'andamento del segnale di concentrazione dell'agente di contrasto nei tessuti rispetti il comportamento atteso: un rapido incremento in corrispondenza all'arrivo del tracciante e una rapida discesa. In questo caso si può notare molto bene il comportamento dell'agente di contrasto in fase di ricircolo. Si noti come la concentrazione sia molto vicino a zero nei primi 20 - 25 campioni e come non ritorni subito a zero, ma rimanga leggermente più elevata, a causa del ricircolo dell'agente di contrasto. Si possono notare diversi livelli di rumore a seconda della sequenza di acquisizione utilizzata ed un picco principale molto elevato, soprattutto nel caso di utilizzo della sequenza DSC₂. L'SNR calcolato per le concentrazioni è riportato in Tab. 4.3. Ancora una volta, la sequenza DSC₂ risulti avere un SNR medio più elevato

4.1 Confronto delle sequenze di acquisizione

delle altre, in entrambi i tessuti.

Tabella (4.3). *SNR relativo alle concentrazioni calcolate a partire dai segnali NMR acquisiti con le tre sequenze di acquisizione testate. Sono riportati l'SNR medio e le relative SD calcolati nei voxel selezionati per le diverse tipologie tessutali.*

	Sequenza	GM	WM
$SNR_{Concentrazione}$	DSC ₁	630,67 ± 246,42	18,01 ± 17,22
	DSC ₂	677,37 ± 235,38	22,99 ± 20,43
	DSC ₃	145,18 ± 168,04	4,40 ± 2,83

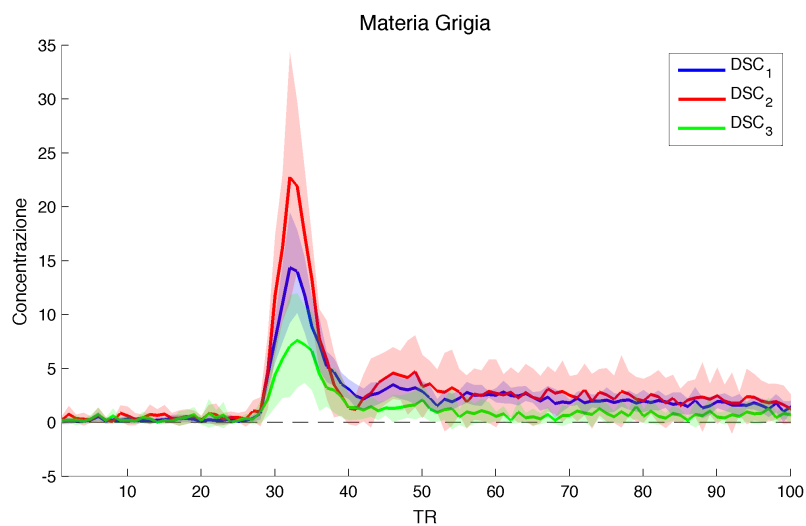


Figura (4.9). *Andamenti della concentrazione nei voxel selezionati di GM per ogni sequenza acquisita: media (linea più spessa) e fasce di confidenza corrispondenti a $media \pm SD$ (area colorata).*

4.1.5 Rapporto di contrasto

L'ultima analisi per la valutazione della prestazione delle sequenze testate è riguardata il rapporto di contrasto tra i diversi tessuti, si riportano i livelli di contrasto, calcolati per le tre sequenze testate (Tab. 4.4). Le sequenze DSC₁

Risultati

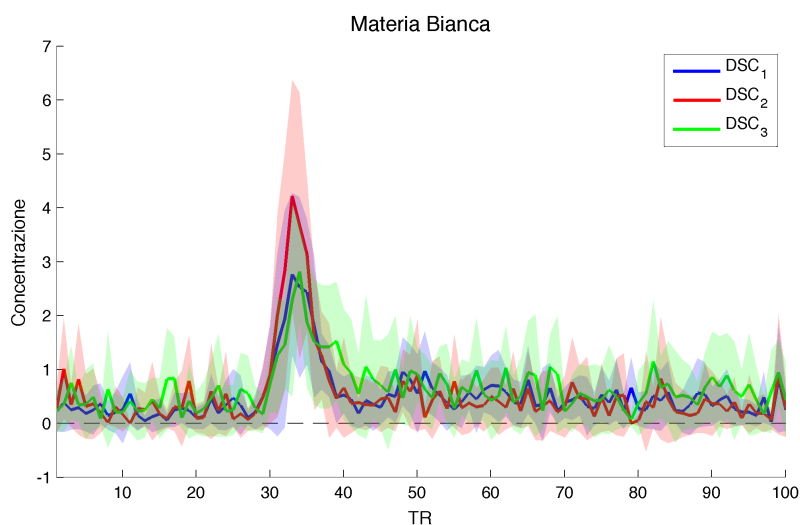


Figura (4.10). Andamenti della concentrazione nei voxel selezionati di WM per ogni sequenza acquisita: media (linea più spessa) e fasce di confidenza corrispondenti a $media \pm SD$ (area colorata).

e DSC₂ offrono un livello di contrasto tra loro paragonabili, con un leggero vantaggio per DSC₂. L'ultima sequenza testata offre un contrasto tra GM e WM, inferiore alle altre due.

Tabella (4.4). Rapporto di contrasto calcolato per le sequenze testate.

	DSC ₁	DSC ₂	DSC ₃
Contrasto	2,73	2,81	1,83

4.2 Riduzione del rumore dell'AIF

L'AIF ricopre un ruolo fondamentale nella quantificazione dei parametri emodinamici: qui vedremo i risultati dell'approccio adottato per migliorare il fit dei dati di concentrazione dell'AIF con una funzione Gamma-Variata (Eq. 3.4).

4.3 Analisi del ritardo per la scelta del metodo di deconvoluzione

Il test della procedura di fit per l'AIF è stato testato su tutti i soggetti del data-set iniziale. Qui si riportano solamente i risultati ottenuti per il caso migliore, il caso peggiore e un caso che rispecchia il comportamento medio del fit, corrispondenti rispettivamente ai soggetti 6, 13 e 32. La Tab. 4.5 racchiude i parametri stimati: $\hat{p}_1 = [A, \alpha, \beta, t_0]$ calcolati al primo passo e $\hat{p}_2 = [k, t_D, \tau]$ ottenuti al secondo. Inoltre nella tabella si sono riportati i coefficienti di variazione percentuali (CV%) relativi alle precisioni dei parametri stimati, ottenuti con una stima a posteriori. Da notare che i parametri non sono tra loro confrontabili perché soggettivi, le precisioni ottenute e rappresentate dai CV% sono soddisfacenti. Non è un caso che il parametro t_d stimato nel caso peggiore abbia il peggior CV%, infatti rispecchia la difficoltà nel collocare con precisione il ricircolo nell'andamento proposto.

I casi sopracitati sono stati riportati nelle Fig. 4.11, 4.12, 4.13. Ogni figura è stata divisa in due parti:

1. Andamento del FIT (linea rossa) e campioni di AIF (pallini bianchi).
2. Residui del fit calcolati come $r = C_{AIF}(t) - \hat{C}_{AIF}(\hat{p}_1, \hat{p}_2, t)$.

I residui mostrano chiaramente come i problemi maggiori si verificano nella fase di salita e discesa del picco principale, anche se sono relativamente pochi i campioni a discostarsi in maniera significativa dal fit. D'altra parte, l'aumento del peso dei campioni in corrispondenza del picco di arrivo del tracciante consentono di seguire l'andamento dell'AIF in modo soddisfacente.

4.3 Analisi del ritardo per la scelta del metodo di deconvoluzione

In questa sezione verranno illustrati i risultati ottenuti dall'analisi del ritardo, sui quali si è basata la scelta dell'approccio di deconvoluzione. Per ogni soggetto del data-set selezionato per l'indagine sull'emodinamica all'interno delle lesioni corticali di SM, si è analizzato, in tutto il volume di acquisizione il ritardo di arrivo dell'agente di contrasto nei VOI rispetto all'AIF, secondo l'Eq. (3.9). Si sono poi calcolate le percentuali medie dei voxel che non soddisfano le condizioni espresse in base all'Eq. (3.10). Le percentuali ottenute

Risultati

Tabella (4.5). Parametri della funzione Gamma variata, ottenuti dalla stima non lineare dei campioni dell'AIF, nei casi presentati a titolo di esempio. Vengono anche riportati i CV%. Sono suddivisi in \hat{p}_1 e \hat{p}_2 per rappresentare quali vengono stimati al primo o al secondo passo della procedura di fit.

Parametri		Medio		Migliore		Peggior	
		Stima	CV%	Stima	CV%	Stima	CV%
\hat{p}_1	A	17,30	1,47%	9,26	1,46%	9,01	2,00%
	t_0	27,99	0,02%	25,42	0,03%	24,89	0,05%
	α	5,24	0,35%	3,62	0,38%	3,35	0,54%
	β	0,69	0,17%	1,31	0,19%	1,42	0,25%
\hat{p}_2	K	0,63	0,63%	0,27	0,54%	0,33	0,93%
	t_d	7,07	0,75%	7,94	0,70%	4,11	16,31%
	τ	30,14	1,67%	30,76	1,28%	57,06	0,96%

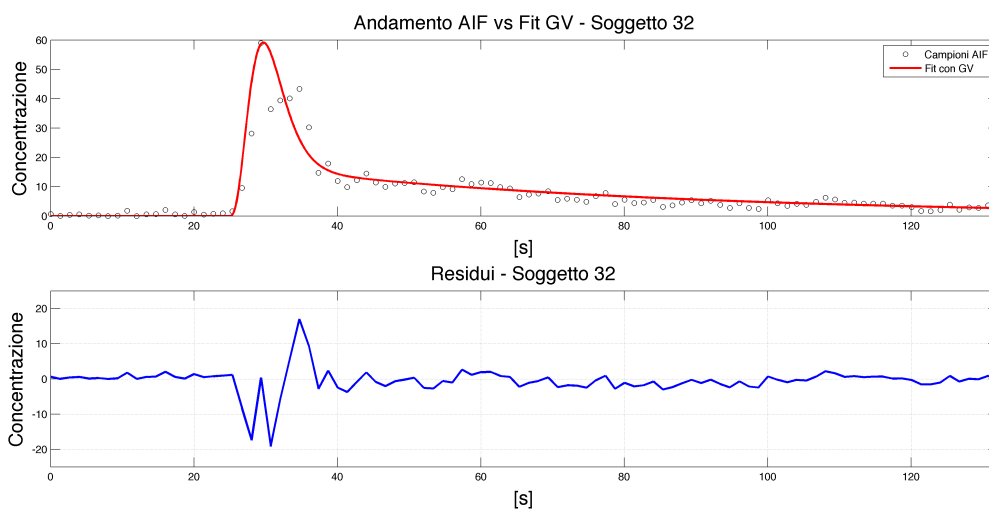


Figura (4.11). FIT dell'AIF - Soggetto 32: caso peggiore. Si possono notare \hat{C}_{AIF} (Linea rossa), C_{AIF} (pallini bianchi) e i residui r (linea blu).

4.3 Analisi del ritardo per la scelta del metodo di deconvoluzione

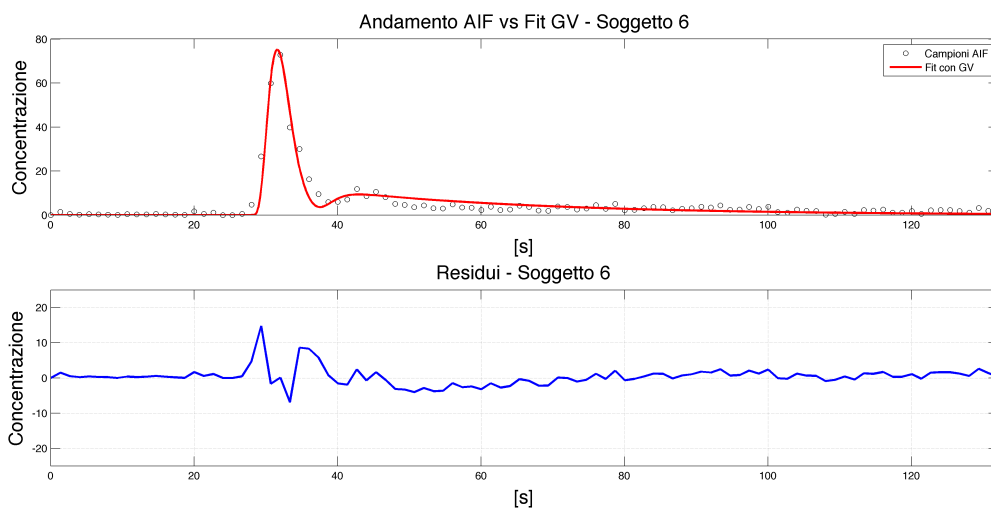


Figura (4.12). FIT dell'AIF - Soggetto 6: caso medio. Si possono notare \hat{C}_{AIF} (Linea rossa), C_{AIF} (pallini bianchi) e i residui r (linea blu).

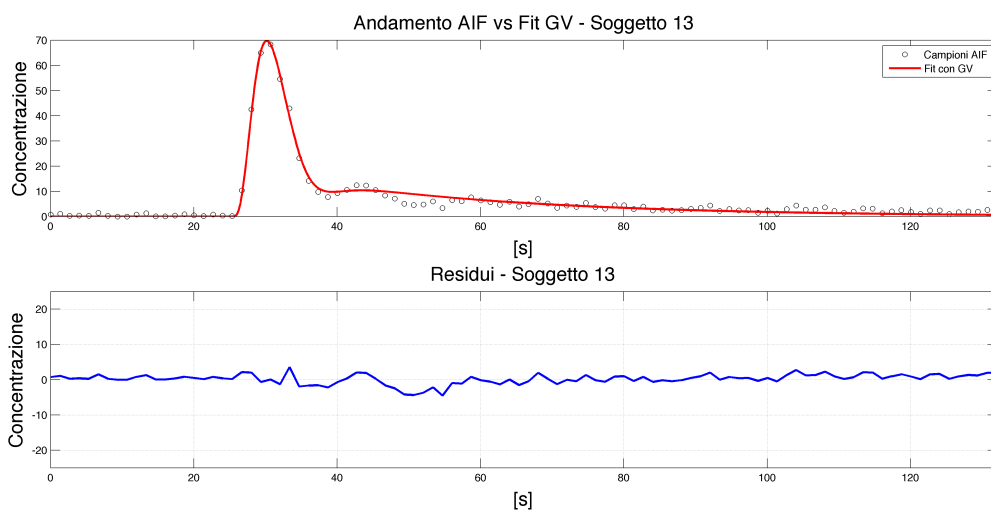


Figura (4.13). FIT dell'AIF - Soggetto 13: caso migliore. Si possono notare \hat{C}_{AIF} (Linea rossa), C_{AIF} (pallini bianchi) e i residui r (linea blu).

Risultati

sono inserite in Tab. 4.14: si può notare come siano percentuali molto basse, sia per la condizione di ritardo (inferiori al 6%) che per quella di non causalità (inferiori al 3%). Anche le SD associate producono fasce di confidenza accettabili per entrambe le condizioni: 2–8% per la condizione di ritardo e 0,5–4,5% per la condizione di non causalità.

Tabella (4.6). *Percentuali riportate come media \pm SD di voxel classificati in condizione di ritardo e di non causalità, calcolate rispetto al totale dei voxel del volume acquisito per ciascun soggetto.*

Classificazione VOI	% VOI
Ritardo	5,65 \pm 2,84%
Non Causali	2,59 \pm 2,09

In secondo luogo i dati ottenuti sono stati suddivisi in base alla fetta di appartenenza del voxel analizzato ed allineati rispetto alla fetta prescelta per la ricerca dell'AIF. In questo modo si può classificare il ritardo in base alla distanza della singola fetta dalla fetta da cui si è estratta l'AIF. Anche in questo caso si sono calcolate media ed SD su tutti i soggetti. In Tab. 4.7 si possono osservare le medie ottenute. L'estrazione dell'AIF in base alla quale viene calcolato il ritardo di ogni VOI è stata scelta manualmente secondo i criteri descritti nel Cap. 2.3.4. In media la fetta più utilizzata è stata la numero 9. La Fig. 4.14 riporta i dati contenuti in Tab. 4.7. È possibile notare come le percentuali maggiori siano distribuite nelle fette più basse. Si nota anche che allontanandosi dalla fetta scelta per l'estrazione dell'AIF, le percentuali, soprattutto quelle relative a voxel con ritardo, aumentano.

Dati i risultati si è pensato di utilizzare l'approccio di calcolo di SVD. Per conferma si sono applicati entrambi i metodi a due soggetti, estratti casualmente, del data-set selezionato. I risultati ottenuti con SVD non variano significativamente da quelli ottenuti con cSVD.

4.3 Analisi del ritardo per la scelta del metodo di deconvoluzione

Tabella (4.7). Distribuzione medie delle percentuali di voxel rispetto alla distanza della fetta di appartenenza dalla fetta di selezione dell'AIF, le percentuali si riferiscono al totale dei voxel classificati (rispettivamente $Rit_{VOI} > 3$ per la prima colonna e $Rit_{VOI} < -2$ per la seconda).

Fetta	% VOI Ritardo	% VOI Non causali
-9	8,04 ± 2,49%	4,98 ± 4,73%
-8	6,96 ± 4,04%	3,97 ± 3,22%
-7	9,06 ± 6,40%	3,73 ± 2,33%
-6	6,15 ± 4,60%	2,78 ± 1,88%
-5	6,00 ± 3,27%	2,27 ± 1,64%
-4	5,60 ± 3,17%	1,99 ± 1,66%
-3	4,61 ± 2,72%	1,42 ± 1,38%
-2	4,71 ± 3,07%	1,69 ± 1,89%
-1	4,86 ± 3,22%	1,43 ± 1,39%
AIF	4,23 ± 2,83%	1,78 ± 2,62%
+1	4,26 ± 2,56%	2,69 ± 5,91%
+2	4,95 ± 2,25%	1,98 ± 2,24%
+3	6,44 ± 3,82%	2,25 ± 2,12%
+4	7,49 ± 5,53%	2,28 ± 1,78%
+5	4,28 ± 1,59%	2,18 ± 0,93%

Risultati

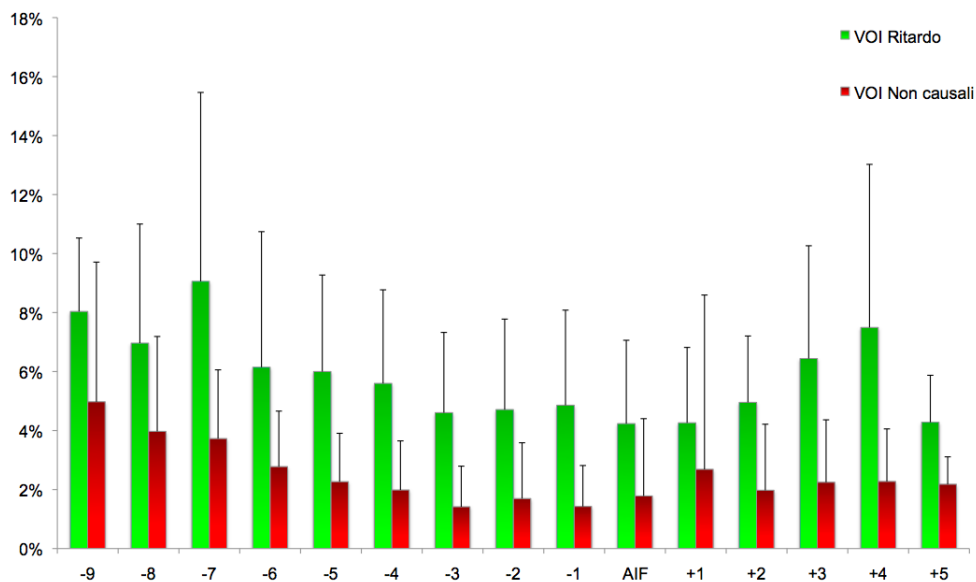


Figura (4.14). FIT dell'AIF - Soggetto 13: caso migliore. Si possono notare \hat{C}_{AIF} (Linea rossa), C_{AIF} (pallini bianchi) e i residui r (linea blu).

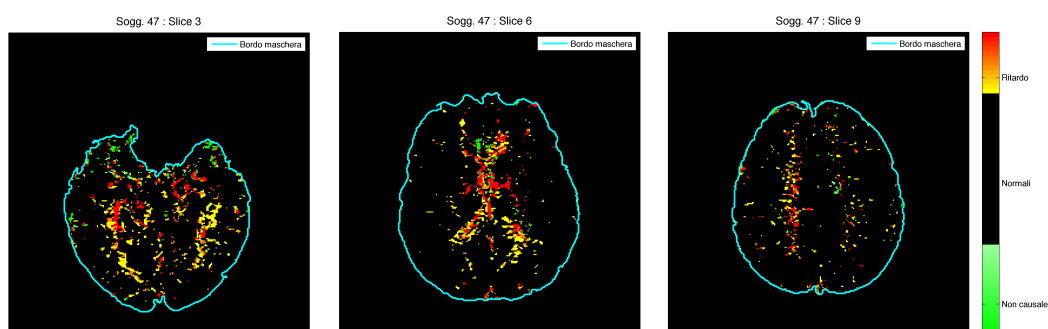


Figura (4.15). Mappe parametrica (Sogg. 47 - Slice 3,6,9) per la valutazione delle condizioni di ritardo ed di non causalità, sono colorati di colore rosso i voxel con $Rit_{VOI} > 3$ e in verde $Rit_{VOI} < -2$. In Blu è segnata la maschera che delimita il volume acquisito.

4.4 Analisi dell'emodinamica all'interno delle lesioni di SM

Questa ultima sezione del capitolo contiene i risultati preliminari relativi all'analisi dei parametri emodinamici nei pazienti inclusi nello studio. In particolare si esporranno gli indici di differenza percentuale, relativi ai parametri CBV, CBF, MTT, calcolati all'interno delle lesioni corticali di SM selezionate rispetto alla NAGM della fetta in cui si sono individuate le lesioni.

In Tab 4.8 sono riportati i valori medi degli indici di differenza percentuali calcolati per i parametri CBV, CBF ed MTT, accompagnati dalla SD calcolata dalla distribuzione costituita da tutte le lesioni riconosciute come tali e la relativa mediana. Si può notare in Tab. 4.8 come i parametri CBV e CBF subiscano, in media, un *decremento* all'interno delle lesioni rispetto alla NAGM. Per il parametro MTT invece, si registra un incremento. L'ultima riga della tabella riporta il p-value relativo ad un t-test (soglia di significatività α pari al 5%) effettuato tra la distribuzione ottenuta e una nulla.

La Tab. 4.9 riporta invece le medie ottenute a partire da una distribuzione costituita mediando gli indici in base al soggetto di appartenenza delle lesioni. Anche in questo caso si possono osservare la SD e la mediana della distribuzione. Come nel caso precedente si nota un incremento del parametro MTT e una diminuzione dei parametri CBF e CBV. Si sono riportati i risultati dei t-test effettuati su ciascun parametro.

Le Fig. 4.16 e 4.17 riportano rispettivamente la distribuzione ottenuta da tutte le 76 lesioni corticali selezionate e mediando i risultati ottenuti in base al soggetto su cui sono state individuate. Come si può notare dai grafici le differenze di distribuzione sono minime: l'unica differenza sostanziale che si nota è che mediando tra i soggetti si ottengono distribuzioni più compatte, meno outliers e relativamente più vicini alla mediana. Ogni box-plot rappresenta la distribuzione dell'indice di ciascun parametro, la linea rossa rappresenta la mediana, le due linee blu il venticinquesimo e settantacinquesimo percentile, le linee tratteggiate individuano i dati che si discostano molto dalla mediana ma non vengono considerati *outlier*; quest'ultimi sono rappresentati individualmente nei grafici come delle piccole croci rosse. Inoltre si è inserita una linea nera orizzontale tratteggiata che rappresenta il riferimento medio della

Risultati

NAGM, utilizzata per il calcolo degli indici di differenza percentuale.

Tabella (4.8). *Indici di differenza percentuali medi dei parametri emodinamici, calcolati in tutte le lesioni corticali di SM selezionate. L'ultima riga è relativa ai p-value risultato di un t-test (soglia di significatività $\alpha = 0,05$).*

	DIFF % - Lesioni		
	CBF	CBV	MTT
Media \pm SD	-35,58 \pm 28,61%	-29,58 \pm 43,08%	13,18 \pm 33,09%
Mediana	-38,80%	-38,47%	9,25%
p-value	$5,16 \times 10^{-17}$	$6,84 \times 10^{-8}$	$8,56 \times 10^{-4}$

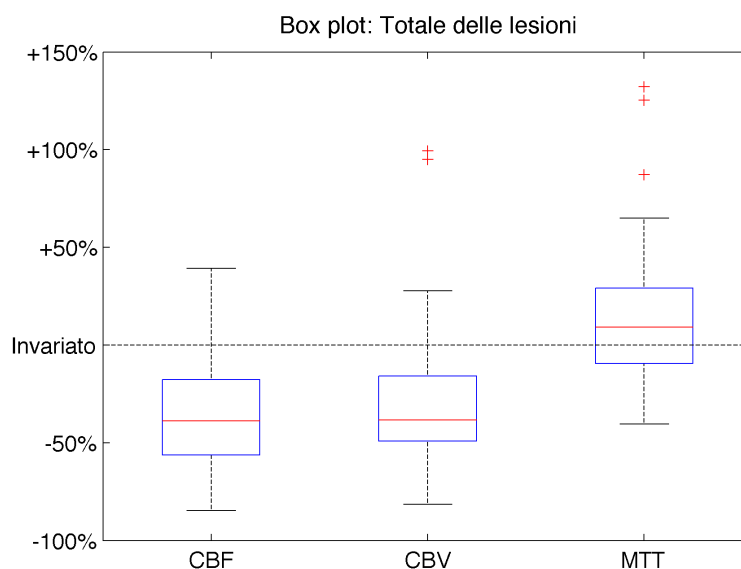


Figura (4.16). *Distribuzione degli indici di differenza percentuale dei parametri emodinamici calcolati all'interno della totalità delle lesioni di SM rispetto alla NAGM.*

4.4 Analisi dell'emodinamica all'interno delle lesioni di SM

Tabella (4.9). Indici di differenza percentuali medi dei parametri emodinamici, calcolati in base ai soggetti selezionati. L'ultima riga è relativa ai p-value risultato di un t-test (soglia di significatività $\alpha = 0,05$).

	DIFF % - Soggetti		
	CBF	CBV	MTT
Media \pm SD	-33,27 \pm 24,63%	-30,04 \pm 26,52%	12,58 \pm 23,17%
Mediana	-34,19%	-27,58%	11,80%
p-value	$1,66 \times 10^{-5}$	$-2,15 \times 10^{-4}$	$3,98 \times 10^{-2}$

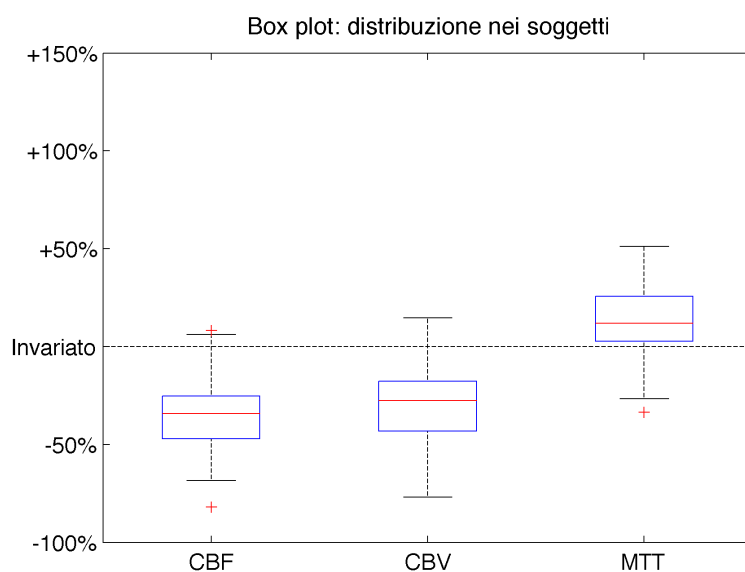


Figura (4.17). Distribuzione degli indici di differenza percentuale dei parametri emodinamici calcolati all'interno delle lesioni di SM, raggruppate per soggetto, rispetto alla NAGM.

*“La libertà che io cerco è quella
di apprendere, di parlare e di
discutere”*

JOHN MILTON

Capitolo 5

Discussione

In questo capitolo verranno discussi i risultati presentati in precedenza mettendo in luce i limiti del protocollo sviluppato.

5.1 Confronto delle sequenze di acquisizione

Le immagini DSC acquisite con le sequenze testate sono state valutate secondo diversi aspetti qualitativi e quantitativi. Primo fra tutti non si è rilevata la presenza né di artefatti né di evidenti errori di ricostruzione. Quindi valutandole da un punto di vista squisitamente tecnico tutte le sequenze testate sono ugualmente valide per lo scopo prefisso, cioè lo studio della perfusione cerebrale.

Dal punto di vista del dettaglio anatomico, strettamente legato alla risoluzione spaziale, la tecnica DSC₃ offre il miglior risultato tra le sequenze testate. Questo risultato era preventivabile perché il dettaglio anatomico è strettamente legato alla risoluzione spaziale e i parametri scelti in fase di progettazione della sequenza sono stati orientati alla massimizzazione della risoluzione spaziale, anche a scapito della qualità del segnale acquisito o dell'effetto dell'agente di contrasto sul segnale stesso. Tra le altre due sequenze DSC₂ è quella che presenta un miglior dettaglio anatomico.

Il confronto tra le sequenze a livello quantitativo è proseguito nello studio del segnale NMR utile acquisito. Il segnale utile allo studio della perfusione, cioè quella parte di segnale che contiene l'informazione necessaria, è la

Discussione

variazione del segnale rispetto alla baseline, causata dal passaggio dell'agente di contrasto nei tessuti. Il livello basale del segnale NMR registrato per la sequenza DSC_3 risulta essere il minore e anche le variazioni dovute al passaggio del tracciante sono meno pronunciate rispetto agli altri protocolli di acquisizione. Da questo punto di vista le sequenze DSC_1 e DSC_2 sono entrambe superiori rispetto alla DSC_3 e presentano andamenti molto simili. Tuttavia, in DSC_2 si è osservato un livello maggiore di rumore in baseline rispetto a DSC_1 , mentre quest'ultima, offre variazioni, conseguenti all'iniezioni del tracciante, meno marcate rispetto a DSC_2 . Il motivo è ancora una volta spiegato dai parametri scelti in fase di progettazione della sequenza. Infatti la sequenza DSC_1 è una sequenza maggiormente orientata alla qualità del segnale acquisito rispetto alle altre testate. L'SNR del segnale NMR è stato calcolato per dare una valutazione quantitativa di quanto discusso finora in modo qualitativo. Calcolato per le diverse sequenze, esso premia la sequenza DSC_2 in ogni condizione testata.

L'analisi delle concentrazioni ottenute riporta come la sequenza DSC_2 abbia migliori performance rispetto alle altre, in particolare è evidente come presenti un picco più pronunciato e un SNR migliore sia in WM che in GM.

Di conseguenza, la sequenza di acquisizione scelta per lo studio è stata la DSC_2 perché è quella che coniuga meglio le esigenze relative alla risoluzione spaziale e alla qualità del segnale misurato. Inoltre possiede il TR minore tra le sequenze utilizzate, che comporta una migliore descrizione della cinetica del tracciante e quindi uno studio della perfusione più robusto.

Uno dei problemi legati allo studio è che ogni sequenza è stata testata su un solo soggetto e che ogni sequenza è stata testata su un soggetto differente. I soggetti sono diversi non per volontà ma per necessità: questo perché tra un esame e il successivo (sullo stesso paziente) devono passare almeno 48 ore, data la tossicità del tracciante. Abbiamo preferito, quindi, di non richiamare lo stesso soggetto per 3 volte, ma di utilizzarne 3 differenti per motivi etici ed organizzativi. Inoltre, invece di testare tre protocolli di acquisizione su un numero maggiore di pazienti si è preferito definire il protocollo dopo l'acquisizione di soli 3 soggetti, riservandosi la possibilità di modificarlo in corso d'opera qualora si fossero presentati altri aspetti da prendere in considerazione. Tuttavia, durante lo studio presentato in questa tesi, non si sono

individuare controindicazioni o carenze che potessero indurre a modificare il protocollo di acquisizione.

5.2 Riduzione del rumore dell'AIF

Si è visto nel capitolo riguardante la teoria della DSC-MRI come l'AIF abbia un forte impatto sulla stima dei parametri di perfusione e di come il rumore presente nella AIF si ripercuota con una forte incertezza sui parametri emodinamici stimati. Nel tentativo di ridurre al minimo l'influenza del rumore nella stima è stato utilizzato un modello per descrivere l'andamento della AIF migliorandone il segnale.

Seguendo i modelli proposti in letteratura ([65], [55] e [56]) si è scelto di modellare l'andamento dell'AIF con una doppia funzione Gamma-Variata. Di queste, una descrive il picco principale e l'altra il ricircolo del tracciante. In particolare, la funzione Gamma-Variata che descrive il ricircolo è ottenuta da quella che descrive il picco principale, ma opportunamente ritardata, scalata e moltiplicata per una funzione esponenziale che ne descrive la dispersione. Il modello complessivo è caratterizzato da sette parametri che devono essere stimati. Come descritto in precedenza, la stima contemporanea di tutti i parametri portava a problemi di convergenza dello stimatore, per cui si è deciso di sfruttare la natura bimodale del segnale e di suddividere la stima dei parametri in due fasi, stimando rispettivamente 4 e 3 parametri per ogni fase. La soluzione individuata si è dimostrata efficace, infatti il modello è stato stimato con successo per tutte le AIF dei soggetti del data set.

Analizzando i residui prodotti dal fit si possono osservare due problemi principali. Il primo è la difficile descrizione dell'AIF nelle fasi di salita e discesa del picco principale. Tale comportamento dello stimatore si può spiegare con l'introduzione dei pesi per la procedura di fit. In particolare, si è scelto di aumentare di un ordine di grandezza il peso del campione del picco. Questa scelta è giustificata dal fatto che il picco contiene l'informazione principale, quindi che deve essere assolutamente preservata. In secondo luogo si possono osservare dei residui leggermente polarizzati nella fase di ricircolo. Questo perché il ricircolo è composto da oscillazioni successive e il modello utilizza una sola Gamma -Variata per l'intero ricircolo. Si è pensato anche

Discussione

se cambiare il modello, aumentando il numero di funzioni Gamma utilizzate per il ricircolo. Purtroppo il numero di picchi secondari del tracciante varia da soggetto a soggetto e non è di facile individuazione. Questo comporta che anche il numero di funzioni da utilizzare è un'incognita del modello. Oltre a questo aspetto c'è da considerare il fatto che il modello risulterebbe molto più complesso e porterebbe a problemi di identificabilità. Infine bisogna considerare l'eventuale guadagno legato ad un modello più complesso non sarebbe così marcato rispetto al modello considerato, che risulta adeguato allo scopo prefisso.

5.3 Scelta del metodo di deconvoluzione

Per quanto riguarda la scelta del metodo per la risoluzione dell'operazione di deconvoluzione si sono confrontati due algoritmi: SVD e cSVD. Si è limitata la scelta a questi due algoritmi perché sono i più veloci e i più diffusi in ambito DSC-MRI. In letteratura sono stati presentati altri metodi più robusti rispetto alla SVD o alla cSVD come *il metodo di regolarizzazione di Tikhonov* e la *Nonlinear Stochastic Deconvolution - NSR* ([92] [93]). Tuttavia questi algoritmi sono stati utilizzati solamente su studi simulati, mentre tuttora gli studi clinici sono sempre stati effettuati con SVD o cSVD.

Su un sottogruppo sono stati applicati entrambi i metodi e si è studiato il ritardo di arrivo del tracciante tra l'AIF e i tessuti. Si è visto come l'AIF scelta (MCA) minimizzi il ritardo nella corteccia cerebrale, rendendo ininfluenza l'insensibilità al ritardo della cSVD. Con questi presupposti si è verificato in primo luogo che il ritardo fosse accettabile e che su un sottogruppo entrambi i metodi dessero risultati comparabili. La scelta è quindi ricaduta sul metodo SVD, in quanto si è riscontrato come la cSVD tenda, in alcuni soggetti, a mascherare le differenze presenti nella perfusione dei diversi tessuti cerebrali.

5.4 Analisi quantitativa

L'analisi quantitativa dell'emodinamica all'interno delle lesioni corticali di SM ha presentato inizialmente qualche problema legato alla natura delle sti-

me ottenute. Il primo ostacolo riscontrato è stato quello causato dalla quantificazione non assoluta dei parametri emodinamici. Infatti, il modello che permette di stimare il CBV, il CBF e l'MTT presenta alcuni contributi che racchiudono forti dipendenze dal soggetto in cui vengono stimati: dovute all'ematocrito, alla pompa cardiaca e alle diverse caratteristiche dei vasi all'interno dell'encefalo. Per risolvere questo problema è deciso di confrontare non tanto i valori di perfusione ottenuti nei diversi soggetti, quanto le differenze percentuali tra le lesioni e il tessuto apparentemente sano di GM circostante, denominato NAGM. In questo modo si ottengono valori confrontabili tra soggetti e adatti allo scopo dello studio. Alternativamente si sarebbe potuto attuare una strategia differenze, basata sulla quantificazione assoluta della perfusione, ad esempio seguendo la strada proposta da Østergaard ([57] [58]) e da Rempp [65]. Il metodo proposto si basa sull'assunzione di un valore noto per la WM sana e sul confronto dei rapporti ottenuti con i valori trovati negli altri tessuti in ogni singolo paziente. Tuttavia la WM sana non ha un valore univoco in ogni zona e quindi questa pratica elimina differenze tra i soggetti. Inoltre la zona di *reference* è difficile da determinare, se la si assume di dimensioni troppo grandi si corre il rischio di incorrere in ingenti effetti da volume parziale, mentre se viene assunta troppo piccola nuovamente si rende la procedura soggettiva e si aumenta l'impatto del rumore nei dati nella stima dei parametri. Inoltre in questo caso particolare non si può assumere che la sostanza bianca non sia coinvolta nelle SM, quindi si introduce anche il problema di come individuare la WM non ancora colpita dalla malattia. Infine il valore univoco per la WM utilizzato in questi studi proviene da una comparazione con studi PET, purtroppo la costante di proporzionalità che permette di utilizzarla in studi NMR varia da tessuto a tessuto e introduce errori nella quantificazione.

Per questi motivi si è preferito ricorrere agli indici di differenza percentuali, che danno un'informazione su come sia caratterizzata l'emodinamica cerebrale all'interno delle lesioni corticali di SM rispetto al tessuto dello stesso tipo (GM), ma ritenuto sano.

I risultati preliminari ottenuti suggeriscono una riduzione significativa dei parametri CBF e CBV e un incremento significativo di MTT all'interno delle lesioni. La perfusione è strettamente legata al metabolismo del tessu-

Discussione

to analizzato, quindi una riduzione di CBF e CBV in corrispondenza di un aumento dell'MTT sono indice di sofferenza del tessuto in quanto si ha una riduzione del supporto di ossigeno e sostanze nutritive. Non è chiaro se il problema riscontrato nella perfusione è causa o conseguenza del processo infiammatorio che porta alla genesi delle lesioni. Tuttavia i risultati riportati suggeriscono una relazione tra i due fenomeni.

Lo studio è stato condotto su un campione limitato di soggetti e per questo motivo i risultati presentati vanno intesi come preliminari. Nonostante ciò i risultati dimostrano come la pipeline di analisi messa a punto per questa analisi funzioni correttamente e, in questo senso, si può affermare che lo scopo proposto all'inizio di questo lavoro di tesi è stato raggiunto con successo. Inoltre la tecnica definita messa a punto è ora uno standard di acquisizione per pazienti con SM presso il *Centro di Riferimento per la Sclerosi Multipla della Regione Veneto*, Clinica Neurologica I, all'interno dell'Azienda Ospedaliera di Padova. Attualmente è in fase di acquisizione un gruppo di soggetti più ampio per supportare le conclusioni tratte da questo studio preliminare.

Una conseguenza del fatto che il campione non è numeroso è il fatto che se si considerano le lesioni prese singolarmente (cioè analizzando una popolazione composta da tutte le lesioni) i soggetti con un alto numero di lesioni potrebbero avere un effetto dominante sugli altri, data la non uniformità della distribuzione delle lesioni nei soggetti. D'altra parte usare il valor medio per ogni soggetto ha il problema che i soggetti con una o due lesioni sono poco attendibili e il data-set è troppo poco numeroso per escluderli.

Tuttavia le due analisi condotte indipendentemente forniscono gli stessi risultati e questo ci permette di ritenere che in entrambe le analisi non ci sia stato un sottogruppo dominante. Si rimarca comunque che i risultati presentati sono preliminari.

Capitolo 6

Conclusioni

Questo lavoro ha avuto lo scopo di caratterizzare l'emodinamica cerebrale in pazienti affetti da SM a partire dalla definizione di un protocollo di acquisizione ottimizzato per questo tipo di indagini per poi proseguire nella quantificazione della perfusione cerebrale e nella sua analisi. In particolare l'interesse di questo studio è focalizzato sulla corteccia cerebrale, perché sede dello sviluppo delle lesioni corticali, caratteristiche della SM, la cui genesi ed evoluzione non è ancora del tutto appurata.

È stato quindi definito, testato e validato un protocollo di acquisizione DSC-MRI, che è entrato a far parte della sequenza di esami standard che viene effettuata nei soggetti affetti da sclerosi multipla. Ovviamente si fa riferimento al protocollo in uso presso il Centro di Riferimento per la Sclerosi Multipla della Regione Veneto.

In seguito si è adattato e migliorato un software preesistente per la quantificazione dei parametri emodinamici per il protocollo DSC-MRI. In particolare si è migliorato il mascheramento semi-automatico delle immagini rendendolo meno soggettivo e introducendo dei vincoli legati alla fisiologia cerebrale, inoltre si è introdotto l'uso di un modello per descrivere la AIF in modo da ridurre l'impatto del rumore sulla stima dei parametri di perfusione.

Inoltre si è messo a punto un metodo per l'analisi delle lesioni corticali tra soggetti diversi, confrontandole con l'andamento nelle zone apparentemente normali della GM. È stato quindi possibile individuare una diminuzione significativa del flusso e del volume ematico (CBF e CBV) ed un aumento

Conclusioni

significativo del tempo medio di transito (MTT).

Alla luce degli incoraggianti risultati preliminari ottenuti, si può affermare che lo studio dell'emodinamica cerebrale, tramite la tecnica DSC-MRI è stata e risulterà in futuro molto utile per lo studio della patologia, delle sue cause e della sua evoluzione nel tempo.

Concludendo é stato messo in piedi uno studio per la perfusione cerebrale per pazienti affetti da SM.

6.1 Sviluppi futuri

L'analisi preliminare della perfusione in pazienti affetti da SM condotta in questo studio verrà approfondita in futuro, per poter caratterizzare in modo più significativo i cambiamenti che avvengono all'interno del tessuto cerebrale ai vari passi di evoluzione della patologia. In particolare si dovrà incrementare il numero di soggetti analizzati, in modo da avere una base statistica più ampia sulla quale poter cercare di correlare i parametri emodinamici con i numerosi sintomi e i vari gradi di disabilità (scala EDSS o MFI).

Una ulteriore possibilità risiede nell'approccio longitudinale, che consiste nel confronto di più esami dello stesso soggetto a distanza di tempo, per poter seguire l'evoluzione della patologia all'interno delle placche corticali e più in generale delle variazioni dell'emodinamica cerebrale nella sua totalità.

Il data-set utilizzato in questo studio contiene pazienti affetti da una particolare variante clinica della SM, la SM-RR. In futuro si eseguiranno le stesse analisi su gruppi distinti, caratterizzati da differenti varianti cliniche, per poterne descrivere più approfonditamente le differenze o i punti in comune.

L'obiettivo finale di queste analisi è la costruzione di un modello predittivo che consenta di prevedere il decorso clinico di pazienti affetti da sclerosi multipla, in modo da poterne prevedere eventuali crisi, ma soprattutto l'evoluzione, coerentemente con l'aspetto degenerativo, sia fisico che cognitivo che essa provoca.

Appendice A

Double Inversion Recovery

La sequenza Inversion Recovery (IR) può essere utilizzata per annullare il contributo al segnale NMR di un particolare tessuto, scegliendo in maniera appropriata il TI. L'utilizzo di un impulso di inversione aggiuntivo consente di annullare contemporaneamente il contributo di due tessuti: viene chiamata Double Inversion Recovery (DIR).

Questa particolare tecnica MRI è applicata alla RM cerebrale per consentire di sopprimere il contributo della WM e del CSF ottenendo quindi delle immagini caratterizzate dalla sola componente GM. Il metodo è stato descritto da Redpath e colleghi in [66] e consiste in due impulsi di inversione seguiti da una normale sequenza SE.

Nel periodo che intercorre tra i due impulsi di inversione la magnetizzazione dei tessuti cerebrali recupera quasi totalmente, mentre il CSF, che ha un T_1 maggiore recupera solo una frazione di M_0 . L'intervallo tra il secondo tempo di inversione e l'impulso a 90° viene scelto in modo da annullare la magnetizzazione della WM. La GM, con un maggiore T_1 rimane negativa e genera un segnale NMR. La magnetizzazione del CSF recupera lentamente per annullarsi contemporaneamente al contributo della WM.

La Fig.A.1 rappresenta il diagramma temporale della sequenza, si possono osservare i due impulsi di inversione, e l'impulso di inizio della sequenza SE. L'intervallo che intercorre tra TI_2 e l'impulso a 90° coincide con $\frac{TE}{2}$ della sequenza SE utilizzata per la lettura.

Il valore della magnetizzazione risultante lungo Z (M_z) presente al mo-

Double Inversion Recovery

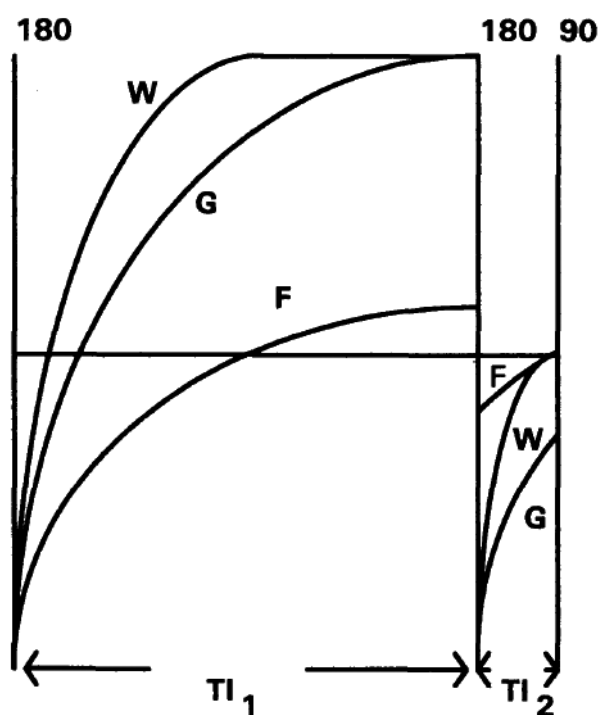


Figura (A.1). Evoluzione di M_z tra i tempi di inversione TI_1 e TI_2 riportata per CSF (F), GM (G) e WM (W). Si può notare come al momento in cui si applica l'impulso che da inizio alla sequenza SE il contributo di WM e CSF sia nullo.

mento dell' impulso a 90° può essere calcolato a partire dalle equazioni di Bloch, assumendo l'equilibrio della dinamica tra un TR e il successivo e quindi tutto l'effetto di magnetizzazione trasversa sia esaurito prima che la sequenza possa reiniziare.

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

dove

$$E_1 = e^{-\frac{TI_1}{T_1}}$$

$$E_2 = e^{-\frac{TI_2}{T_1}}$$

$$E_c = e^{-\frac{TR}{T_1}}$$

$$E_\tau = e^{-\frac{\tau}{T_1}}$$

Il segnale NMR per un impulso a 90° risulta

$$S = kM_A E_\tau^2 \Delta V \quad (\text{A.2})$$

dove ΔV è il volume del voxel e k è una misura del guadagno dell'intero sistema.

Per poter sopprimere il contributo del segnale proveniente dai due tessuti bisogna scegliere TI_1 e TI_2 in modo da porre a zero l'Eq. [A.1](#)

$$(1 - 2E_2 + 2E_1E_2 - E_c(2E_\tau^{-1} - 1)) = 0 \quad (\text{A.3})$$

per entrambi i T_1 caratteristici dei tessuti. Questo può essere fatto graficamente riscrivendo l' Eq. [A.5](#) come

$$E_2 = \frac{E_c(2E_\tau^{-1} - 1) - 1}{2(E_1 - 1)} \quad (\text{A.4})$$

a questo punto si può rappresentare su un grafico TI_2 come una funzione di TI_1 per il particolare T_1 dato che

$$TI_2 = -T_1 \ln E_2 \quad (\text{A.5})$$

Double Inversion Recovery

Una seconda curva viene tracciata per il secondo tessuto da annullare e l'intersezione delle due curve fornisce i tempi di inversione per sopprimere simultaneamente i tessuti desiderati (Fig. A.2).

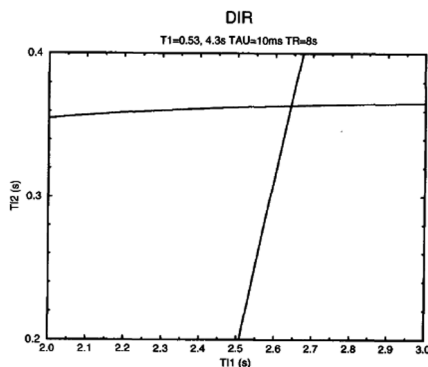


Figura (A.2). Rappresentazione grafica per calcolare TI_1 e TI_2

Negli ultimi anni la sequenza è stata notevolmente migliorata passando alla versione denominata 3D-DIR multi-slab [31] e infine 3D-DIR single-slab [63] che garantisce un tempo di acquisizione molto ridotto e una netta diminuzione del profilo di taglio (possibilità di diminuire notevolmente lo spessore della fetta) e degli artefatti da flusso. Oltre a questi vantaggi le nuove sequenze offrono una notevole risoluzione e sensibilità alle *lesioni corticali* e della GM. In Fig. A.4 si può notare un confronto con altre tecniche di analisi (scansioni IW, T₂, FLAIR e DIR).

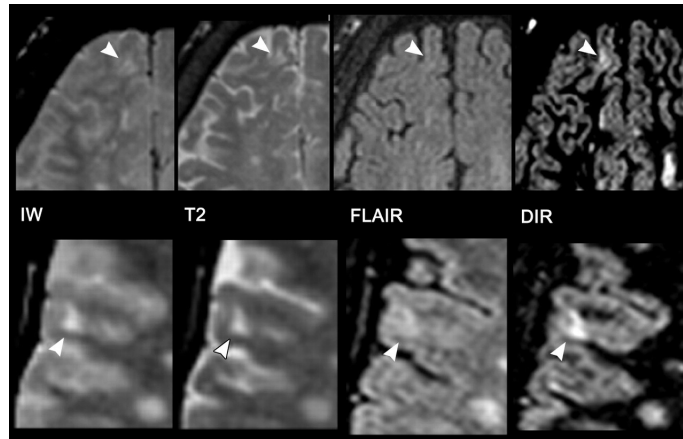


Figura (A.3). Individuazione lesioni corticali: un confronto di diverse tecniche. Si può notare come il protocollo DIR renda iperintense le zone corticali in cui siano presenti lesioni di SM.

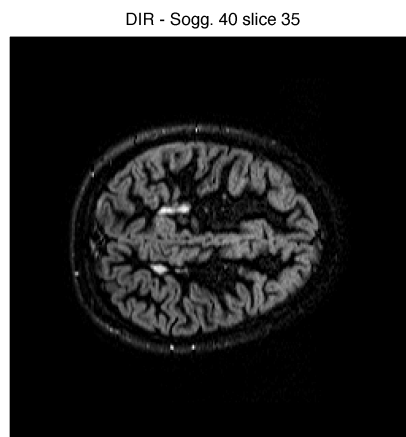


Figura (A.4). Esempio di immagine ottenuta con protocollo di acquisizione DIR: da notare come la GM sia in evidenza rispetto allo sfondo.

Elenco degli acronimi

Acronimo	Significato
ACA	Anterior Cerebral Artery
AIF	Arterial Input Function
AUC	Area Under the Curve
BBB	Blood Brain Barrier
CBF	Cerebral Blood Flow
CBV	Cerebral Blood Volume
CPV	Cerebral Plasma Volume
CRCV	Cerebral Red Cell Volume
CSF	Cerebro Spinal Fluid
cSVD	Block Circulant Singular Value Decomposition
CV	Coefficient of Variation
DIR	Double Inversion Recovery
DSC	Dynamic Susceptibility Contrast
DTI	Diffusion Tensor Imaging
DTSE	Dual Turbo Spin Echo
EDSS	Expanded Disability Status Scale
EPI	Echo Planar Imaging
FID	Free Induction Decay
FOV	Field Of View
GE	Gradient Echo
GM	Gray Matter
ICA	Internal Cerebral Artery
MCA	Middle Cerebral Artery

ELENCO DEGLI ACRONIMI

Acronimo	Significato
MFI	Multimodal Fatigue Index
MRI	Magnetic Resonance Imaging
MTT	Mean Transit Time
NAGM	Normal Appearing Gray Matter
NAWM	Normal Appearing White Matter
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NSR	Nonlinear Stochastic Deconvolution
PCA	Principal Component Analysis
PET	Positron Emission Tomography
RF	Radio Frequency
RFOV	Rectangular Field of View
ROI	Region Of Interest
SD	Standard Deviation
SE	Spin Echo
SM	Sclerosi Multipla
SM-PP	Sclerosi Multipla Primitivamente Progressiva
SM-RP	Sclerosi Multipla Recidivante Progressiva
SM-RR	Sclerosi Multipla Recidivante Remittente
SM-SP	Sclerosi Multipla Secondariamente Progressiva
SNR	Signal to Noise Ratio
SPM	Statistical Parametric Mapping
SVD	Singular Value Decomposition
TE	Echo Time
TR	Repetition Time
TSE	Turbo Spin Echo
TTP	Time To Peak
VOI	Voxel Of Interest
VTF	Vascular Tissue Function
WM	White Matter

Elenco delle figure

1.1	Decorso della Sclerosi Multipla	2
2.1	Angoli di orientazione degli atomi di idrogeno	8
2.2	Moto di precessione degli spin.	9
2.3	Magnetizzazione Risultante	9
2.4	Rilassamento longitudinale	11
2.5	Rilassamento trasversale	12
2.6	Effetto della sequenza Spin-Echo	13
2.7	Diagramma temporale della sequenza SE	14
2.8	Diagramma temporale della sequenza SE	15
2.9	Molecola di Gadolinio	16
2.10	Processo di quantificazione di immagini di DSC-MRI	22
2.11	Effetto del passaggio dell'agente paramagnetico sul segnale NMR.	23
2.12	Andamento nel tempo della concentrazione di tracciante	25
2.13	Funzione residuo in assenza o in presenza di dispersione	30
2.14	ROI per la ricerca dell'arteriale	33
2.15	Maggiori arterie dell'encefalo	33
3.1	Risonanza Magnetica <i>Philips Achieva 1.5T</i>	49
3.2	Bobina RF <i>Philips SENSE Neurovascular coil</i>	50
3.3	Pompa d'infusione <i>MEDRAD Spectris Solaris EP MR</i>	50
3.4	Pipeline di analisi	65
3.5	Esempio di correzione del movimento	67
3.6	Esempio del processo di mascheramento delle immagini.	68
3.7	Tipico risultato di coregistrazione tra DSC-MRI e T_1 effettuata con SPM8	70

ELENCO DELLE FIGURE

3.8	Esempio di segmentazione	71
3.9	Esempio di estrazione di Lesioni corticali	73
3.10	ROI ellittica nell'intorno delle lesioni	75
4.1	DSC ₁ : Immagini somma	78
4.2	DSC ₂ : Immagini somma	79
4.3	DSC ₃ : Immagini somma	80
4.4	Collocazione dei voxel scelti	82
4.5	Andamento segnale NMR : GM	84
4.6	Andamento segnale NMR : WM	85
4.7	Andamento segnale NMR con sottrazione S ₀ : GM	85
4.8	Andamento segnale NMR con sottrazione S ₀ : WM	86
4.9	Andamento della concentrazione: GM	87
4.10	Andamento della concentrazione: WM	88
4.11	Fit AIF: caso peggiore	90
4.12	Fit AIF: caso medio	91
4.13	Fit AIF: caso migliore	91
4.14	Fit AIF: caso migliore	94
4.15	Esempio di mappe parametrica di Rit _{VOI}	94
4.16	Indici di differenza percentuali: totale delle lesioni	96
4.17	Indici di differenza percentuali: mediati per paziente	97
A.1	Evoluzione della magnetizzazione risultante	108
A.2	Rappresentazione grafica per calcolare TI ₁ e TI ₂	110
A.3	Individuazione lesioni corticali: un confronto di diverse tecniche	111
A.4	Esempio di immagine DIR	111

Elenco delle tabelle

1.1	Scala EDSS	3
3.1	Elenco soggetti esaminati	46
3.2	Terapie	48
3.3	Riassunto data-set	48
3.4	Parametri delle sequenze del protocollo SM	52
3.5	Parametri delle sequenze DSC-MRI	58
3.6	Parametri di interpolazione	71
3.7	Parametri di Segmentazione	72
4.1	Voxel selezionati	81
4.2	SNR: Segnale NMR	84
4.3	SNR: Concentrazioni	87
4.4	Rapporto di contrasto	88
4.5	Parametri stimati dal fit dell'AIF	90
4.6	Percentuali di voxel in ritardo o in condizione di non causalità	92
4.7	Voxel in ritardo o non causali in base alla fetta di appartenenza	93
4.8	Parametrici emodinamici: totale delle lesioni	96
4.9	Parametrici emodinamici: per soggetto	97

Bibliografia

- [1] Pattern of Hemodynamic Impairment in Multiple Sclerosis: Dynamic Susceptibility Contrast Perfusion MR Imaging at 3.0 T. *Neuroimage* 33: 1029-1035 (2006).
- [2] Alsop D.C., Detre J.A. Reduced Transit-time Sensitivity in Noninvasive Magnetic Resonance Imaging of Human Cerebral Blood Flow. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 16: 1236-1249 (1996).
- [3] Alsop D.C., Wedmid A., Schlaug G. Defining a Local Input Function for Perfusion Quantification with Bolus Contrast MRI. Proceedings of 10th Annual Meeting ISMRM, pag. 659, Honolulu, Haway, USA (2002).
- [4] Andersen I.K., Szymkowiak A., Rasmussen C.E., Hanson L.G., Marstrand J.R., Larsson H.B.W., Hansen L.K. Perfusion Quantification Using Gaussian Process Deconvolution. *Magnetic Resonance in Medicine* 48: 351-361 (2002).
- [5] Ashburner J., Friston. K.J., Unified segmentation. *NeuroImage*, 26 : 839-851 (2005).
- [6] Axel L. Cerebral Blood Flow Determination by Rapid-Sequence Computed Tomography. A Theoretical Analysis. *Radiology* 137: 679-686 (1980).
- [7] Barkhof F. The clinico-radiological paradox in multiple sclerosis revisited. *Curr Opin Neurol* 15: 239-245 (2002).
- [8] Benner T., Heiland S., Erb G., Forsting M., Sartor K. Accuracy of Gamma-variate Fits to Concentration-time Curves from Dynamic

BIBLIOGRAFIA

- Susceptibility-Contrast Enhanced MRI: Influence of Time Resolution, Maximal Signal Drop and Signal-to-noise. *Magnetic Resonance in Medicine* 15: 307-317 (1997).
- [9] Bertoldo A., Zanderigo F., Cobelli C. Assessment of Cerebral Blood Flow, Volume, and Mean Transit Time from Bolus-tracking MRI Images: Theory and Practise. In *Advanced Image Processing in Magnetic Resonance Imaging*, L. Landini Editor, Marcel Dekker Signal Processing and Communications Series, New York, NY, USA (2005).
- [10] Boxerman J.L., Hamberg L.M., Rosen B.R., Weisskoff R.M. MR Contrast due to Intravascular Magnetic Susceptibility Perturbations. *Magnetic Resonance in Medicine* 34: 555-566 (1995).
- [11] Bö L, Geurts JJ, van der Valk P, Polman C, Barkhof F. Lack of correlation between cortical demyelination and white matter pathologic changes in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 64: 76-80 (2007)
- [12] Bö L, Vedeler CA, Nyland HI, Trapp BD, Mörk SJ. Subpial demyelination in the cerebral cortex of multiple sclerosis patients. *J Neuropathol Exp Neurol* 62: 723-732 (2003).
- [13] Bö L, Vedeler CA, Nyland H, Trapp BD, Mörk SJ. Intracortical multiple sclerosis lesions are not associated with increased lymphocyte infiltration. *Mult Scler* 9: 323-331 (2003).
- [14] Brunecker P., Villringer A., Schultze J., Nolte C.H., Jungehulsing G.J., Endres M., Steinbrink J. Correcting saturation effects of the arterial input function in dynamic susceptibility contrast-enhanced MRI - a Monte Carlo simulation. *Magnetic Resonance Imaging* 25: 1300-1311 (2007).
- [15] Calabrese M., De Stefano N., Atzori M., Bernardi V., Mattisi I., Barachino L., Rinaldi L., Morra A., McAuliffe M.M.J., Perini P., Battistin L., Gallo P. Extensive cortical inflammation is associated with epilepsy in multiple sclerosis. *Journal of Neurology* 255 : 581-586 (2008).

- [16] Calabrese M., Rocca M. A., Atzori M., Mattisi I., Bernardi V., Favaretto A., Barachino L., Romualdi C., Rinaldi L., Perini P., P. Gallo, Filippi M. Cortical lesions in primary progressive multiple sclerosis. *Neurology* 72 : 1330-1336 (2009).
- [17] Calamante F., Thomas D.L., Pell G.S., Wiersma J., Turner R. Review Article: Measuring Cerebral Blood Flow Using Magnetic Resonance Imaging Techniques. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 19: 701-735 (1999).
- [18] Calamante F., Gadian D.G., Connelly A. Delay and Dispersion Effects in Dynamic Susceptibility Contrast MRI: Simulations using Singular Value Decomposition. *Magnetic Resonance in Medicine* 44: 466-473 (2000).
- [19] Calamante F., Gadian D.G., Connelly A. Quantification of Perfusion using Bolus Tracking Magnetic Resonance Imaging in Stroke: Assumptions, Limitations, and Potential Implications for Clinical Use. *Stroke* 33: 1146-1151 (2002).
- [20] Calamante F., Gadian D.G., Connelly A. Quantification of Bolus-Tracking MRI: Improved Characterization of the Tissue Residue Function Using Tikhonov Regularization. *Magnetic Resonance in Medicine* 50: 1237-1247 (2003).
- [21] Calamante F., Morup M., Hansen L.K. Defining a Local Arterial Input Function for Perfusion MRI using Independent Component Analysis. *Magnetic Resonance in Medicine* 52: 789-797 (2004).
- [22] Carroll T.J., Teneggi V., Jobin M., Squassante L., Treyer V., Hany T.F., Burger C., Wang L., Bye A., Von Schulthess G.K., Buck A. Absolute Quantification of Cerebral Blood Flow with Magnetic Resonance: Reproducibility of the Method, and Comparison with H₂(¹⁵O) Positron Emission Tomography. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 22: 1149-1156 (2002).

BIBLIOGRAFIA

- [23] Chard D., Miller D. Grey matter pathology in clinically early multiple sclerosis: Evidence from magnetic resonance imaging. *Journal of the Neurological Sciences* 282: 5-11 (2009) .
- [24] Collignon A., Maes F., Delaere D., Vandermeulen D., Suetens P., Marchal G. Automated multi-modality image registration based on information theory. *Proc. Information Processing in Medical Imaging*, 263-274, (1995).
- [25] De Nicolao G., Sparacino G., Cobelli C. Nonparametric Input Estimation in Physiological Systems: Problems, Methods, and Case Studies. *Automatica* 33: 851-870 (1997).
- [26] De Nicolao G., Sparacino G., Cobelli C. Stima di Secrezione di Ormoni e Produzione di Substrati Mediante Deconvoluzione. In *Bioingegneria dei Sistemi Metabolici*, GNB, Patron Editore, Bologna, Italy, p. 137-150 (1998).
- [27] Duhamel G., Schlaug G., Alsop D.C. Measurement of Arterial Input Functions for Dynamic Susceptibility Contrast Magnetic Resonance Imaging using Echo-Planar Images: Comparison of Physical Simulations with in Vivo Results. *Magnetic Resonance in Medicine* 55: 514-523 (2006).
- [28] Ellinger R., Kremser C., Schocke M.F., Kolbitsch C., Griebner J., Felber S.R., Aichner F.T. The Impact of Peak Saturation of the Arterial Input Function on Quantitative Evaluation of Dynamic Susceptibility Contrast-enhanced MR Studies. *Journal of Computer Assisted Tomography* 24: 942-948 (2000).
- [29] Friston K.J., Ashburner J., Kiebel S.J., Nichols T.E., Penny W.D., *Statistical Parametric Mapping: The Analysis of Functional Brain Images*, Academic Press (2007)
- [30] Ge Y., Law M., Johnson G., Herbert J., Babb J.S., Mannon L.J., Grossman R.I. Dynamic Susceptibility Contrast Perfusion MR Imaging of Multiple Sclerosis Lesions: Characterizing Hemodynamic Impairment

- and Inflammatory Activity *American Journal of Neuroradiology* 26: 1539-1547 (2005).
- [31] Geurts J.J.G., Pouwels P.J.W., Uitdehaag B.M.J., Polman C.H., Barkhof F., Castelijns J.A. Intracortical Lesions in Multiple Sclerosis: Improved Detection with 3D Double Inversion-Recovery MR Imaging *Radiology*, 236: 254-260 (2005).
- [32] Geurts J.J.G. , BŽ L., Pouwels P.J., et al. Cortical lesions in multiple sclerosis: combined postmortem MR imaging and histopathology. *American Journal of Neuroradiology* 26: 572-77 (2005).
- [33] Geurts J.J.G., Barkhof F. Grey matter pathology in multiple sclerosis. *Lancet Neurology* 7: 841-51 (2008).
- [34] Grüner R., Bjørnarå B.T., Moen G., Taxt T. Magnetic Resonance Brain Perfusion Imaging with Voxel-Specific Arterial Input Functions. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 23: 273-284 (2006).
- [35] Inglese M., Park S.J., Johnson G., Babb J.S., Miles L., Jaggi H., Herbert J., Grossman R.I. Deep Gray Matter Perfusion in Multiple Sclerosis *Archives of Neurology* 64: 196-202 (2007).
- [36] Kiselev V.G. On the Theoretical Basis of Perfusion Measurements by Dynamic Susceptibility Contrast MRI. *Magnetic Resonance in Medicine* 46: 1113-1122 (2001).
- [37] Kjølby B.F., Østergaard L., Kiselev V.G. Theoretical Model of Intravascular Paramagnetic Tracers Effect on Tissue Relaxation. *Magnetic Resonance in Medicine* 56: 187-197 (2006).
- [38] Klaas P. Pruessmann, Markus Weiger, Markus B. Scheidegger e Peter Boesiger, SENSE: Sensitivity Encoding for Fast MRI. In *Magnetic Resonance in medicine* 42:952-962 (1999).
- [39] Kosior J.C. e Frayne R. DSC-MR Perfusion: Leave Tracer Recirculation Alone. *Proceeding in ISMRM 17th Scientific Meeting & Exhibition, Honolulu, Hawaii* 1464 (2009).

BIBLIOGRAFIA

- [40] Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, et al. Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain* 128: 2705-2712 (2005).
- [41] Landis C.S., Li X. et al. Determination of the MRI Contrast Agent Concentration Time Course In Vivo following Bolus Injection: Effect of Equilibrium Transcytolemmal Water Exchange. *Magnetic Resonance in Medicine* 44: 563-574 (2000).
- [42] Larson K.B., Perman W.H., Perlmutter J.S., Gado M.H., Zierler, K.L. Tracer-kinetic Analysis for Measuring Regional Cerebral Blood Flow by Dynamic Nuclear Magnetic Resonance Imaging. *Journal of Theoretical Biology* 170: 1-14 (1994).
- [43] Law M., Saindane A.M., Ge Y., Babb J.S., Johnson G., Mannon L.J., Herber J., Grossman R.I. Microvascular Abnormality in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis: Perfusion MR Imaging Findings in Normal-appearing White Matter. *Radiology* 231: 645-652 (2004).
- [44] Leenders K.L., Perani D., Lammertsma A.A., Heather J.D., Buckingham P., Healy M.J., Gibbs J.M., Wise R.J., Hatazawa J., Herold S., Beany R.P., Brooks D.J., Sprinks T., Rhodes C., Franckowiak R.S.J., Jones T. Cerebral blood flow, blood volume and oxygen utilization. Normal values and effect of age. *Brain* 113: 27-47 (1990).
- [45] Lin W., Celik A., Derdeyn C., An H., Lee Y., Videen T., Østergaard L., Powers W.J. Quantitative Measurements of Cerebral Blood Flow in Patients with Unilateral Carotid Artery Occlusion: a PET and MR Study. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 14: 659-667 (2001).
- [46] Liu H.L., Pu Y., Liu Y., Nickerson L., Andrews T., Fox P.T., Gao J.H. Cerebral Blood Flow Measurement by Dynamic Contrast MRI using Singular Value Decomposition with an Adaptive Threshold. *Magnetic Resonance in Medicine* 42: 167-172(1999).
- [47] Lorenz C., Benner T., Lopez C.J., Ay H., Zhu M.W., Aronen H., Karonen J., Liu Y., Nuutinen J., Sorensen A.G. Effect of Using Local Arterial In-

- put Functions on Cerebral Blood Flow Estimation. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 24: 57-65 (2006).
- [48] Marstrand J.R., Rostrup E., Rosenbaum S., Garde E., Larsson H.B. Cerebral hemodynamic changes measured by gradient-echo or spin-echo bolus tracking and its correlation to changes in ICA blood flow measured by phase-mapping. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 14: 391-400 (2001).
- [49] Meier P., Zierler K.L. On the Theory of the Indicator-Dilution Method for Measurement of Blood Flow and Volume. *Journal of Applied Physiology* 6: 731-744 (1954).
- [50] Mouridsen K., Friston K., Hjort N., Gyldensted L., Østergaard L., Kiebel S. Bayesian estimation of cerebral perfusion using a physiological model of microvasculature. *NeuroImage* 33:570-579 (2006).
- [51] Mukherjee P., Kang H.C., Videen T.O., McKinstry R.C., Powers W.J., Derdeyn C.P. Measurement of Cerebral Blood Flow in Chronic Carotid Occlusive Disease: Comparison of Dynamic Susceptibility Contrast Perfusion MR Imaging with Positron Emission Tomography. *American Journal of Neuroradiology* 24: 862-871 (2003).
- [52] Murase K., Shinohara M., Yamazaki Y. Accuracy of Deconvolution Analysis Based on Singular Value Decomposition for Quantification of Cerebral Blood Flow using Dynamic Susceptibility Contrast-enhanced Magnetic Resonance Imaging. *Physics in Medicine and Biology* 46: 3147-3159 (2001).
- [53] Murase K., Yamazaki Y., Shinohara M. Autoregressive Moving Average (ARMA) Model Applied to Quantification of Cerebral Blood Flow Using Dynamic Susceptibility Contrast-enhanced Magnetic Resonance Imaging. *Magnetic Resonance in Medical Sciences* 2(2): 85-95 (2003).
- [54] Newman G.C., Hospod F.E., Patlak C.S., Fain S.E., Pulfer K.A. Cool T.D., OSullivan F. Experimental Estimates of the Constants Relating Signal Change to Contrast Concentration for Cerebral Blood Volume by

BIBLIOGRAFIA

- T_2^* MRI. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 26: 760-770 (2006).
- [55] Østergaard L., Weisskoff R.M., Chesler D.A., Gyldensted C., Rosen B.R. High Resolution Measurements of Cerebral Blood Flow using Intravascular Tracer Bolus Passages. Part I: Mathematical Approach and Statistical Analysis. *Magnetic Resonance in Medicine* 36: 715-725 (1996).
- [56] Østergaard L., Sorensen A.G., Kwong K.K., Weisskoff R.M., Gyldensted C., Rosen B.R. High Resolution Measurements of Cerebral Blood Flow using Intravascular Tracer Bolus Passages. Part II: Experimental Comparison and Preliminary Results. *Magnetic Resonance in Medicine* 36: 726-736 (1996).
- [57] Østergaard L., Johannsen P., Host-Poulsen P., Vestergaard-Poulsen P., Asboe H., Gee A.D., Hansen S.B., Cold G.E., Gjedde A., Gyldensted C. Cerebral Blood Flow Measurements by Magnetic Resonance Imaging Bolus Tracking: Comparison with $[15O]H_2O$ Positron Emission Tomography in Humans. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 18: 935-940 (1998).
- [58] Østergaard L., Smith D.F., Vestergaard-Poulsen P., Hansen S.B., Gee A.D., Gjedde A., Gyldensted C. Absolute Cerebral Blood Flow and Blood Volume Measured by Magnetic Resonance Imaging Bolus Tracking: Comparison with Positron Emission Tomography Values. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 18: 425-432 (1998).
- [59] Østergaard L., Chesler D.A., Weisskoff R.M., Sorensen A.G., Rosen B.R. Modeling Cerebral Blood Flow and Flow Heterogeneity From Magnetic Resonance Residue Data. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 19: 690-699 (1999).
- [60] Peterson JW, Bö L, Mörk S, Chang A, Trapp BD. Transected neurites, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* ; 50: 389-400 (2001).

- [61] Peruzzo D., Bertoldo A., Zanderigo F., Cobelli C. Automatic Selection of Arterial Input Function on Dynamic Contrast-enhanced MRI Images: Comparison of Different Methods. Proceedings of *ISMRM 14th Scientific Meeting and Exhibition*, Seattle, Washington, USA, 6-12 May (2006).
- [62] Porkka L., Neuder M., Hunter G., Weisskoff R.M., Belliveau J., Rosen, B.R. Arterial Input Function Measurement with MRI. In Proceedings of *The Society of Magnetic Resonance Medicine, 10th Annual Meeting*, San Francisco, California, USA, p. 120 (1991).
- [63] Pouwels P.J.W., Kuijter J.P.A. , Mugler III J.P., Guttman C.R.G., Barkhof F. Human Gray Matter: Feasibility of Single-Slab 3D Double Inversion-Recovery High-Spatial-Resolution MR Imaging. *Radiology*, 241, 873-879 (2006)
- [64] Rausch M. Scheffler K., Rudin M., Radu E.W. Analysis of Input Function from Different Arterial Branches with Gamma Variate Functions and Cluster Analysis for Quantitative Blood Volume Measurements. *Magnetic Resonance Imaging* 18: 1235-1243 (2000).
- [65] Rempp K.A., Brix G., Wenz F., Becker C.R., Gückel F., Lorenz W.J. Quantification of Regional Cerebral Blood Flow and Volume with Dynamic Susceptibility Contrast-enhanced MR Imaging. *Radiology* 193: 637-641 (1994).
- [66] Redpath T.W., Smith F.W. Technical note: Use of a double inversion recovery pulse sequence to image selectively grey or white brain matter *The British Journal of Radiology* 67:1258-1263 (1994).
- [67] Schreiber W.G., Guckel F., Stritzke P., Schmiedek P., Schwartz A., Brix G. Cerebral Blood Flow and Cerebrovascular Reserve Capacity: Estimation by Dynamic Magnetic Resonance Imaging. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 18: 1143–1156 (1998).
- [68] Smets E.M., Garssen B., Bonke B., De Haes J.C. The Multidimensional Fatigue Inventory (MFI) psychometric qualities of an instrument to assess fatigue. *Journal of psychosomatic research* 39: 315-325 (1995).

BIBLIOGRAFIA

- [69] Smith A.M., Grandin C.B., Duprez T., Mataigne F., Cosnard G. Whole Brain Quantitative CBF and CBV Measurements using MRI Bolus Tracking: Comparison of Methodologies. *Magnetic Resonance in Medicine* 43: 559-564 (2000).
- [70] Smith M.R., Lu H., Frayne R. Signal-to-Noise Ratio Effects in Quantitative Cerebral Perfusion Using Dynamic Susceptibility Contrast Agents. *Magnetic Resonance in Medicine* 49: 122-128 (2003).
- [71] Soille P., Morphological Image Analysis: Principles and Applications, Springer-Verlag, 173-174 (1999)
- [72] Sorensen A.G. What is the Meaning of Quantitative CBF? *American Journal of Neuroradiology* 22: 235-236 (2001).
- [73] Sourbron S., Luypaert R., Van Schuerbeek P., Dujardin, M. Stadnik, T. Osteaux M. Deconvolution of Dynamic Contrast-Enhanced MRI data by Linear Inversion: Choice of the Regularization Parameter. *Magnetic Resonance in Medicine* 52: 209-213 (2004).
- [74] Stewart G.N. Researches on the Circulation Time in Organs and on the Influences which affect it. Parts I-III. *Journal of Physiology* 15: 1-89 (1894).
- [75] Studholme C., Hill D.L.G., Hawkes D. J. An overlap invariant entropy measure of 3D medical image alignment. *Pattern Recognition* 32:71-86 (1999)
- [76] Tofts P.S. Modeling Tracer Kinetics in Dynamic Gd-DTPA MR Imaging. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 7: 91-101 (1997).
- [77] Thévenaz P., Blu T., Unser. M. Interpolation revisited. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 19 : 739-758 (2000).
- [78] Unser M., Aldroubi A., Eden M. B-spline signal processing: Part I \mathbb{D} theory. *IEEE Transactions on Signal Processing*, 41 : 821-833 (1993).
- [79] Unser M., Aldroubi A., Eden M. B-spline signal processing: Part II \mathbb{D} efficient design and applications. *IEEE Transactions on Signal Processing* 41 : 834-848 (1993).

- [80] Van Osch M.J., Vonken E.J., Bakker C.J., Viergever M.A. Correcting Partial Volume Artifacts of the Arterial Input Function in Quantitative Cerebral Perfusion MRI. *Magnetic Resonance in Medicine* 45: 477-485 (2001).
- [81] Van Osch M.J., Vonken E.J., Wu O., Viergever M.A., van der Grond J., Bakker C.J. Model of the Human Vasculature for Studying the Influence of Contrast Injection Speed on Cerebral Perfusion MRI. *Magnetic Resonance in Medicine* 50: 614-622 (2003).
- [82] Van Osch M.J.P., Vonken E.P.A. , Viergever M.A., Van Der Grond J., Bakker C.J.G. Measuring the Arterial Input Function with Gradient Echo Sequences. *Magnetic Resonance in Medicine* 49: 1067-1076 (2003).
- [83] Varga A.W., Johnson G., Babb J.S., Herbert J. White matter hemodynamic abnormalities precede sub-cortical gray matter changes in multiple sclerosis. *Journal of Neurological Sciences* 282 : 28-33 (2009).
- [84] Veronese E., Grisan E., Calabrese M., Favaretto A., Gallo P., Bertoldo A. Automatic Segmentation of Gray Matter Multiple Sclerosis Lesions on DIR Images submitted to 16th annual meeting of the Organization for Human Brain Mapping (2010).
- [85] Vonken E.P.A., Beekman F.J., Bakker C.J.G., Viergever M.A. Maximum Likelihood Estimation of Cerebral Blood Flow in Dynamic Susceptibility Contrast MRI. *Magnetic Resonance in Medicine* 41: 343-350 (1999).
- [86] Wegner C., Stadelmann C. Gray Matter Pathology and Multiple Sclerosis. *Current Neurology and Neuroscience Reports* 9 : 399-404 (2009).
- [87] Willats L., Connelly A., Calamante F. Improved Deconvolution of Perfusion MRI Data in the Presence of Bolus Delay and Dispersion. *Magnetic Resonance in Medicine* 56: 146-156 (2006).
- [88] Wirestam R., Andersson L., Østergaard L., Bolling M., Aunola J.P., Lindgren A., Geijer B., Holtas S., Stahlberg F. Assessment of Regional

BIBLIOGRAFIA

- Cerebral Blood Flow by Dynamic Susceptibility Contrast MRI using Different Deconvolution Techniques. *Magnetic Resonance in Medicine* 43: 691-700 (2000).
- [89] Wirestam R., Stahlberg F. Wavelet-based Noise Reduction for Improved Deconvolution of Time-series Data in Dynamic Susceptibility-Contrast MRI. *MAGMA* 18: 113-118 (2005).
- [90] Wu O., Østergaard L., Weisskoff R.M., Benner T., Rosen B.R., Sorensen A.G. Tracer Arrival Timing-Insensitive Technique for Estimating Flow in MR Perfusion-Weighted Imaging Using Singular Value Decomposition with a Block-Circulant Deconvolution Matrix. *Magnetic Resonance in Medicine* 50: 164-174 (2003).
- [91] Zamboni P., Galeotti R., Menegatti E., Malagoni A.M. , Tacconi G., Dall'Ara S., Bartolomei I., Salvi F. Chronic cerebrospinal venous insufficiency in patients with multiple sclerosis. *The Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 80: 392-399 (2008).
- [92] Zanderigo F., Bertoldo A., Pillonetto G., Cosottini M., Cobelli C. Nonlinear Stochastic Regularization to Characterize Tissue Residue Function from Bolus-tracking MRI Images. In Proceedings of *ISMRM Workshop on Quantitative Cerebral Perfusion Imaging Using MRI: A Technical Perspective*, Venice, Italy, March 21-23, pp. 77-78 (2004).
- [93] Zanderigo F., Bertoldo A., Pillonetto G., Cobelli C. Nonlinear Stochastic Deconvolution of Bolus-Tracking MRI: Assessment and Comparison on Simulated Data vs other Methods in Presence/Absence of Dispersion. Proceedings of *ISMRM 13th Scientific Meeting and Exhibition*, Miami, Florida, USA, 7-13 May (2005).
- [94] Zanderigo F., Bertoldo A., Cobelli C. A Log-normal dispersion model for parametric deconvolution of DSC-MRI images: assessment on simulated data. *ISMRM 15th Scientific Meeting and Exhibition*, Berlin, Germany, 19-25 May (2007).
- [95] Zierler K.L. Theoretical Basis of Indicator-Dilution Methods for Measuring Flow and Volume. *Circulation Research* 10: 393-407 (1962).

BIBLIOGRAFIA

- [96] Zierler K.L. Equations for Measuring Blood Flow by External Monitoring of Radioisotopes. *Circulation Research* 16: 309-321 (1965).

