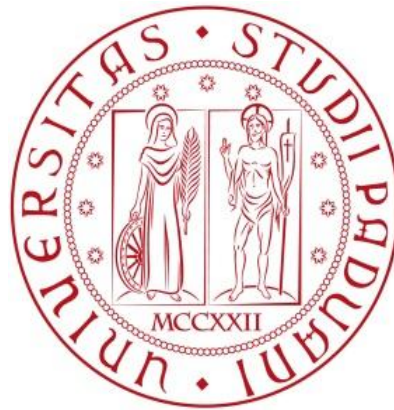


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

SCUOLA DI INGEGNERIA

Corso di Laurea Magistrale in Bioingegneria



TESI DI LAUREA MAGISTRALE

**Metodi per la quantificazione della
perfusione e del tempo di arrivo arteriale da
immagini Arterial Spin Labelling con
codifica Hadamard: simulazioni e dati reali**

Relatore: Prof. Bertoldo Alessandra

Correlatore: Dott. Ing. Castellaro Marco

Laureando: Santinon Federico

Matricola: 1065546

Anno Accademico 2014/2015

*Alla mia famiglia
unico grande punto di riferimento*

Indice

Indice	5
Introduzione	7
1 Arterial Spin Labelling.....	9
1.1 Principi base	10
1.1.1 ASL applicata in PWI.....	11
1.1.2 Sequenze di acquisizione ASL	13
1.2 Modelli di quantificazione.....	22
1.2.1 Il segnale ASL	23
1.2.2 Quantificazione della perfusione	25
1.2.3 Modello di Buxton.....	27
1.2.4 Limitazioni del modello di Buxton.....	30
1.3 Dispersione	31
1.3.1 Il fenomeno della dispersione	32
1.3.2 Modelli di dispersione	33
1.3.3 Metodi di indagine.....	36
1.3.4 Risultati e discussione	38
1.4 Componente macrovascolare	39
1.4.1 Il problema macrovascolare.....	39
1.4.2 Voxelwise model	40
1.4.3 Stima dei parametri, prior e processing	41
1.4.4 Risultati e discussione	42
2 Time-Encoded pCASL.....	45
2.1 Principi base	45
2.2 Processing dei dati.....	48
2.2.1 Fasi di encoding/decoding	48
2.2.2 Matrici di Hadamard.....	50
2.3 Casi di studio	51
2.3.1 Metodologia applicata	52
2.3.2 Risultati e discussione	56
2.3.3 Considerazioni finali.....	61

3	Metodi di quantificazione	65
3.1	Implementazione e modelli.....	65
3.2	Metodologia per le simulazioni	69
3.2.1	Componente tessutale	72
3.2.2	Componente macrovascolare	73
3.2.3	Componenti macrovascolare e tessutale	76
3.3	Metodologia per i dati reali.....	78
3.3.1	Componente tessutale	83
3.3.2	Componente macrovascolare	83
3.3.3	Componenti macrovascolare e tessutale	84
4	Risultati ottenuti	85
4.1	Analisi quantitativa	85
4.2	Valutazione delle simulazioni.....	87
4.2.1	Componente tessutale	87
4.2.2	Componente macrovascolare	91
4.2.3	Componenti macrovascolare e tessutale	95
4.3	Valutazione dei dati reali	100
4.3.1	Componente tessutale	100
4.3.2	Componente macrovascolare	108
4.3.3	Componenti macrovascolare e tessutale	113
5	Analisi successive.....	121
5.1	Obiettivo	121
5.2	Il nuovo modello.....	123
5.3	Risultati e discussione.....	127
5.4	Considerazioni finali.....	130
6	Conclusioni.....	131
	Bibliografia.....	133

Introduzione

Nella seguente Tesi di Laurea vengono proposti degli approcci modellistici per analizzare dati di risonanza magnetica acquisiti tramite sequenza Time-Encoded pseudo-Continuous Arterial Spin Labelling (TE-pCASL). In particolare, gli aspetti modellistici più significativi che sono stati introdotti e che verranno evidenziati nel corso della trattazione sono sostanzialmente due: la possibilità di tener conto del fenomeno della dispersione subita dal bolo d'ingresso al momento del suo arrivo nei tessuti cerebrali e la possibile presenza residua di una componente macrovascolare a livello di voxel tessutale. Nel modello semplificato attualmente in uso per la quantificazione del segnale ASL questi elementi non sono generalmente inclusi. Si è cercato pertanto di capire quanto questi influenzino le stime finali ottenute valutando gli effetti prodotti nello specifico caso Time-Encoded trattato con particolare attenzione ai parametri f (perfusione ematica) e aBV (arterial Blood Volume).

I primi due capitoli descrivono i punti teorici fondamentali utilizzati nello studio condotto. Il Capitolo 1 presenta il contesto Arterial Spin Labelling (ASL) di partenza mostrando tutte le fasi costituenti della metodologia di risonanza magnetica. Nel Capitolo 2 viene descritta nel dettaglio la tecnica TE-pCASL: l'encoding e il conseguente decoding dei dati acquisiti costituisce infatti una novità molto interessante e vantaggiosa per l'elaborazione dei dati a disposizione. Una volta definito in modo esaustivo il background di riferimento, nel Capitolo 3 vengono proposte le metodologie implementate nel caso di simulazioni e di dati reali. I modelli sviluppati comprendono nel complesso tre situazioni distinte: la componente tessutale, la componente macrovascolare e le componenti macrovascolare e tessutale congiuntamente prese. Tutti i risultati conseguiti, in particolar modo quelli relativi alla perfusione cerebrale e al tempo di arrivo arteriale, sono riportati in termini di mappe qualitative e di boxplot nel Capitolo 4. Per concludere, nel Capitolo 5 viene presentato un possibile sviluppo futuro per indagare la TE-pCASL in grado di ridurre significativamente gli effetti prodotti in fase di decodifica dei dati modellando esplicitamente le immagini codificate.

1 Arterial Spin Labelling

Le tecniche di imaging cerebrale sviluppate in ambito Arterial Spin Labelling (ASL) costituiscono una possibilità molto efficace per valutare in modo non invasivo la funzionalità del cervello. ASL è una tecnica di Magnetic Resonance Imaging (*MRI*) che utilizza le molecole di acqua magnetizzate come tracciante endogeno; la metodologia è in grado di fornire immagini proporzionali alla perfusione, Cerebral Blood Flow (*CBF*), caratterizzate da una buona risoluzione spaziale. Rispetto alle procedure solitamente utilizzate in risonanza magnetica, il punto di forza di ASL consiste senza dubbio nel fatto che questa non utilizza alcun mezzo di contrasto: in un singolo esame diagnostico si riescono ad ottenere informazioni anatomiche e funzionali co-registrate tra loro riducendo significativamente i costi complessivi. La natura non-invasiva e non-ionizzante di questa tecnica permette la ripetibilità delle acquisizioni all'interno di una singola sessione, con una risoluzione temporale intrinseca dell'ordine di pochi secondi. Inoltre, in confronto alle tecniche standard, questa permette una quantificazione della perfusione assoluta.

Il punto debole più evidente di ASL è rappresentato dal rapido tempo di decadimento T_1 del tracciante endogeno prodotto. Questo rende lo studio particolarmente difficile sia nel caso di un flusso sanguigno basso che nel caso di malattie cerebrovascolari in grado di modificare severamente la normale attività cerebrale. Sempre rispetto alle tecniche di risonanza convenzionali, il valore relativamente basso di SNR (Signal to Noise Ratio), derivante da una differenza di segnale molto piccola in virtù dal contrasto utilizzato, è causa di una limitata risoluzione spaziale e di un ristretto tempo di imaging.

Il seguente capitolo ha lo scopo di introdurre le caratteristiche e le proprietà principali delle sequenze ASL, dalla fase di creazione del bolo magnetizzato ai modelli utilizzati in fase di stima dei parametri. A questo, si aggiungono altre due concetti teorici molto importanti: la componente macrovascolare e il fenomeno della dispersione.

1.1 Principi base

Arterial Spin Labelling è una tecnica *MRI* per misurare il flusso sanguigno: rispetto ai metodi convenzionali che utilizzano mezzi di contrasto esterni, ASL utilizza come contrasto endogeno il sangue magnetizzato ricorrendo ad opportuni impulsi a radiofrequenza RF.

Le tecniche di imaging di risonanza magnetica per lo studio della perfusione descrivono il deposito di nutrienti ed ossigeno nel parenchima tessutale per mezzo del flusso del sangue attraverso la rete vascolare, utilizzando mezzi di contrasto esogeni ed endogeni. Le prime sono la DSC (Dynamic Susceptibility Contrast) e la DCE (Dynamic Contrast Enhanced); le seconde sono rappresentate, per l'appunto, da ASL (Arterial Spin Labelling). Nei pazienti in cui è controindicato l'utilizzo di contrasti esogeni, o che devono eseguire controlli ripetuti nel tempo, è largamente utilizzata la tecnica ASL in virtù della sua comprovata non invasività.

Il principio fondamentale dell'ASL è la sottrazione di immagine. Durante le sessioni di risonanza si registrano due immagini dello stesso soggetto: una acquisita con impulsi di marcatura dei protoni, rappresentativa del contrasto che fluisce nella regione interessata dall'esame dopo essere transitato attraverso una arteria; l'altra priva di questi impulsi. Dalla sottrazione delle due ne risulta un'immagine pesata in perfusione (FIG. 1.1).

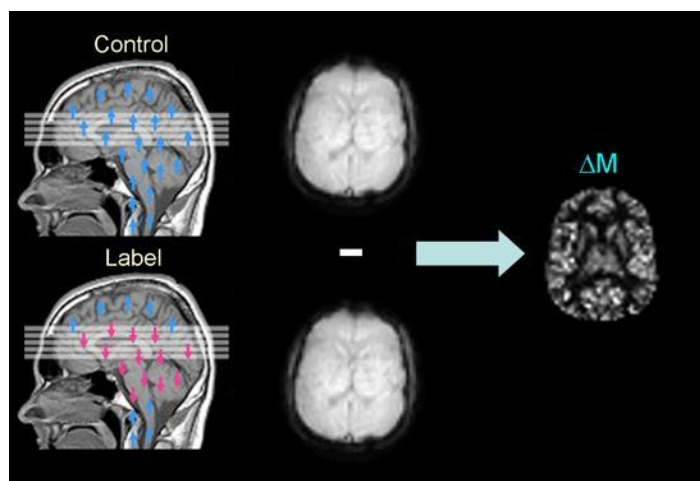


FIG. 1.1 Acquisizione di un'immagine control e di un'immagine label. Dalla differenza delle due si ottengono dati pesati in diffusione ΔM indispensabili per la stima dei parametri incogniti.

Arterial Spin Labelling utilizza un'inversione selettiva dell'afflusso di sangue arteriale per creare il sangue magnetizzato impiegato come contrasto endogeno. Quando tale sangue marcato raggiunge il tessuto di destinazione, questo attenua il segnale relativo all'immagine tessutale acquisita. La differenza di un'immagine label e un'immagine di control fornisce una misura della quantità di sangue destinato al sito specifico di arrivo. Questa quantità è strettamente correlata con il valore di perfusione cerebrale (*CBF*).

La variazione tra immagine taggata e non taggata, a livello di voxel, è circa 1-5%, da cui un SNR risultante di molto inferiore rispetto ad un'immagine pesata in densità protonica. Anche la sensibilità al movimento risulta drasticamente rilevante.

Un punto molto critico nell'acquisizione dei dati ASL è la scelta del Post Label Delay Time (PLD), inteso come il tempo che intercorre tra la magnetizzazione nel sangue, a livello del collo, e la registrazione dell'immagine vera e propria. Se il PLD è troppo corto, il bolo non avrà il tempo necessario per transitare nei siti di destinazione; se il PLD è troppo lungo, del resto, il label non sarà più rappresentativo dell'immagine di riferimento. In ogni caso, la scelta deve sempre tenere in considerazione gli specifici soggetti a cui si sottopone il presente esame, siano essi per esempio bambini oppure pazienti affetti da demenza.

1.1.1 *ASL applicata in PWI*

In PWI (Perfusion Weighted Imaging), i principali parametri di interesse sono: il flusso ematico cerebrale, Cerebral Blood Flow (*CBF*), definito come il volume di sangue che passa attraverso una data regione di tessuto per unità di tempo, misurato in ml/100g/minuto; il volume ematico cerebrale, Cerebral Blood Volume (*CBV*), indicativo del volume che passa attraverso la regione analizzata, misurato in ml/100g; il tempo di transito, Mean Transit Time (*MTT*), caratteristico del tempo medio di transito nella regione che si sta esaminando. Altri parametri riguardano il tempo di picco, relativo alla curva di concentrazione, e la permeabilità della membrana, ottenibile in modo più specifico con la DCE.

In termini generali, la tecnica ASL utilizza una forma di impulso di inversione selettivo per marcare la magnetizzazione longitudinale del flusso di carico del sangue; l'acqua del sangue arteriale viene marcata magneticamente attraverso impulsi RF o tag. Il tag può essere applicato in molti modi: lo scopo principale è quello di forzare la magnetizzazione longitudinale dei tessuti dinamici, come il sangue, per farla differire da quella dei tessuti stazionari presenti.

Il ritardo viene introdotto con l'applicazione di un tempo di inversione (TI), caratterizzato dallo specifico PLD adottato, che permette al sangue di arrivare nella regione di interesse, dove verrà effettuata la lettura del segnale con una sequenza convenzionale (FIG. 1.2). Quando i tempi di transito del circolo arteriale sono notevolmente prolungati, a causa, ad esempio, di una grave ischemia, i parametri valutati possono subire una netta sottostima. Questo è dovuto essenzialmente ad una scorretta stima parametrica all'interno del modello di quantificazione, il quale attribuisce valori di tempi di arrivo non corretti ai differenti distretti cerebrali.

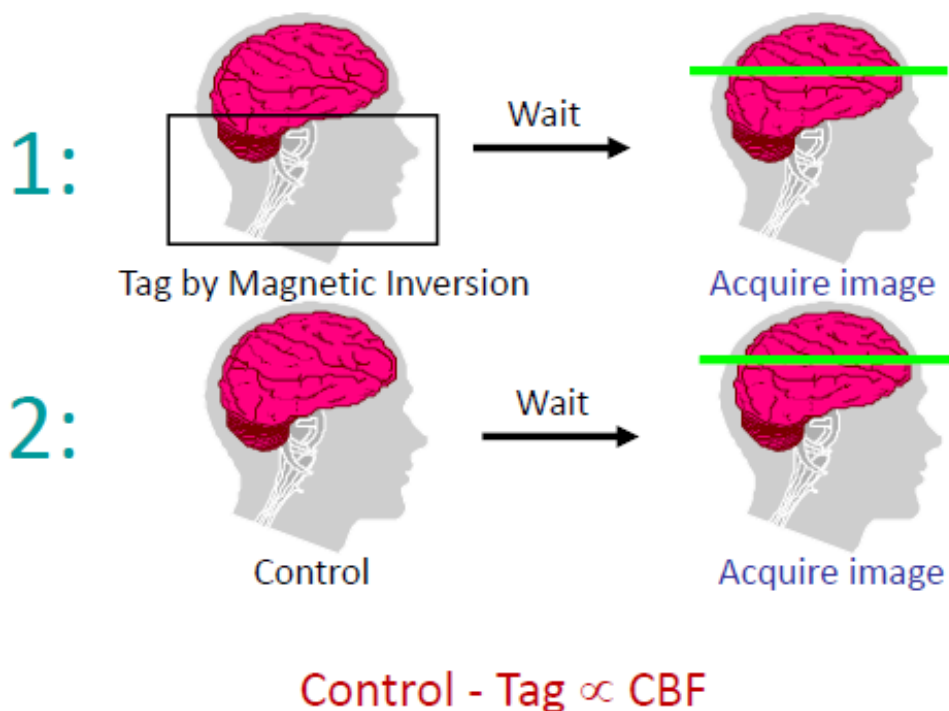


FIG. 1.2. Immagini control e tag acquisite. Dopo un certo tempo di inversione (TI) il bolo magnetizzato arriva ai siti di destinazione ed è possibile effettuare la misurazione lungo un opportuno piano di riferimento.

1.1.2 Sequenze di acquisizione ASL

Durante l'acquisizione di immagini ASL vengono alternate immagini generate con impulso spin labeling e immagini di controllo. Il contrasto PWI si ottiene attraverso coppie di sottrazioni tra le immagini marcate e le immagini di controllo. Questo permette di caratterizzare i valori di perfusione CBF che possono essere stimati attraverso la variazione del segnale comparata a modelli di riferimento, permettendo la generazione di specifiche mappe parametriche ⁽¹⁾.

Lo schema di acquisizione ASL può essere brevemente riassunto in FIG. 1.3.

La prima fase di labeling consiste in impulsi RF necessari per creare la magnetizzazione del sangue, indispensabile per l'intero processo Arterial Spin Labelling. Di questo primo step verrà discusso ampiamente nelle pagine seguenti.

A questo, segue un periodo di post-labeling in cui vengono applicati degli impulsi per migliorare l'SNR o per migliorare il processo di quantificazione nel suo complesso. Una soluzione tipicamente adottata è costituita dal cosiddetto Background Suppression. Utilizzando due impulsi di soppressione del tessuto, si riesce a ridurre l'influenza della variabilità del tessuto sull'immagine differenza risultante, aumentando così in modo significativo l'informazione utile derivante dal contrasto endogeno.

L'ultimo passo è costituito infine dall'acquisizione vera e propria delle immagini, denominato fase di Readout. Esistono molteplici varianti a seconda della specifica applicazione che si vuole realizzare ⁽¹⁾; le principali sono: EPI (Echo-Planar Imaging), HASTE (Half-Fourier Single-Shot Turbo Spin-Echo), 3D-GRASE (3D Gradient And Spin-Echo) e bSSFP (balanced Steady-State Free Precession). La scelta di una soluzione rispetto ad un'altra deve tenere in considerazione parametri come la qualità dell'immagine, il tipo di acquisizione (Multi-slice oppure Single-slice), il valore medio per SNR, la dimensione dei voxel e il tempo globale di registrazione. In questa sede non ci si preoccuperà particolarmente dalla fase di Readout, quanto piuttosto a come sia possibile generare il label magnetizzato nel modo più efficiente a livello di risoluzione spaziale e in termini di tempo di imaging.

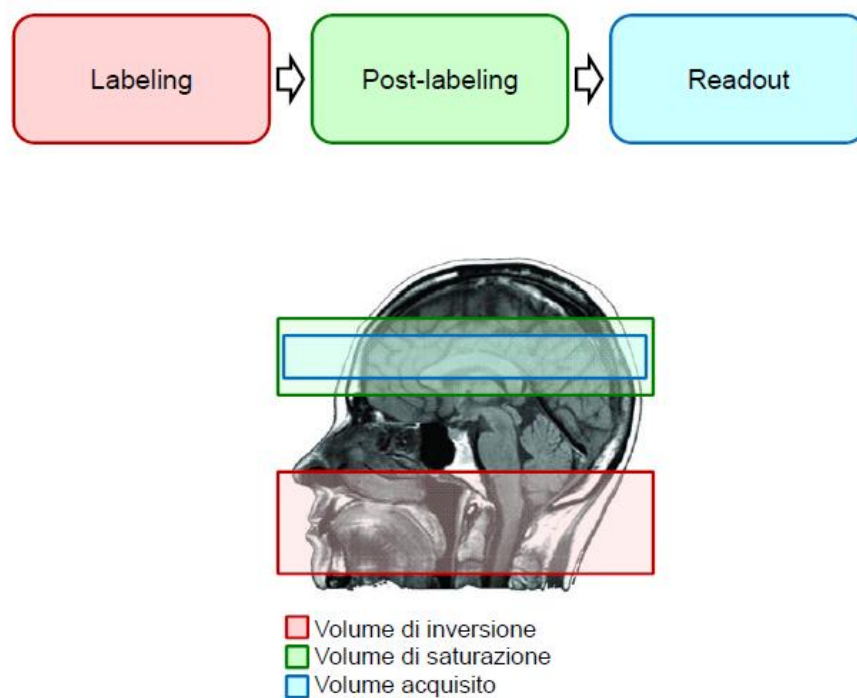


FIG. 1.3. Schema sperimentale sviluppato in ambiente ASL. Si riconoscono complessivamente tre fasi principali: labeling, post-labeling e Readout. L'applicazione degli impulsi RF e la scelta del sito di creazione/lettura del bolo prodotto deve avvenire in precise regioni cerebrali.

Attualmente, gli approcci principali implementati per la fase di labeling sono sostanzialmente tre: Continuous ASL (CASL), Pulsed ASL (PASL) e pseudo-Continuous ASL (pCASL). La differenza principale tra queste categorie ASL è la tecnica utilizzata per marcare magneticamente il sangue.

- Continuous ASL (CASL)

In CASL, il sangue arteriale viene continuamente e selettivamente marcato con un impulso labeling continuo della durata di 2-4 secondi, inviato nella regione dove si vogliono marcare i protoni attraverso un piano di marcatura generalmente applicato alla base del cranio, in contemporanea ad un gradiente di campo di selezione della slice.

La marcatura degli spin avviene tutta nello stesso luogo e viene applicata per diversi secondi per massimizzare gli effetti del segnale nel cervello. Gli spin che passano attraverso questo piano di labeling vengono invertiti e vanno a fluire, dopo un certo tempo, nella regione di interesse portando così la loro magnetizzazione.

Quello che si osserva nell'immagine marcata è una magnetizzazione minore rispetto all'immagine di controllo in cui gli spin non hanno subito inversioni (FIG. 1.4).

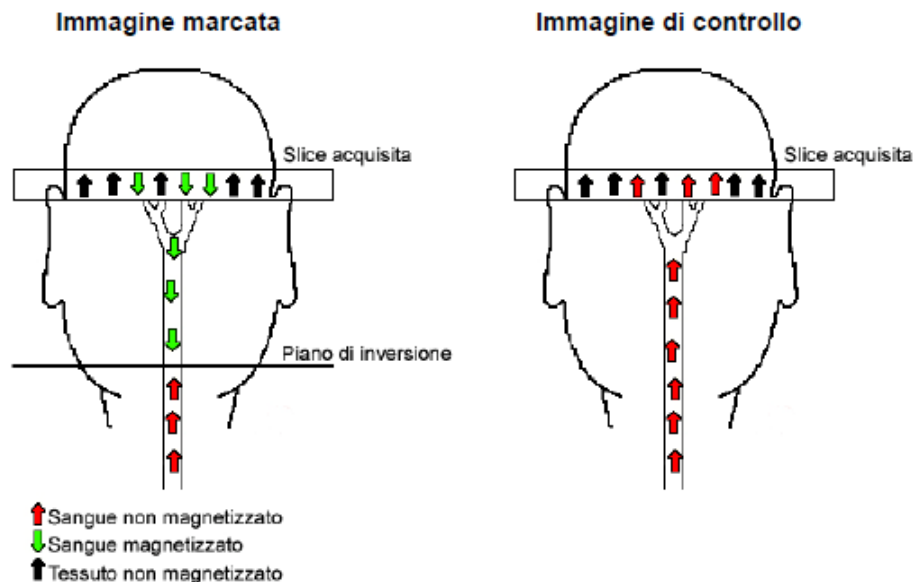


FIG. 1.4. Nel labeling CASL, per un dato intervallo di tempo (1-5 s) viene magnetizzato tutto il sangue che attraversa un piano, detto piano d'inversione. Nello specifico, si osservi l'effetto del sangue non magnetizzato, del sangue magnetizzato e del tessuto non magnetizzato.

Sull'efficienza dell'impulso di inversione incidono numerosi fattori, come la velocità media dei protoni, l'angolazione dei vasi rispetto al piano di labeling, l'ampiezza dell'impulso di labeling e l'intensità del gradiente di selezione della slice. L'efficienza dell'impulso di inversione è un parametro che viene inserito, data la sua evidente importanza, nel processo di quantificazione: in particolare, questo descrive la percentuale degli spin totali che viene effettivamente invertita.

Il piano di inversione viene localizzato in regioni dove risulta possibile identificare arterie con un buon flusso sanguigno, in grado quindi di irrorare una zona ampia di tessuto. Le arterie, oltre a questo, non devono essere eccessivamente angolate rispetto al piano di labeling, in modo tale che l'impulso di inversione riesca ad invertire in modo efficiente tutti gli spin che transitano all'interno dei vasi.

Un problema che si è reso subito evidente, applicando questa tecnica, riguarda il processo di marcatura degli spin e gli effetti che ne derivano. Quando viene applicato un impulso labeling si producono infatti degli effetti di Magnetization Transfer (*MT*) in

grado di saturare alcune macromolecole, come il grasso, riducendo la produzione del segnale. A causa della durata della fase di labeling e dei forti campi utilizzati l'energia trasferita alla macromolecole nel volume di acquisizione non è più trascurabile. Durante le fasi di post-labeling e di Readout tali molecole magnetizzate trasferiscono la loro energia anche alle molecole d'acqua che le circondano tramite l'interazione spin-spin: l'effetto che ne consegue risulta decisamente indesiderato.

Per ridurre l'impatto del trasferimento di magnetizzazione vengono applicati anche all'immagine di controllo impulsi di inversione analoghi all'impulso di label in grado di produrre l'effetto di *MT*. Così facendo, alla successiva sottrazione, l'effetto complessivo può essere eliminato con successo. Riassumendo, un impulso viene applicato nella stessa posizione dell'impulso di label e un impulso nel verso opposto rispetto alla regione di imaging: questo fa sì che l'effetto *MT* sia presente in entrambe le immagini ma l'effetto di inversione venga annullato (FIG. 1.5).

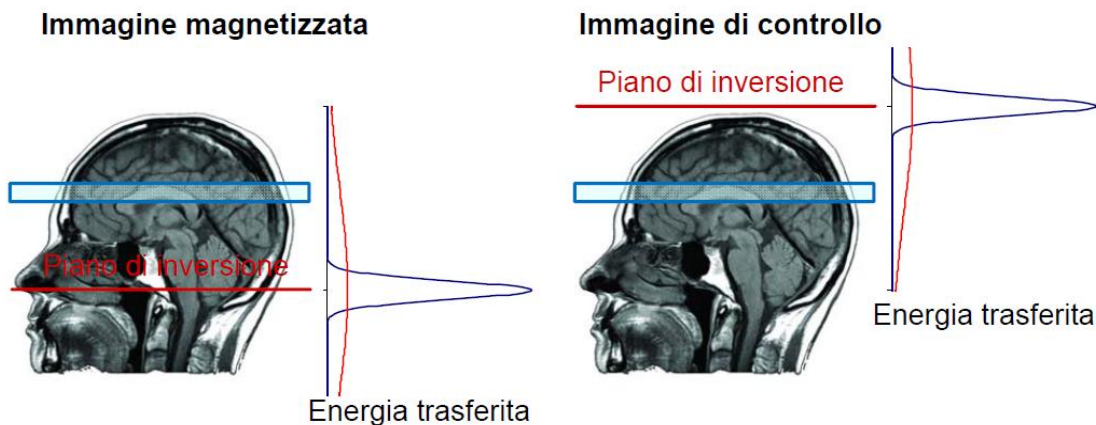


FIG. 1.5. Riduzione degli effetti indotti dal trasferimento della magnetizzazione. Applicazione di particolari impulsi RF all'immagine magnetizzata e all'immagine di controllo e analisi dell'energia trasferita dalle macromolecole nell'intero processo.

- *Pulsed ASL (PASL)*

In PASL, per creare il label di contrasto viene invertito il sangue arteriale contenuto in un volume cerebrale applicando precisi impulsi di inversione (FIG. 1.6), il tutto in un periodo di tempo molto ridotto (10-50 ms). Nella situazione di controllo, invece, non vengono in genere utilizzati impulsi RF. La differenza di ogni coppia di immagini così prodotta fornisce le immagini pesate in perfusione ⁽²⁾.



FIG. 1.6. Creazione del bolo magnetizzato nel labeling PASL. Applicazione dell'impulso di inversione in un volume sufficientemente grande (a sinistra); tempo di ritardo per consentire al flusso sanguigno di raggiungere i distretti cerebrali (al centro); fase di Readout in seguito all'arrivo del label generato (a destra).

In PASL vengono dunque utilizzati brevi impulsi di inversione pulsati che invertono istantaneamente e contemporaneamente il sangue e i tessuti; questi possono essere applicati sia alla base del cranio che all'intero encefalo. La successiva inversione selettiva delle slice di imaging produrrà una differenza di magnetizzazione tra il sangue marcato e l'acqua contenuta nel tessuto cerebrale.

La tecnica Pulsed prevede diverse tipologie di varianti ⁽¹⁾, come EPISTAR (Echo-Planar Imaging and Signal Targeting with Alternating Radio Frequency), FAIR (Flow Alternating Inversion Recovery), UNFAIR (Un-Inverted Flow-Sensitive Alternating Inversion Recovery), PULSAR (Pulsed Star Labeling of Arterial Regions) e QUASAR (Quantitative Signal Targeting with Alternating Radiofrequency). La differenza sostanziale tra questi metodi è la posizione del piano di labeling per le immagini di controllo e di label. In generale è possibile distinguere tali sequenze in tecniche simmetriche e tecniche asimmetriche.

Nel caso di tecniche simmetriche, ad esempio, EPISTAR utilizza un solo impulso di inversione durante la preparazione della marcatura magnetica degli spin. In breve, questa consiste nel mandare l'impulso su una regione ampia 10-15 cm vicino alla regione di interesse, dove vengono marcati i protoni, e poi si acquisisce l'immagine in fase di Readout. Essendo l'impulso considerato molto breve, gli effetti di *MT* risulteranno inevitabilmente minori. Nell'immagine di controllo si manda lo stesso impulso della tecnica precedente, doppio invertente, per evitare totalmente gli effetti di *MT* (se pur significativamente trascurabili). In FIG. 1.7 sono riportati gli effetti prodotti in seguito all'applicazione dell'impulso di inversione, distinguendo le diverse componenti presenti in entrambe le immagini acquisite.

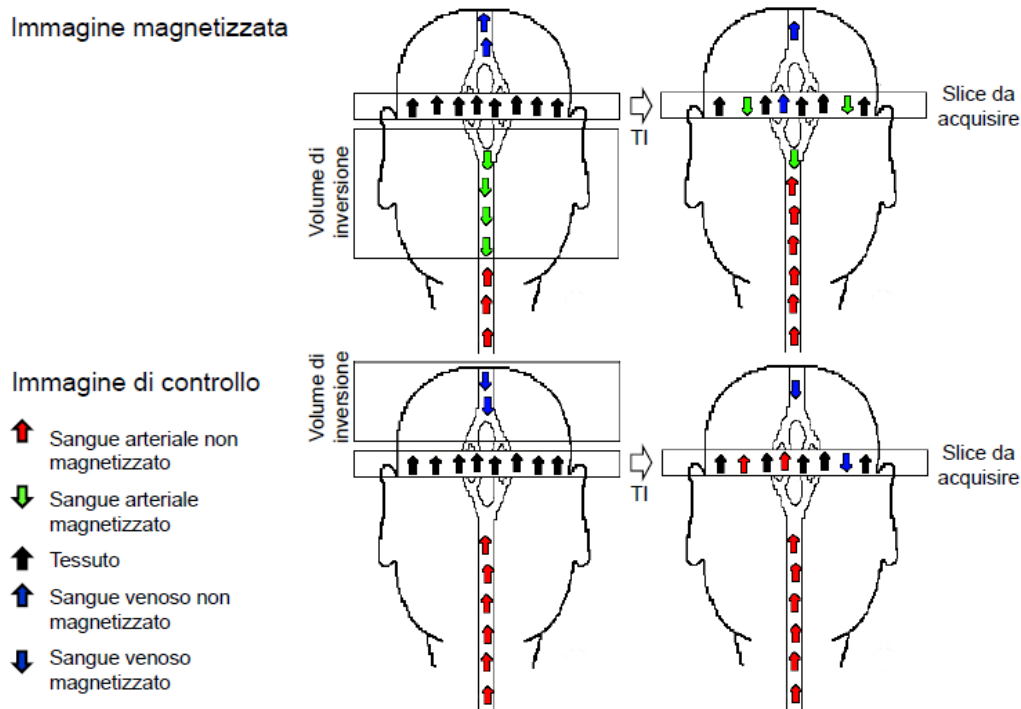


FIG. 1.7. Nel labeling PASL (EPICSTAR), con un impulso di inversione (10-50 ms) viene magnetizzato tutto il sangue contenuto in un volume, detto volume d'inversione. Nello specifico, si osservi l'effetto del sangue arteriale non magnetizzato, del sangue arteriale magnetizzato, del tessuto, del sangue venoso non magnetizzato e del sangue venoso magnetizzato.

Come si può evincere da FIG. 1.8, i contributi maggiormente coinvolti in fase di labeling sono quello arteriale, venoso e tessutale. Il contributo arteriale ha magnetizzazioni differenti nelle immagini magnetizzata e di controllo, e quindi verrà evidenziato nell'immagine differenza. Analogamente, il contributo venoso presenta magnetizzazioni differenti nei due casi ma opposte rispetto a quello arteriale: nell'immagine differenza finale verrà pertanto evidenziato ma con segno opposto rispetto alla componente arteriale. Il tessuto invece mostra lo stesso livello di magnetizzazione nelle due immagini acquisite; tale contributo sarà quindi completamente eliminato con l'applicazione della differenza.



FIG. 1.8. Effetto indotto nell'immagine magnetizzata e nell'immagine di controllo nel labeling PASL (EPICSTAR); è importante sottolineare come contributi magnetizzati o non magnetizzati differenti producano nelle immagini finali risultati nettamente diversificati.

Un'ulteriore tecnica simmetrica è la FAIR. Questa consiste essenzialmente in due impulsi: uno non selettivo, che comprende l'intera regione, e uno selettivo, che produce l'inversione nella sola slice interessata. La natura di questo doppio labeling permette l'acquisizione sia delle immagini di controllo che di quelle di label, dalle quali si otterrà l'immagine pesata in perfusione.

Le tecniche PASL hanno una maggiore efficienza di inversione rispetto alla CASL, ma la qualità dei profili di inversione può risultare comunque imperfetta e introdurre un errore sistematico nella quantificazione di *CBF*. Questa limitazione è stata superata con l'introduzione di un nuovo tipo di sequenze: in breve, queste applicano un impulso di saturazione in un momento specifico, dopo l'impulso di inversione, per definire nettamente i margini di marcatura ed eliminare la distorsione sistemica. La forma e l'ampiezza degli impulsi variano tuttavia da sequenza a sequenza.

Differenze ed analogie delle tecniche CASL e PASL finora analizzate sono riportate in FIG. 1.9 e in FIG. 1.10. In particolare, si presti particolare attenzione alle diverse regioni di tag e di control e agli effetti indotti al sistema vascolare.

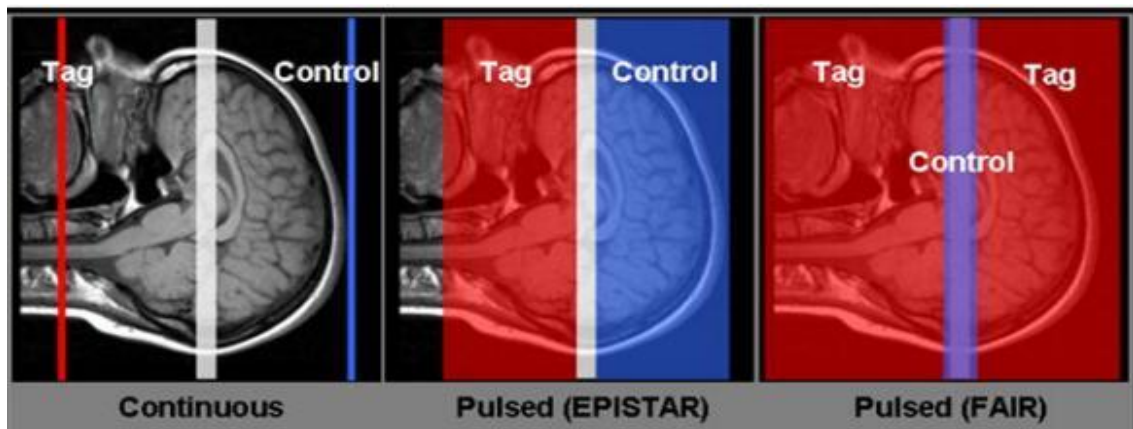


FIG. 1.9. Regioni di tag e di control in sequenze CASL (a sinistra), PASL EPISTAR (al centro) e PASL FAIR (a destra).

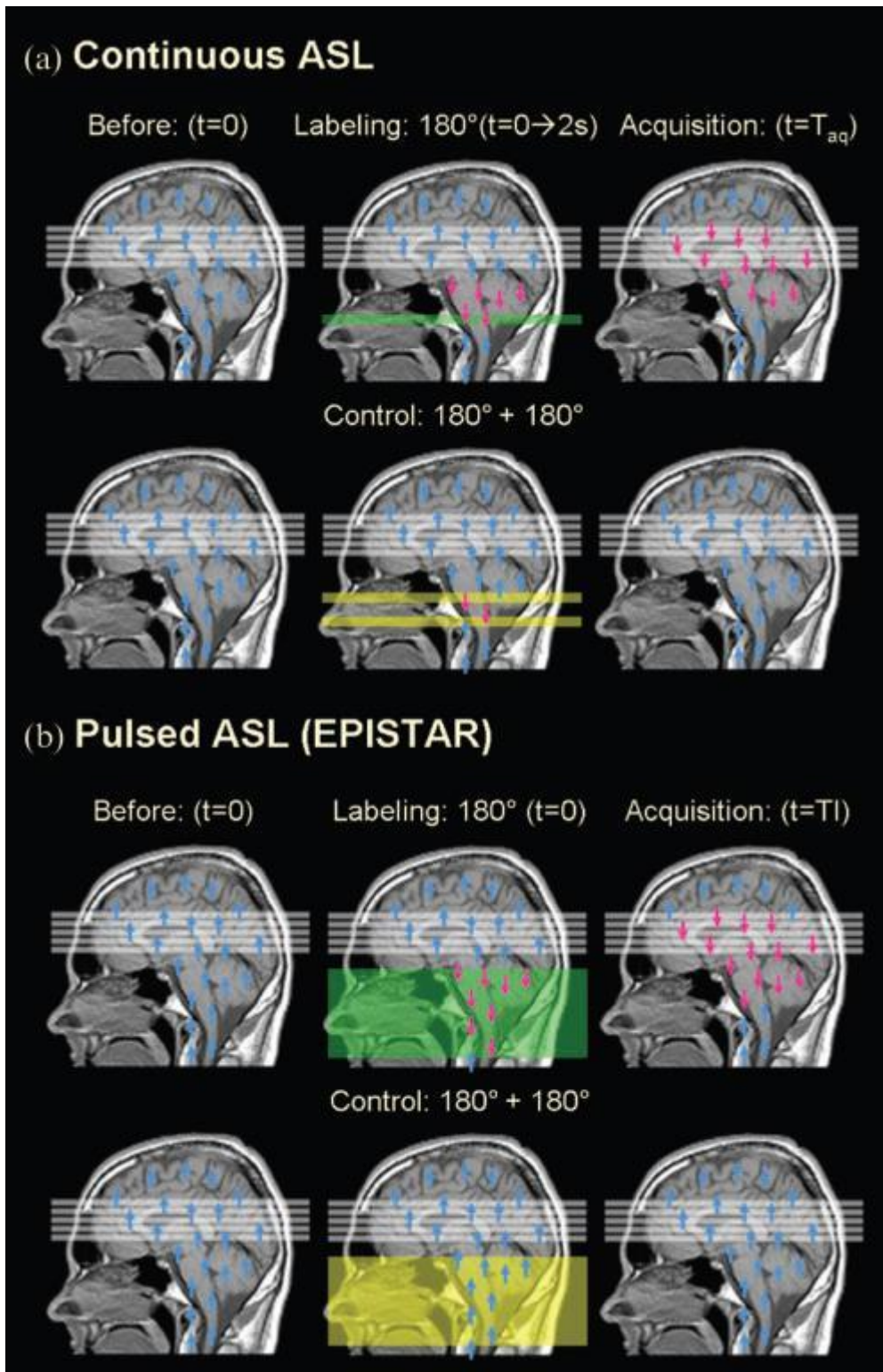


FIG. 1.10. Confronto tra Continuous ASL (a) e Pulsed ASL EPISTAR (b). Per ogni sequenza viene evidenziata una particolare slice di riferimento prima della fase di labeling, al momento della creazione del label e nello step finale di Readout.

- *pseudo-Continuous ASL (pCASL)*

Pseudo-Continuous Arterial Spin Labelling (pCASL) è stata sviluppata per fornire mappe relative alla perfusione cerebrale in modo alternativo rispetto alle tecniche precedentemente descritte. La tecnica pCASL utilizza un treno di impulsi RF brevi applicati ad un piano di inversione, anziché un impulso labeling continuo, per realizzare l'inversione degli spin. Questo è utilizzato in congiunzione con un gradiente di campo sincrono che modifica l'inversione degli spin attraverso impulsi di gradiente addizionali trasversali. A questo segue una veloce fase di Readout in grado di acquisire l'intero volume cerebrale.

Questo sistema, combinato con uno schema di codifica di Hadamard o schemi simili, fa in modo che tutto il sangue nei vasi di interesse sia completamente invertito/rilassato per quasi tutti i cicli di codifica, determinando un aumento rilevante di SNR nelle immagini di perfusione risultanti. Rispetto al labeling PASL, per esempio, l'approccio pCASL mostra un SNR decisamente maggiore (approssimativamente del 50%) e un netto miglioramento nel distinguere la materia grigia dal resto delle componenti presenti (FIG. 1.11). L'efficienza relativa della marcatura viene misurata direttamente dai dati ASL e viene utilizzata nel processo di decodifica per migliorare la separazione tra i differenti distretti vascolari.

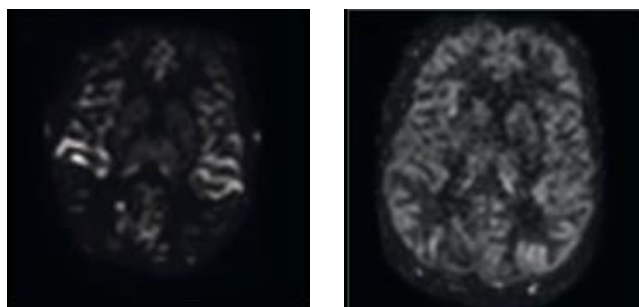


FIG. 1.11. Confronto qualitativo nella visualizzazione della materia grigia (GM) impiegando un labeling PASL (a sinistra) e un labeling pCASL (a destra).

In virtù di tutte le considerazioni elaborate fino a questo punto, non c'è da stupirsi quindi se nell'analisi quantitativa effettuata nel seguito della presente Tesi si è scelto di implementare il labeling pCASL nelle sessioni sperimentali di risonanza magnetica ⁽³⁾.

ASL è uno strumento molto utile per quantificare la variabilità dei parametri emodinamici all'interno di un gruppo di soggetti, così come per confrontare le differenze di un singolo paziente a partire da dati acquisiti in tempistiche diverse. La variabilità intra-soggetto può essere studiata sia variando la scala temporale all'interno della medesima sessione che valutando i possibili cambiamenti che possono avvenire nel corso degli anni ⁽³⁾. In particolare, ASL risulta una metodologia di indagine molto attraente nel caso di bambini e/o soggetti appena nati in quanto, oltre alla sua natura non invasiva già menzionata, permette di esaminare rapidi cambiamenti del flusso e del metabolismo cerebrale nell'arco di pochi mesi.

In virtù delle proprietà finora elencate, Arterial Spin Labelling può essere utilizzata per monitorare gli effetti neurologici di alcuni farmaci, sebbene non sia in grado di separare gli effetti vascolari da quelli neuronali indotti. La stabilità temporale di ASL la rende molto interessante per analizzare i cambiamenti nell'attivazione di precise regioni cerebrali in periodi temporali molto lunghi. Un numero considerevole di funzioni neurali, come la memoria, lo stato emotivo, il sonno e il senso di fame, avvengono però nel giro di pochi minuti: gli studi di attivazione in ambiente ASL, inoltre, potrebbero portare ad una migliore conoscenza di queste funzioni cerebrali e non solo.

Infine, le applicazioni che questa metodologia trova in ambito clinico sono vastissime. A titolo esemplificativo, si pensi ai seguenti casi pratici: l'ictus, causato da un flusso sanguigno insufficiente; la demenza, di cui fanno parte l'Alzheimer e il morbo di Parkinson; i tumori cerebrali, strettamente connessi con l'apporto effettivo di sangue che interessa i diversi distretti tissutali.

1.2 Modelli di quantificazione

I modelli di calcolo sviluppati per la quantificazione di dati ASL sono molteplici: quello generalmente utilizzato è il modello di Buxton, altresì denominato ASL Kinetic Model ⁽⁴⁾. Le mappe parametriche di *CBF* vengono automaticamente generate in fase di post-processing dopo una opportuna correzione per il movimento. Nelle pagine seguenti verrà presentato il segnale ASL di riferimento registrato in risonanza magnetica e le soluzioni modellistiche maggiormente utilizzate per la quantificazione finale delle mappe cercate.

1.2.1 Il segnale ASL

Nelle immagini differenza ASL il valore assunto in ogni voxel rappresenta il flusso del sangue misurato durante la fase di acquisizione. Questo valore, denotato con ΔM , esprime sia il contributo dovuto al comportamento fisiologico del label generato sia tutti i contributi non strettamente connessi al funzionamento fisiologico del cervello [Eq. 1.1]. Sotto l'ipotesi di contributi non fisiologici nulli, il segnale ASL considerato sarà quindi proporzionale alla differenza di magnetizzazione longitudinale dei tessuti, dovuta cioè alla presenza del sangue marcato trasportato dal flusso ai distretti cerebrali. Una delle assunzioni più importanti dei metodi di quantificazione esaminati, infatti, è che la sottrazione tra immagine label e immagine control sia idealmente perfetta, e quindi tutti i contributi dovuti agli errori sistematici introdotti siano nulli.

Il segnale pesato in perfusione prodotto dalle tecniche ASL dipende, oltre che dalla perfusione cerebrale stessa, anche da molteplici altri fattori. A titolo esemplificativo, si pensi al passaggio del sangue magnetizzato all'interno dei grandi vasi che non perfondono i tessuti attraverso cui passano e la distanza tra regione di labeling e regione di imaging. Per una corretta quantificazione dei parametri incogniti è necessario tenere in considerazione tutti questi termini all'interno del modello scelto. In [Eq. 1.2] sono riportati i fattori maggiormente coinvolti nel processo di stima; solitamente, non tutti i parametri sono stimati direttamente dai dati ma possono essere fissati in base ai valori forniti dalla letteratura di riferimento.

$$\Delta M = \Delta M^{fis} + \Delta M^{non-fis} \quad [1.1]$$

$$\Delta M = \Delta M(t, f, T_{1t}, T_{1b}, \alpha, \Delta t, \tau, M_{0b}, \dots) \quad [1.2]$$

con f perfusione cerebrale, Δt ritardo di transito, τ durata del bolo, T_{1t} tempo di rilassamento longitudinale del tessuto, T_{1b} tempo di rilassamento longitudinale del sangue, M_{0b} magnetizzazione all'equilibrio del sangue arteriale.

Accanto alla perfusione cerebrale f vera e propria, un parametro molto importante nelle procedure ASL è il tempo di transito Δt , solitamente denominato Arterial Arrival Time (AAT), Bolus Arrival Time (BAT) oppure Arterial Transit Time (ATT). Δt rappresenta il tempo che impiega il sangue magnetizzato per raggiungere il voxel di destinazione a

partire dal sito di tag. Questo tempo di ritardo risulta necessario, per il bolo creato, per viaggiare attraverso l'intero albero vascolare.

Risulta subito evidente come questo dipenderà da come è stato disegnato l'esperimento e in particolare dalla distanza posta tra le due regioni. Oltre a questo, Δt risulta estremamente variabile all'interno del cervello a seconda dei differenti percorsi che le molecole marcate devono seguire per raggiungere voxel differenti. Tale variabilità fornisce importanti informazioni sullo stato dei vasi sanguigni cerebrali: nel caso di soggetti patologici, Δt sarà pertanto un buon indice della condizione di salute del paziente. Dunque, data la sua elevata variabilità all'interno del cervello ed essendo molto sensibile all'architettura vascolare intrinseca del soggetto analizzato, Δt sarà uno dei parametri maggiormente investigati nei capitoli successivi.

In generale, la dinamica del segnale ASL può essere descritta brevemente dalla FIG. 1.12. Il primo step (in giallo) mostra il tempo necessario al tracciante endogeno per raggiungere il voxel di destinazione; il secondo (in rosso) indica l'ingresso progressivo dello stesso all'interno del voxel; l'ultimo passo (in blu) rappresenta la fuoriuscita del tracciante e il conseguente decadimento dovuto al rilassamento longitudinale T_1 .

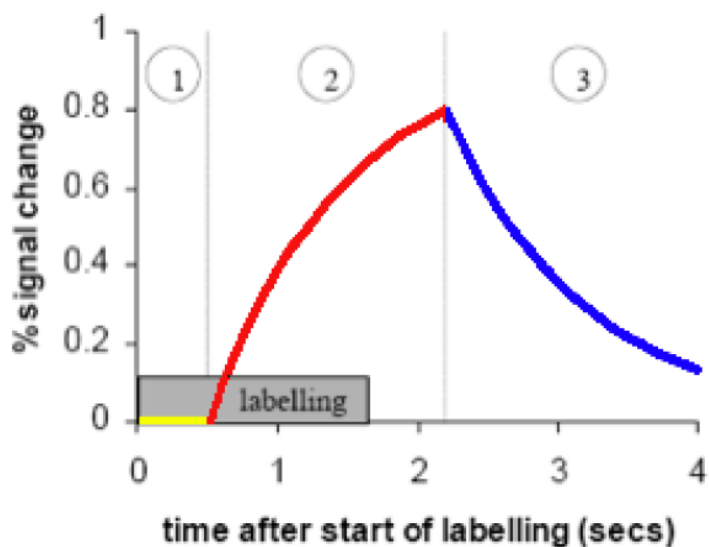


FIG. 1.12. Dinamica del segnale differenza (controllo - marcato).
La variazione del segnale ΔM mostrata è percentuale rispetto alla baseline.

1.2.2 *Quantificazione della perfusione*

Per ottenere misure quantitative di CBF a partire da dati ASL dinamici è necessario un modello dettagliato del processo analizzato che combini cinetica e rilassamento del segnale. In generale, per modellare gli esperimenti ASL sono disponibili due approcci principali, che differiscono tra loro nel modo in cui il segnale relativo all'immagine differenza viene interpretato nella costruzione del modello.

- *Modified Bloch Equation*

ΔM è inteso come una misura della concentrazione degli spin marcati nelle immagini differenza: rappresenta pertanto il segnale misurato in un sistema di compartimenti rappresentanti la distribuzione e lo scambio degli spin delle molecole d'acqua magnetizzate all'interno del voxel. Le equazioni relative ad ogni singolo compartimento sono una versione modificata delle Equazioni di Bloch, in cui si tengono in considerazione i termini connessi agli scambi tra i vari sistemi [Eq. 1.3]. Nel complesso, si avrà una serie molto numerosa di equazioni differenziali ciascuna delle quali riferita allo scambio effettivo del tracciante endogeno all'interno del compartimento in esame.

$$\frac{dM_t(t)}{dt} = \frac{M_{t,0} - M_t(t)}{T_{1t}} + CBF * \left(M_a(t) - \frac{M_t(t)}{\lambda} \right) \quad [1.3]$$

con M_t magnetizzazione del tessuto, $M_{t,0}$ magnetizzazione all'equilibrio, M_a magnetizzazione arteriale, λ coefficiente di ripartizione sangue-tessuto.

- *Tracer kinetics model*

L'approccio standard per modellare il segnale ASL, che verrà impiegato da questo punto in poi, consiste nell'utilizzo di un modello generale della cinetica del tracciante. ΔM viene considerato come la frazione della concentrazione originale del bolo di tracciante che è ancora presente al momento del Readout.

L'esperimento viene descritto come un sistema lineare dove: l'ingresso è la concentrazione arteriale del tracciante; l'uscita è il segnale effettivo misurato ΔM ; la risposta impulsiva è comprensiva di tutti i fenomeni coinvolti nel trasporto e nel conseguente assorbimento.

Il tracer kinetic model deriva direttamente dalla teoria della cinetica dei traccianti: nel contesto ASL, tuttavia, sono necessari alcuni accorgimenti alla teoria generale per adattarla allo specifico tracciante endogeno impiegato. Il bolo magnetizzato è costituito infatti da molecole di acqua appositamente marcate e viene misurato in termini di quantità di magnetizzazione e non in concentrazione. Tale magnetizzazione, misurata in un preciso istante temporale t , oltre ad essere dipendente dalla storia di trasporto arteriale e di estrazione venosa, è dipendente anche dal rilassamento longitudinale. Il segnale acquisito sarà allora dato dalla magnetizzazione totale trasportata all'interno del voxel dal sangue arteriale e ancora presente nel momento della misurazione. I processi fisici appena descritti possono essere interpretati definendo tre funzioni della cinetica del modello, ovvero:

- funzione di trasporto $c(t)$ (delivery function): concentrazione di magnetizzazione arteriale normalizzata arrivata al voxel al tempo t ;
- funzione residuo $r(t,t')$ (residue function): frazione di molecole di acqua marcate arrivate nel voxel al tempo t' e ancora presente nel voxel al tempo t ; questa funzione contiene la maggior parte dei dettagli relativi alla distribuzione e alla cinetica del tracciante;
- funzione di rilassamento della magnetizzazione $m(t,t')$ (magnetization relaxation function): frazione di magnetizzazione longitudinale originale delle molecole marcate al tempo t' e rimasta al tempo t ; questa funzione giustifica il modo alternativo con cui la magnetizzazione lascia il voxel oltre al flusso venoso.

Se nell'intervallo $t-t'$ lo stato fisiologico tessutale non subisce particolari modifiche, $r(t,t')$ e $m(t,t')$ saranno funzioni solamente dell'intervallo $t-t'$ e possono essere annotate semplicemente come $r(t)$ e $m(t)$, dove in questo caso t indica la differenza tra i due stati temporali. Considerando le definizioni introdotte, la quantità di magnetizzazione trasportata in un particolare voxel tra il tempo t' e il tempo $t'+dt$ sarà $2\alpha M_{0b} f c(t') dt'$,

dove f rappresenta la perfusione cerebrale (CBF) e il fattore $2\alpha M_{0b}$ rappresenta la differenza di magnetizzazione arteriale dopo la fase di labeling. La frazione di magnetizzazione che rimane al tempo t è data da $r(t-t')m(t-t')$; la quantità di magnetizzazione al tempo t , $\Delta M(t)$, invece, è data dalla somma di tutti i contributi di magnetizzazione che arrivano al voxel fino a quell'istante [Eq. 1.4].

$$\begin{aligned}\Delta M(t) &= 2\alpha M_{0b} f \int_0^t c(t') r(t-t') m(t-t') dt' \\ &= 2\alpha M_{0b} f \{ c(t) \otimes [r(t)m(t)] \}\end{aligned}\quad [1.4]$$

Riassumendo, il modello generale per ASL deve considerare il ritardo di transito dalla regione tagging al voxel di destinazione, il decadimento della magnetizzazione, il processo di scambio tra vasi e tessuti dell'acqua marcata, l'estrazione venosa e le differenze tra i vari schemi di labeling. Per far questo, risultano indispensabili la conoscenza della delivery function $c(t)$, della residue function $r(t)$ e della magnetization decay function $m(t)$.

1.2.3 Modello di Buxton

Lo standard ASL è quindi un modello della cinetica del tracciante denominato modello di Buxton. Il modello si basa su tre assunzioni chiave ⁽⁴⁾ che corrispondono a tre forme particolari delle funzioni $c(t)$, $r(t)$ e $m(t)$:

- L'arrivo del sangue magnetizzato avviene attraverso un flusso a spinta uniforme; questa ipotesi porta alla definizione puntuale della funzione di trasporto $c(t)$, nella quale il sangue marcato entra nel voxel solo in una precisa finestra temporale definita da Δt , ritardo di arrivo, e τ , durata del bolo. Questi due parametri definiscono quando il processo di perfusione diventa rilevabile attraverso l'esperimento ASL e sono quindi direttamente correlati allo stato fisiologico tessutale. L'ipotesi di flusso a spinta uniforme implica che $c(t)$ sia diverso da zero solamente nell'intervallo $\Delta t < t < \Delta t + \tau$ [Eq. 1.5].

- La cinetica dello scambio di acqua tra tessuti e sangue è descritta da un singolo compartimento: indipendentemente dal numero di comparti che possono esistere all'interno del tessuto, il processo di scambio con questi è così rapido che i loro rapporti di concentrazione restano costanti anche se la concentrazione totale del tessuto è funzione del tempo. Questo significa che la concentrazione totale è uguale alla concentrazione venosa [Eq. 1.6].
- Non appena le molecole marcate raggiungono il voxel tessutale, la loro magnetizzazione diminuisce secondo il tempo di rilassamento del tessuto T_{1t} . Questo implica che l'acqua viene completamente estratta dallo spazio vascolare immediatamente dopo essere arrivata nei tessuti [Eq. 1.7].

$$c(t) = \begin{cases} 0 & t \leq \Delta t \\ \frac{e^{-\frac{t}{T_{1b}}} - e^{-\frac{\Delta t}{T_{1b}}}}{1 - e^{-\frac{\Delta t}{T_{1b}}}} & \Delta t < t \leq \Delta t + \tau \\ 0 & \Delta t + \tau < t \end{cases} \quad [1.5]$$

$$r(t) = e^{-\frac{f}{\lambda}t} \quad [1.6]$$

$$m(t) = e^{-\frac{t}{T_{1t}}} \quad [1.7]$$

È possibile dimostrare che le equazioni descritte per il modello di Buxton portano allo stesso modello sviluppato dalla teoria dei sistemi compartimentali, nei quali si utilizzano le Equazioni di Bloch modificate presentate in [Eq. 1.3].

Una formulazione esplicita per il calcolo del modello a partire da $\Delta M(t)$ può essere ottenuta risolvendo analiticamente l'integrale di convoluzione in [Eq. 1.4] sfruttando le funzioni definite in [Eq. 1.5], [Eq. 1.6] e [Eq. 1.7]. Sebbene l'espressione per il modello possa essere ottenuta per via numerica in tutti i casi presentati, solamente in alcune semplici circostanze è possibile raggiungere una soluzione analitica.

Per semplificare la notazione impiegata ed alleggerire il carico teorico proposto, sono state introdotte le seguenti semplificazioni [Eq. 1.8]:

$$\begin{aligned}
 R_{1t} &= \frac{1}{T_{1t}} \\
 R_{1b} &= \frac{1}{T_{1b}} \\
 R_{1t,app} &= \frac{1}{T_{1t,app}} = R_{1t} + \frac{f}{\lambda} \\
 \delta R &= R_{1b} - R_{1,app}
 \end{aligned}
 \tag{1.8}$$

- Equazioni analitiche PASL

Le tre funzioni della cinetica per il modello standard PASL sono riportate in [Eq. 1.9]. Risolvendo per via analitica l'integrale di convoluzione si ottiene [Eq. 1.10].

$$c(t) = \begin{cases} 0 & t \leq \Delta t \\ e^{-\frac{t}{T_{1b}}} & \Delta t < t \leq \Delta t + \tau \\ 0 & \Delta t + \tau < t \end{cases}
 \tag{1.9}$$

$$\begin{aligned}
 r(t) &= e^{-\frac{f}{\lambda}t} \\
 m(t) &= e^{-\frac{t}{T_{1t}}}
 \end{aligned}$$

Come si può intuire dalle formule qui riportate, la costruzione di una soluzione di tipo analitico risulta particolarmente utile in fase implementativa, in quanto evita la risoluzione del modello tramite convoluzione e quindi velocizza drasticamente la procedura di quantificazione dei parametri.

$$\Delta M(t) = \begin{cases} 0 & t \leq \Delta t \\ 2\alpha M_{0b} f \frac{1}{\delta R} e^{-R_{1b}t} (e^{-\delta R(t-\Delta t)} - 1) & \Delta t \leq t \leq \Delta t + \tau \\ 2\alpha M_{0b} f \frac{1}{\delta R} e^{-R_{1b}t} e^{\delta R(t-\Delta t)} (1 - e^{-\delta R\tau}) & \Delta t + \tau \leq t \end{cases}
 \tag{1.10}$$

- Equazioni analitiche CASL e pCASL

Per ottenere le espressioni per il modello standard nei casi CASL e pCASL è possibile utilizzare la stessa strategia sfruttata in PASL. L'unica differenza è costituita dalla differente descrizione adottata per la delivery function $c(t)$ [Eq. 1.11].

$$c(t) = \begin{cases} 0 & t \leq \Delta t \\ e^{-\frac{\Delta t}{T_{1b}}} & \Delta t < t \leq \Delta t + \tau \\ 0 & \Delta t + \tau < t \end{cases} \quad [1.11]$$

$$r(t) = e^{-\frac{f}{\lambda}t}$$

$$m(t) = e^{-\frac{t}{T_{1t}}}$$

Il modello di Buxton con soluzione analitica nei casi CASL e pCASL può essere quindi riscritto come riportato in [Eq. 1.12]. Questa formulazione risulterà molto utile nella fase di quantificazione effettuata nei capitoli successivi.

$$\Delta M(t) = \begin{cases} 0 & t \leq \Delta t \\ 2\alpha M_{0b} f \frac{1}{R_{1,app}} e^{-R_{1b}\Delta t} (1 - e^{-R_{1,app}(t-\Delta t)}) & \Delta t \leq t \leq \Delta t + \tau \\ 2\alpha M_{0b} f \frac{1}{R_{1,app}} e^{-R_{1b}\Delta t} e^{-R_{1,app}(t-\Delta t)} (e^{R_{1,app}\tau} - 1) & \Delta t + \tau \leq t \end{cases} \quad [1.12]$$

1.2.4 Limitazioni del modello di Buxton

Il modello di Buxton è il risultato di una serie di assunzioni che riguarda essenzialmente le funzioni descrittive la cinetica del tracciante. Il punto debole principale è costituito dall'eccessiva semplificazione adottata nella descrizione dello

scambio del sangue tra vasi e tessuti, a partire dall'ipotesi che considera ogni voxel come un singolo compartimento perfettamente mescolato (*well-mixed*). Una descrizione più realistica del processo di perfusione può essere ottenuta considerando fenomeni come la limitata permeabilità all'acqua dei capillari o il fatto che lo scambio della stessa tra sangue e tessuto non sia immediato.

Un discorso differente vale invece per la funzione $c(t)$. Ipotesi sulla forma di questa funzione cinetica diversa da quelle fatte, assunta semplicemente come un *rect* nel tempo, possono essere introdotte senza dover modificare la struttura a singolo compartimento che contraddistingue il modello standard. Nella realtà, le molecole di acqua magnetizzata raggiungono la regione di imaging seguendo percorsi di varia lunghezza e a diverse velocità. Un approccio più realistico sarebbe dunque quello di modellare $c(t)$ con un forma più regolare che tenga conto della natura statistica del tempo di arrivo: questo risulta possibile introducendo una funzione $k(t)$ che prende il nome di *dispersion kernel*. Definendo $w(t)$ come una tipica funzione box-car shape (non nulla solamente nell'intervallo $\Delta t \leq t \leq \Delta t + \tau$) è possibile riformulare le nuove funzioni arteriali di ingresso come in [Eq. 1.13] e in [Eq. 1.14]. Il concetto di dispersione e di modifica di $c(t)$ verrà discusso ampiamente nei successivi paragrafi.

$$c(t) = e^{-\frac{\Delta t}{T_{1b}}} [w(t) \circledast k(t)] \quad pCASL / CASL \quad [1.13]$$

$$c(t) = e^{-\frac{t}{T_{1b}}} [w(t) \circledast k(t)] \quad PASL \quad [1.14]$$

1.3 Dispersione

Il presupposto fondamentale per quantificare i parametri in ASL è la conoscenza del tempo di arrivo del segnale alla rete capillare di destinazione. Generalmente, però, il classico profilo impiegato non viene quasi mai conservato durante il transito del label nel sistema vascolare. Tale cambiamento del profilo del bolo può essere attribuito a molteplici effetti comunemente denotati con *dispersione* ⁽⁵⁾.

Per studiare questo tipo di fenomeno sono stati sviluppati numerosi modelli matematici, incontrando problematiche molto critiche in fase di validazione. Utilizzando algoritmi

di tipo probabilistico si è cercato quindi di applicare i dati ASL provenienti dalle arterie maggiori ai differenti modelli di dispersione del label indagati.

Nello studio preso in considerazione, utilizzato come linea guida per presentare il problema in questione, verrà scelto come modello di dispersione quello che prevede una convoluzione tra il profilo ideale del label con un appropriato *dispersion kernel*: questo garantisce il migliore fit con i dati sperimentali a disposizione e risulta relativamente semplice da implementare a livello matematico.

1.3.1 *Il fenomeno della dispersione*

In ASL, per stimare *CBF* in modo sufficientemente accurato bisogna valutare una numerosa serie di variabili, come per esempio il tempo di arrivo effettivo del sangue magnetizzato nelle differenti regioni tessutali. Un aspetto molto importante da tenere in considerazione è inoltre la dispersione del bolo nel tempo tra la magnetizzazione del sangue nella regione di labeling e l'arrivo nel sito di misura. Il termine dispersione include quindi sia la distribuzione dei tempi di arrivo a causa del profilo del flusso all'interno delle arterie sia la diffusione delle molecole d'acqua magnetizzate nel sangue.

ASL è in grado di generare un bolo ben definito in una regione molto prossima al sito tessutale di destinazione; nel sito di labeling, il bolo creato assume un profilo ad onda-quadra (box-car). Nonostante questo, la breve distanza che il sangue magnetizzato deve coprire tra regione di labeling e regione di imaging è sufficiente a causare forti deviazioni dal profilo ideale di partenza a causa del tempo effettivo che il bolo stesso impiega. Solitamente *CBF* viene calcolato in seguito all'arrivo del sangue magnetizzato nel letto capillare. In questa fase, si suppone che l'acqua magnetizzata venga coinvolta in uno scambio istantaneo con lo spazio extravascolare (il tessuto è definito come *well-mixed*). In generale questo non è sempre vero, per cui risulta molto difficile separare gli effetti della dispersione del bolo dall'effettivo scambio che avviene nei capillari, rendendo le misure ASL inutilizzabili per la validazione dei modelli proposti.

Tuttavia, il segnale ASL può essere osservato all'interno delle arterie prima di entrare nel tessuto di destinazione: tale componente macrovascolare è generalmente considerata come un elemento di disturbo in fase di quantificazione. In questa sede, l'informazione derivante dal flusso macrovascolare viene sfruttata per generare angiogrammi dinamici ASL-based con una elevata risoluzione temporale. Saranno tali risultati angiografici a permettere la validazione o meno dei vari modelli di dispersione proposti.

1.3.2 *Modelli di dispersione*

- *Ideal AIF*

L'Arterial Input Function (AIF) rappresenta il profilo temporale del label appena raggiunge il sito misurato e dovrà essere opportunamente riferita al profilo originale nella regione di labeling. È lecito supporre che nel momento della creazione del bolo questa sia descritta da un box-car shape ben definito [Eq. 1.15].

$$w(t) = \begin{cases} 0 & t < \Delta t \\ 1 & \Delta t \leq t < \Delta t + \tau \\ 0 & \Delta t + \tau \leq t \end{cases} \quad [1.15]$$

con Δt tempo di arrivo del bolo nella regione di misura, τ durata del bolo magnetizzato. Mentre il label viaggia attraverso il sistema vascolare la sua magnetizzazione decade in modo esponenziale secondo la costante T_{1b} : AIF ideale dovrà quindi tener conto di tale effetto [Eq. 1.16]. In generale, la dispersione del sangue magnetizzato ha importanti effetti di *smoothing* nel profilo complessivo del bolo, modificando in modo marcato le caratteristiche temporali dello stesso.

$$a(t) = m(t) * w(t) = \begin{cases} 0 & t < \Delta t \\ e^{-\frac{t}{T_{1b}}} & \Delta t \leq t < \Delta t + \tau \\ 0 & \Delta t + \tau \leq t \end{cases} \quad [1.16]$$

con $m(t)$ funzione di rilassamento della magnetizzazione, T_{1b} tempo di rilassamento longitudinale del sangue arteriale.

- Gamma-Variate AIF

La forma Gamma-Variate è già stata utilizzata in letteratura sia nel caso di dati di perfusione DSC che nel caso di dati angiografici ASL-based. In questa sede, ne viene indagata una particolare versione parametrica includendo esplicitamente l'effetto del decadimento relativo a T_1 [Eq. 1.17]. Il tutto è stato normalizzato in base all'area sotto la curva, in modo tale che l'area dell'AIF dispersa sia la stessa di quella originale (riferita ad un profilo temporale box-car).

$$a(t) = \begin{cases} 0 & t < \Delta t \\ \tau e^{-\frac{t}{T_{1b}}} * \frac{s^{1-sp}}{\Gamma(1+sp)} * (t - \Delta t)^{sp} * e^{-s(t-\Delta t)} & \Delta t \leq t \end{cases} \quad [1.17]$$

con p tempo di picco della curva (time-to-peak), s "sharpness" della curva, $\Gamma(x)$ funzione gamma valutata in x .

- Dispersion Kernels

In alternativa, la dispersione può essere incorporata direttamente all'interno della definizione di AIF attraverso un dispersion convolution kernel [Eq. 1.18].

$$a(t) = m(t) * [k(t) \otimes w(t)] \quad [1.18]$$

con $k(t)$ kernel di dispersione.

Il primo kernel analizzato prende il nome di gaussian kernel [Eq. 1.19]. In base a questa formulazione, l'AIF risultante prevede che la coda finale del label sia maggiormente dispersa rispetto alla fase di salita [Eq. 1.20]. Sebbene il gaussian kernel fornisca curve molto verosimili, questo può portare talvolta a soluzioni di tipo non-causale. Per ovviare a tale problematica, è stato proposto un differente gaussian kernel nel dominio spaziale del bolo all'interno del sistema vascolare [Eq. 1.21].

$$k(t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} * e^{-\frac{t^2}{2\sigma^2}} \quad [1.19]$$

$$a(t) = \frac{1}{2} \left[\operatorname{erf}\left(\frac{t - \Delta t}{\sqrt{2}\sigma_1}\right) - \operatorname{erf}\left(\frac{t - \Delta t - \tau}{\sqrt{2}\sigma_2}\right) \right] \quad [1.20]$$

$$a(t) = \frac{1}{2} \left[\operatorname{erf}\left(\frac{t - \Delta t}{k\sqrt{t}}\right) - \operatorname{erf}\left(\frac{t - \Delta t - \tau}{k\sqrt{t}}\right) \right] \quad [1.21]$$

con σ SD della distribuzione (misura di dispersione), $\operatorname{erf}(x)$ funzione di errore valutata in x , σ_1 SD riferita a “leading edge”, σ_2 SD riferita a “trailing edge”.

Un ulteriore dispersion kernel studiato è costituito da un gamma kernel shape caratterizzato dai parametri (s,p) ; le formule relative alla variante indagata sono riportate in [Eq. 1.22], [Eq. 1.23] e [Eq. 1.24]. Quando $p = 0$ e $s \rightarrow \infty$ il kernel approssima una funzione *Delta* (dispersione nulla); quando p diventa molto elevato e s molto piccolo, invece, il livello di dispersione aumenta progressivamente. AIF risultante fornisce solamente soluzioni causali e mostra un profilo distorto molto simile alla distribuzione del flusso attesa in base alle conoscenze fisiologiche.

$$k(t) = \frac{s^{1+sp}}{\Gamma(1+sp)} * t^{sp} * e^{-st} \quad [1.22]$$

$$a(t) = \begin{cases} 0 & t < \Delta t \\ 1 - Q(1+sp, s(t - \Delta t)) & \Delta t \leq t < \Delta t + \tau \\ Q(1+sp, s(t - \Delta t - \tau)) - Q(1+sp, s(t - \Delta t)) & \Delta t + \tau \leq t \end{cases} \quad [1.23]$$

$$Q(x, y) = \frac{1}{\Gamma(x)} \int_y^\infty e^{-t} t^{y-1} dt \quad [1.24]$$

con s “sharpness” del kernel, p tempo di picco (time-to-peak), $Q(x, y)$ integrale gamma incompleto o funzione gamma regolarizzata.

- Laminar Flow Model

Nella seguente alternativa vengono modellati gli effetti del flusso laminare del label ASL supponendo che il bolo magnetizzato passi attraverso un vaso sanguigno cilindrico ideale. La dispersione può essere caratterizzata attraverso due semplici parametri, x/V_m e X/V_m , a seconda della posizione della regione di labeling e della regione di imaging.

$$a(t) = \begin{cases} 0 & 0 < t \leq \frac{x}{V_m} \\ 1 - \frac{x}{V_m t} & \frac{x}{V_m} < t \leq \frac{X+x}{V_m} \\ \frac{X}{V_m t} & \frac{X+x}{V_m} < t \end{cases} \quad [1.25]$$

con unità di $X(m)$ dimensione della regione di labeling, unità di $x(m)$ distanza tra il sito di labeling e il sito di misura, V_m velocità di flusso media all'interno del vaso.

1.3.3 Metodi di indagine

Le acquisizioni angiografiche ASL ottenute in risonanza magnetica sono state utilizzate per calcolare il valore dei parametri incogniti nei modelli di dispersione di seguito elencati. I dataset a disposizione includono, per consentire una maggiore applicabilità futura della metodologia oggetto dell'analisi, sia soggetti sani che soggetti malati. Il fit dei modelli è stato realizzato sfruttando un metodo probabilistico non

lineare, permettendo così di includere nel processo di stima delle informazioni a priori per i parametri cercati.

- ✓ None: modello standard senza dispersione [Eq. 1.15]
- ✓ GVF: modello Gamma-Variate Function [Eq. 1.17]
- ✓ Laminar: modello per il flusso laminare [Eq. 1.25]
- ✓ Gaussian: gaussian dispersion kernel [Eq. 1.20]
- ✓ M-gaussian: Modified gaussian dispersion kernel [Eq. 1.21]
- ✓ Gamma: Gamma dispersion kernel [Eq. 1.23]

I modelli sono stati confrontati tra loro utilizzando la negative Free Energy (FE) del fit ottenuto in ciascun voxel. La FE di un modello rappresenta una sorta di *trade-off* tra l'accuratezza rispetto ai dati sperimentali e il minor numero di parametri da stimare: più FE è prossima allo zero e meglio il modello corrispettivo sarà in grado di descrivere in modo esaustivo i dati a disposizione.

Le cinque ROI (Region Of Interest) di riferimento sono state definite manualmente in posizioni cerebrali ben definite (FIG. 1.13). Per ciascuna di queste, in base al modello selezionato, sono stati calcolati il valore medio di FE e dei parametri di dispersione.

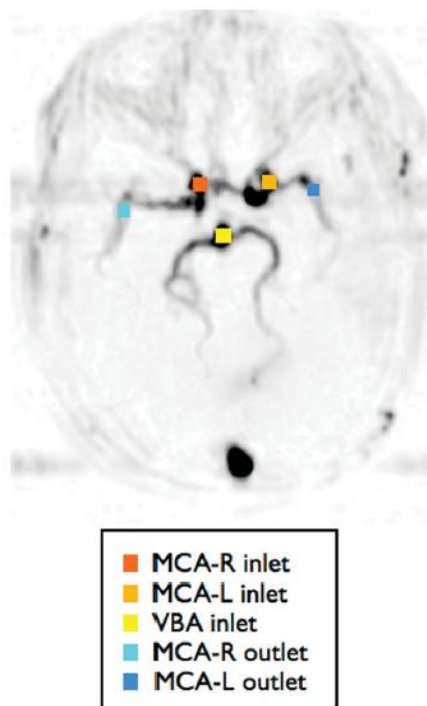


FIG. 1.13. Definizione delle cinque ROI esaminate: inlets e outlets di Middle Cerebral Artery (MCA) sinistra e destra; inlet di Vertebrobasilar Artery (VBA). A queste si sovrappone l'immagine di aBV utilizzando il modello senza dispersione.

1.3.4 Risultati e discussione

Analizzando voxel significativi all'interno delle *ROI* studiate si osserva come tutti i modelli di dispersione fittino in modo molto plausibile i dati sperimentali; tra questi, i modelli dispersion kernel producono serie temporali molto simili e accurate. In tutte le *ROI* considerate i modelli che includono il fenomeno della dispersione producono una *FE* inferiore, quindi un fit dei dati migliore, rispetto al caso ideale che non la considera. In particolare, i modelli dispersion kernel producono la *FE* più bassa in assoluto. La FIG. 1.14 mostra i valori medi dei parametri di dispersione per le cinque *ROI* e per i sei modelli analizzati. Nella stessa, sono inoltre segnalati gli aumenti ritenuti significativi in *ROI* inlet e outlet corrispondenti (calcolati con un *one-tailed paired t-test*, $P = 0.05$). Un aumento del generico parametro stimato è indice di un maggior livello di dispersione.

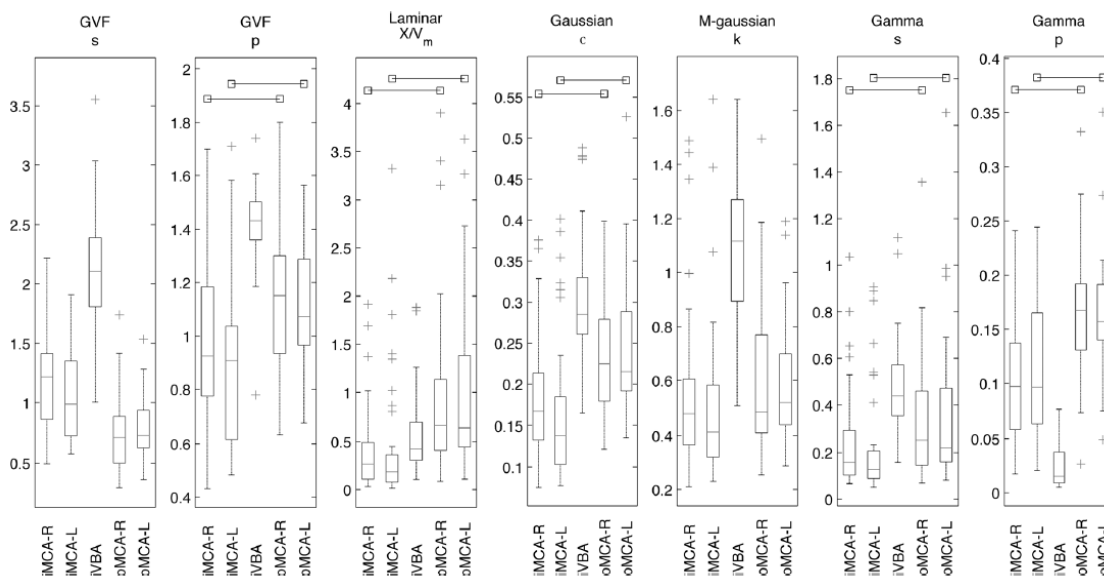


FIG. 1.14. Parametri di dispersione medi all'interno delle *ROI* analizzate per i differenti modelli studiati. I box-plot indicano la mediana, il 25-esimo e il 75-esimo percentile all'interno del box, i valori estremi stimati non considerati come outlier, gli outlier identificati con [+]. Sono inoltre riportate le differenze significative tra inlet *ROI* e outlet *ROI*.

Ciascuno dei dispersion kernel presi in considerazione mostra una forte aderenza del fit ottenuto con i dati sperimentali. In particolare, tra questi, gamma kernel e M-gaussian kernel offrono la migliore rappresentazione dell'asimmetria riscontrabile in vivo, fattore molto importante soprattutto in casi patologici. Considerando il valore relativamente

basso di SNR dei dati ASL, è preferibile scegliere un modello semplice caratterizzato da un numero esiguo di parametri da stimare; a questo si aggiunge una formulazione matematica facile da implementare e un costo computazionale limitato. Per tutti questi motivi la scelta del gamma kernel appare decisamente adatta per gli obiettivi proposti, data la notevole flessibilità dei parametri indagati e l'inclusione della dispersione all'interno del kernel stesso.

La maggiore applicabilità dei modelli di dispersione elencati è la stima finale di *CBF*: studi precedenti indicano una notevole sottostima della perfusione con l'utilizzo del modello standard Ideal AIF. L'idea di base, portata avanti nella successiva analisi, è quella di includere la dispersione all'interno del modello complessivo formulato permettendo il conseguimento di stime più accurate nonché maggiormente realistiche.

1.4 Componente macrovascolare

Arterial Spin Labelling costituisce una metodologia non invasiva molto affidabile per quantificare la perfusione cerebrale. Una potenziale sorgente di errore nei dati ASL è il segnale proveniente dal contributo macrovascolare destinato ai tessuti più lontani. Tale componente viene generalmente soppressa utilizzando gradienti bipolari in molteplici sequenze ASL, portando però a complesse problematiche in fase di pre-processing (come la scelta della velocità di cut-off e la direzionalità del gradiente applicato). Un approccio alternativo prevede di descrivere in modo esplicito questo contributo attraverso l'utilizzo di un particolare modello, in grado di valutare solamente i voxel in cui tale componente aggiuntiva sia effettivamente presente ⁽⁶⁾.

1.4.1 *Il problema macrovascolare*

Il segnale ASL può essere contaminato dalla presenza di sangue magnetizzato, destinato alle regioni più distanti, a livello arteriale: la componente macrovascolare è molto significativa soprattutto vicino alle arterie maggiori, come per esempio l'Arteria Cerebrale Media (MCA).

Un aspetto negativo, derivante dall'inclusione di una componente macrovascolare all'interno nel modello, è costituito dal fatto che a causa della stima di parametri extra associati a quest'ultima i valori di perfusione possono risentire notevolmente nel processo di quantificazione finale. In particolare, sembra ragionevole supporre che solamente in un numero limitato di voxel il contributo risulti effettivamente significativo: in assenza del segnale relativo alla parte macrovascolare, la rispettiva componente all'interno del modello fitterebbe in modo errato il rumore di misura e/o solamente una frazione del segnale globale.

Considerando quanto detto, il modello di riferimento dovrà includere sia la componente tessutale che la componente macrovascolare, utilizzando se possibile informazioni a priori nella procedura di stima per regolarizzare i valori finali trovati. L'utilizzo di un approccio multicomponente come quello proposto costituirà una valida alternativa ai gradienti di soppressione del flusso per la rimozione degli artefatti macrovascolari.

1.4.2 *Voxelwise model*

In voxel contenenti le arterie maggiori, il segnale relativo alle molecole d'acqua magnetizzate macrovascolari rappresenta il transito del bolo marcato nei voxel stessi. Questo può essere descritto come [Eq. 1.26]:

$$\Delta M_{art}(t) = \begin{cases} 0 & t < \Delta t_a \\ 2 * \alpha * M_{0a} * e^{-\frac{\Delta t_a}{T_{1a}}} * aBV & \Delta t_a \leq t \leq \Delta t_a + \tau_a \\ 0 & \Delta t_a + \tau_a < t \end{cases} \quad [1.26]$$

con aBV frazione di volume del sangue arteriale (arterial Blood Volume), Δt_a tempo di arrivo del bolo arteriale, τ_a durata del bolo arteriale.

Tale modello assume che le pareti dei vasi sanguigni siano completamente impermeabili e che il sangue arteriale magnetizzato passi istantaneamente nel voxel. Δt_a relativo alla componente macrovascolare è significativamente più piccolo rispetto al tempo di

transito tessutale, in quanto il bolo presente nelle arterie maggiori si presume sia destinato ad aree cerebrali più distanti. Il segnale complessivo proveniente da ogni singolo voxel sarà quindi il risultato della somma della componente tessutale, descritta dal modello di Buxton, e della componente macrovascolare appena presentata.

1.4.3 *Stima dei parametri, prior e processing*

Per descrivere in modo completo ed esaustivo il procedimento di quantificazione relativo alla componente macrovascolare è stato preso come riferimento un caso pratico derivante dalla letteratura. Nel caso citato, la stima parametrica è stata realizzata sfruttando un approccio probabilistico per modelli non lineari, basato sul Teorema di Bayes e sulla definizione di una distribuzione di probabilità a posteriori. Con questo tipo di risoluzione, infatti, è possibile includere informazioni a priori dei parametri basate su conoscenze fisiologiche universalmente note e condivise.

Nella maggior parte dei voxel, il segnale non contiene il contributo derivante dalla parte macrovascolare: il fit extra di questa componente in voxel puramente tessutali può causare forti errori in fase di quantificazione. Per ovviare a tale problema, mantenendo un costo computazionale relativamente contenuto, si preferisce ricorrere a procedure automatiche di determinazione dei prior. Fissando il valor medio a zero e considerando la varianza come ulteriore parametro da stimare, analizzando i risultati ottenuti in corrispondenza della varianza stessa è possibile capire l'entità del segnale macrovascolare e quindi controllare il numero delle componenti nel modello complessivo da utilizzare.

Per testare l'affidabilità del modello a due componenti è stato scelto come riferimento un gruppo di soggetti giovani sani. Tuttavia, per esaminare l'applicabilità dello stesso in casi più critici, ai dataset di studio è stato aggiunto un gruppo di pazienti affetti da stenosi carotidea sinistra.

A tutti i dati ASL è stato sottoposto uno *smoothing* gaussiano con un *three-dimensional isotropic gaussian kernel* per migliorarne la risoluzione spaziale. Inoltre, per correggere possibili artefatti da movimento, le immagini provenienti da scan relativi a soppressioni

del flusso differenti sono state allineate con le stesse provenienti da scan non soppressi. I risultati finali sono stati infine registrati ad uno spazio standard di reference (*Montreal Neurological Institute template MNI152, 2 mm isotropic*).

1.4.4 *Risultati e discussione*

In FIG. 1.15 sono riportati i confronti, relativi ad un soggetto, di dataset rispettivamente con e senza soppressione del flusso. Le analisi di NS(T+IV) e di FS(T) producono mappe di *CBF* molto simili, indice di una rimozione efficace della componente macrovascolare, anche se appaiono evidenti alcune differenze. Analizzando più attentamente i dati a disposizione, infatti, si evince come i gradienti di soppressione non siano in grado di rimuovere il contributo indesiderato del segnale come il modello a due componenti. Tale risultato è confermato analizzando le mappe di FS(T+IV): le mappe di perfusione cerebrale sono consistenti con quelle trovate in NS(T+IV), così come quelle relative ad *aBV* anche se contraddistinte da una magnetizzazione ridotta. Con l'inclusione del contributo macrovascolare, esaminando le mappe di *CBF* appare chiaro come le discrepanze con NS(T+IV) siano drasticamente ridotte.

La FIG. 1.16 mostra l'andamento temporale dei dati registrati per un voxel rappresentativo della parte macrovascolare e per un voxel composto prevalentemente da materia grigia. Nel primo, è possibile notare un segnale arteriale molto veloce soprattutto nei punti iniziali seguito dal contributo tessutale; nel secondo si identifica invece solamente il segnale tessutale atteso.

Anche i risultati relativi ai differenti dataset considerati confermano le aspettative iniziali. Nel caso di pazienti sani, le mappe per *aBV* riflettono in modo significativo regioni cerebrali corrispondenti alle arterie maggiori, come MCA e il circolo di Willis. Nel caso di pazienti affetti da stenosi carotidea sinistra, invece, i valori di arterial Blood Volume rispecchiano l'asimmetria caratteristica della malattia in questione.

Una diminuzione nei valori di *aBV* trovati indica un aumento della gravità della stenosi, e quindi una diminuzione progressiva dell'apporto di sangue nelle regioni relative alle arterie maggiori.

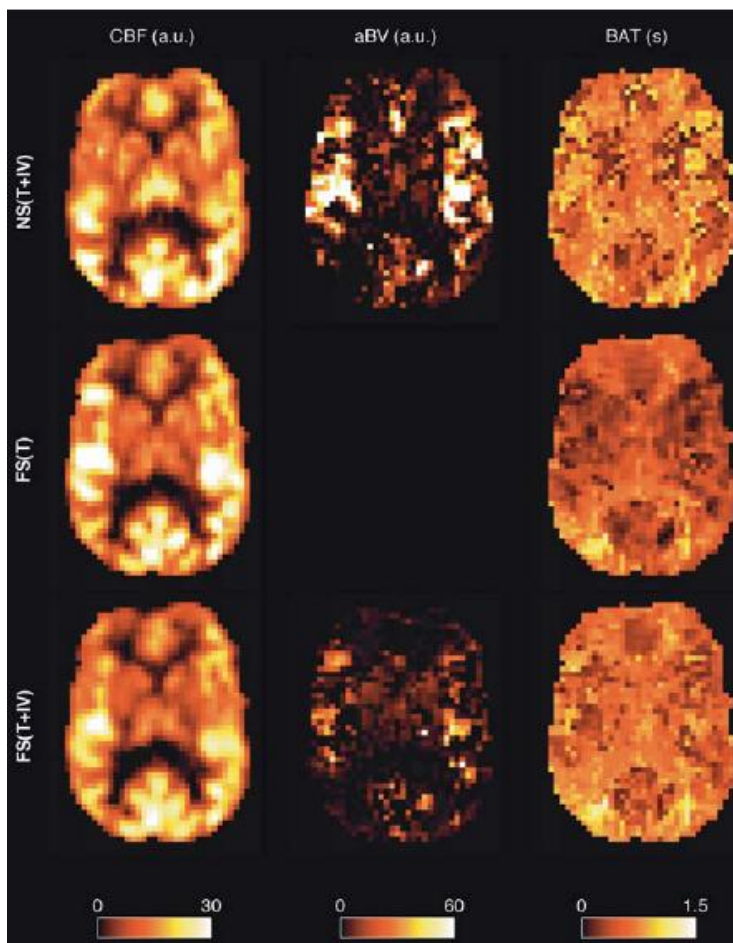


FIG. 1.15. Confronto di dati ASL con e senza soppressione del flusso, realizzato per un singolo soggetto in una slice assiale passante per MCA. In alto, no soppressione del flusso, modello tessutale e macrovascolare; al centro, soppressione del flusso, sola componente tessutale; in basso, soppressione del flusso, modello tessutale e macrovascolare.

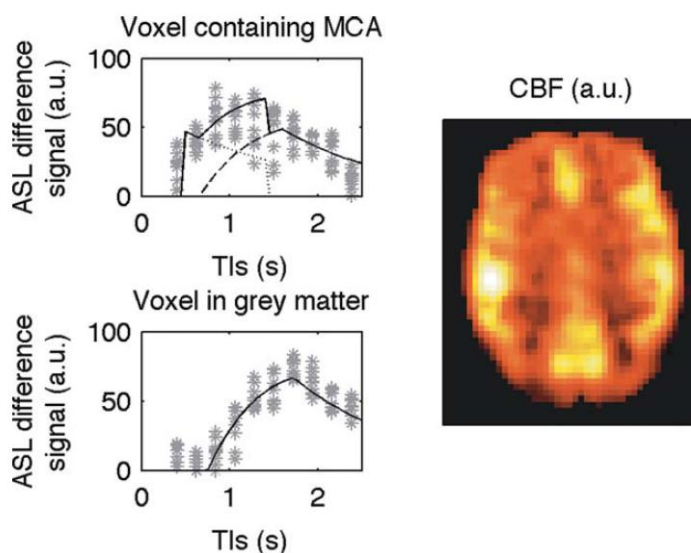


FIG. 1.16. Esempio di applicazione del modello a due componenti in un voxel contenente la componente macrovascolare nella regione di MCA (Middle Cerebral Artery) e in un voxel costituito prevalentemente da GM (Grey Matter).

I fit realizzati utilizzando la componente macrovascolare aggiuntiva e la soppressione del flusso mostrano una rimozione del segnale in regioni simili all'interno delle immagini ASL. L'approccio modellistico multicomponente porta ad una rimozione del segnale maggiore, da cui valori di CBF nettamente inferiori. Ottimi risultati si riscontrano inoltre confrontando i dati angiografici corrispondenti alle arterie maggiori con le distribuzioni spaziali delle stime di aBV .

Nello studio in esame è stata adottata una cinetica a livello modellistico relativamente semplice: per migliorare l'accuratezza nonché l'aderenza con la fisiologia cerebrale è possibile incorporare all'interno del modello, in entrambe le sue componenti costituenti, il fenomeno della dispersione. Con la dispersione è possibile evidenziare un netto cambiamento del profilo ideale del bolo magnetizzato, il quale necessariamente non conserverà la classica forma ad onda-quadra nel tempo.

Operando in un contesto di questo tipo risulta pertanto possibile isolare il contributo puramente macrovascolare ed ottenere un segnale libero da tale contaminazione. Adottando un approccio modellistico multicomponente, in modo alternativo alle tecniche standard di soppressione del flusso, si riuscirà quindi a risalire ai parametri di perfusione in modo molto più efficiente.

2 Time-Encoded pCASL

La misurazione della perfusione fornisce importanti informazioni diagnostiche sullo stato di salute e sulla funzionalità del cervello. Arterial Spin Labelling è una tecnica totalmente non invasiva per misurare la perfusione cerebrale e, oltre a questa, può offrire altre informazioni dinamiche come Arterial Transit Time (ATT), Δt . Tali informazioni costituiscono un contributo conoscitivo complementare particolarmente utile qualora la perfusione venga alterata in casi patologici.

Dal momento che il segnale utile registrato in risonanza magnetica rappresenta solamente il 2-5%, l'aspetto più critico nell'imaging ASL è senza dubbio l'SNR. Nel corso degli ultimi anni molteplici varianti sono state sviluppate: una di queste, la pseudo-Continuous ASL (pCASL), è quella che fornisce immagini più precise ed accurate, anche se, per contro, non consente di includere il calcolo di Δt nella procedura di quantificazione standard. Recentemente è stato introdotto un nuovo approccio di tipo Time-Encoded, in grado di combinare l'SNR sufficientemente elevato della pCASL con il calcolo di informazioni dinamiche ulteriori come Δt ⁽⁷⁾.

Nel presente capitolo si intende esporre la TE-pCASL oggetto principale della Tesi di Laurea, mostrandone le fasi principali di cui si compone, punti di forza, punti critici e proprietà peculiari.

2.1 Principi base

La TE-pCASL rappresenta un'alternativa del tutto innovativa per la quantificazione dei parametri emodinamici in ambiente imaging di risonanza magnetica. Sebbene i modelli di quantificazione utilizzati siano sostanzialmente gli stessi adottati in ambito ASL, primo tra tutti il modello di Buxton, il segnale di riferimento a cui verranno sottoposti i dati sperimentali risulta assolutamente differente.

L'idea di base consiste nel dividere l'intero bolo magnetizzato in differenti piccoli sub-boli ciascuno dei quali caratterizzato da uno specifico PLD. Nel caso in esame,

implementato nei capitoli successivi sia per quanto riguarda le simulazioni che per l'analisi dei dati reali a disposizione, sono state acquisite 12 immagini ognuna delle quali preceduta da una specifica sequenza temporale di periodo di labeling e di periodo di control. Le immagini pesate in perfusione cercate, relative all'effetto dei singoli sub-boli, sono ricostruite utilizzando lo schema di Hadamard impiegato durante la codifica dei dati. Per la precisione, in base al particolare schema di encoding costruito, ciascuno degli 11 sub-boli è composto da 6 stati labeling e da 6 stati control. Le 12 immagini acquisite saranno alla fine opportunamente combinate in modo tale che, per ogni singolo sub-bolo, dalla differenza di 6 immagini control e 6 immagini label sia possibile ricavare i dati pesati in perfusione desiderati.

In altre parole, le 12 immagini registrate possono essere combinate tra loro in modo differente per ricostruire una nuova immagine proporzionale a CBF , relativa a ciascuno degli 11 sub-boli definiti da un particolare PLD. Per tutte e 11 le ricostruzioni, applicando lo schema di decoding per il sub-bolo i -esimo, il contributo dei rimanenti 10 sub-boli si elimina (segnale netto nullo). In questo modo, quindi, è possibile ricavare 11 immagini ognuna delle quali esplicitamente dipendente dal sub-bolo considerato.

Utilizzando un approccio pCASL tradizionale (FIG. 2.1), per ottenere le stesse informazioni in termini di dati sperimentali sarebbero necessarie invece $12*11 = 132$ acquisizioni (con 6 immagini control e 6 immagini label, il tutto per 11 sub-boli), contro le 12 impiegate nella TE-pCASL appena presentata ⁽⁸⁾.

Riassumendo, sfruttando un accorgimento di questo tipo, l'encoding dei dati e il successivo decoding degli stessi permette un parziale miglioramento dell'SNR finale risultante. Oltre a questo, il tempo di acquisizione globale rispetto all'approccio pCASL tradizionale si riduce drasticamente, consentendo per esempio di inserire nell'esame di risonanza magnetica metodi diagnostici aggiuntivi.

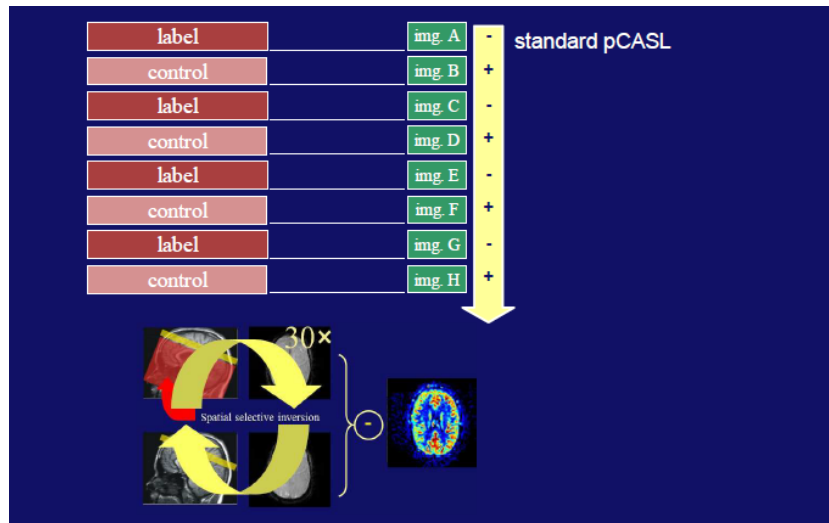


FIG. 2.1. Implementazione della sequenza pCASL tradizionale. A seconda del periodo di label o di control impiegato l'immagine i-esima verrà sottratta/sommata; per aumentare la consistenza dei dati il tutto viene ripetuto molte volte così da aumentare l'SNR complessivo.

A titolo di esempio, in FIG. 2.2 è mostrata la fase di decodifica del sub-bolo #1, il più vicino all'istante di Readout, utilizzando una matrice di Hadamard $N=8$. Attraverso la combinazione delle 8 immagini registrate [Eq. 2.1], grazie alle proprietà della matrice costruita elencate in seguito, è possibile isolare il contributo del solo sub-bolo indagato, garantendo almeno in via teorica un segnale netto nullo per i rimanenti 7 sub-boli.

$$\Delta M (sub - bolo \#1) = - imageA + imageB + imageC - imageD + imageE - imageF - imageG + imageH \quad [2.1]$$

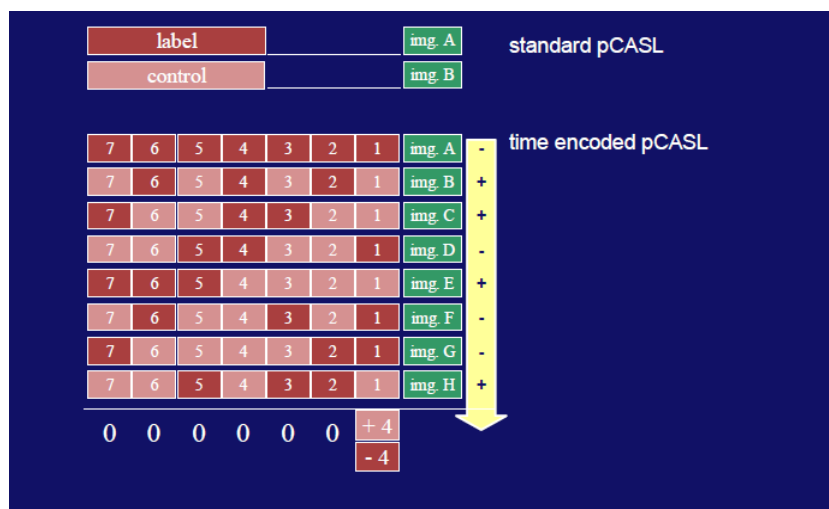


FIG. 2.2. Valutazione del sub-bolo #1 (Hadamard $N=8$) e confronto con la pCASL tradizionale.

2.2 Processing dei dati

A livello clinico, i parametri maggiormente indagati sono senza dubbio CBF e Δt . In particolare, Δt fornisce valori quantitativi molto importanti dal punto di vista informativo, come nel caso di soggetti patologici, e permette la realizzazione di mappe in grado di delineare precisi distretti cerebrali nonché la qualità dell'effettivo rifornimento di sangue negli stessi. L'approccio sviluppato in questa sede combina le straordinarie proprietà del labeling pCASL con la possibilità di recupero di informazioni relative ad Δt .

2.2.1 Fasi di encoding/decoding

Come detto, l'encoding si basa sulla divisione del labeling in blocchi e sull'applicazione di una Hadamard Matrix che determina se il sub-bolo considerato è in fase di label oppure in fase di control. Nel post-processing, la stessa matrice verrà applicata per determinare se le immagini dovranno essere sommate oppure sottratte. Quando il segnale di perfusione viene calcolato per un particolare PLD, il contributo di blocchi con un PLD differente sarà cancellato dall'operazione di sottrazione. Esistono tuttavia differenti tipologie di encoding: la conoscenza dello schema utilizzato risulta pertanto indispensabile per una corretta analisi dei dati sperimentali ⁽⁹⁾.

La FIG. 2.3 chiarisce quanto detto fino a questo punto. La decodifica studiata è quella relativa al sub-bolo #7, il più distante temporalmente dall'istante di acquisizione, per una Hadamard Matrix $N=8$. Dallo schema dedotto dalla prima colonna della matrice stessa [Eq. 2.2] è possibile ricostruire i dati pesati in perfusione da utilizzare in fase di quantificazione per un bolo caratterizzato da un PLD specifico. Lo stesso procedimento dovrà essere impiegato, analogamente, per tutti i rimanenti sub-boli: durante la procedura di stima bisogna comunque prestare molta attenzione nel riferire i tempi di ritardo corretti ai rispettivi blocchi costruiti.

$$\begin{aligned} \Delta M (sub - bolo \#7) = & - imageA + imageB - imageC + imageD \\ & - imageE + imageF - imageG + imageH \end{aligned} \quad [2.2]$$

7	6	5	4	3	2	1	img. A	1	img. A
7	6	5	4	3	2	1	img. B	1	img. B
7	6	5	4	3	2	1	img. C	1	img. C
7	6	5	4	3	2	1	img. D	1	img. D
7	6	5	4	3	2	1	img. E	1	img. E
7	6	5	4	3	2	1	img. F	1	img. F
7	6	5	4	3	2	1	img. G	1	img. G
7	6	5	4	3	2	1	img. H	1	img. H

7	6	5	4	3	2	1	img. A	2	img. A
7	6	5	4	3	2	1	img. B	2	img. B
7	6	5	4	3	2	1	img. C	2	img. C
7	6	5	4	3	2	1	img. D	2	img. D
7	6	5	4	3	2	1	img. E	2	img. E
7	6	5	4	3	2	1	img. F	2	img. F
7	6	5	4	3	2	1	img. G	2	img. G
7	6	5	4	3	2	1	img. H	2	img. H

7	6	5	4	3	2	1	img. A	3	img. A
7	6	5	4	3	2	1	img. B	3	img. B
7	6	5	4	3	2	1	img. C	3	img. C
7	6	5	4	3	2	1	img. D	3	img. D
7	6	5	4	3	2	1	img. E	3	img. E
7	6	5	4	3	2	1	img. F	3	img. F
7	6	5	4	3	2	1	img. G	3	img. G
7	6	5	4	3	2	1	img. H	3	img. H

7	6	5	4	3	2	1	img. A	4	img. A
7	6	5	4	3	2	1	img. B	4	img. B
7	6	5	4	3	2	1	img. C	4	img. C
7	6	5	4	3	2	1	img. D	4	img. D
7	6	5	4	3	2	1	img. E	4	img. E
7	6	5	4	3	2	1	img. F	4	img. F
7	6	5	4	3	2	1	img. G	4	img. G
7	6	5	4	3	2	1	img. H	4	img. H

7	6	5	4	3	2	1	img. A	5	img. A
7	6	5	4	3	2	1	img. B	5	img. B
7	6	5	4	3	2	1	img. C	5	img. C
7	6	5	4	3	2	1	img. D	5	img. D
7	6	5	4	3	2	1	img. E	5	img. E
7	6	5	4	3	2	1	img. F	5	img. F
7	6	5	4	3	2	1	img. G	5	img. G
7	6	5	4	3	2	1	img. H	5	img. H



FIG. 2.3. Valutazione del sub-bolo #7 (Hadamard $N=8$) e applicazione dello schema di decoding a tutti i blocchi componenti la matrice di Hadamard.

2.2.2 Matrici di Hadamard

In generale, una matrice di Hadamard H_n di ordine n è una matrice contenente esclusivamente 1 e -1 tale che il prodotto con la sua trasposta sia una matrice con valori n sulla diagonale e 0 altrove [Eq. 2.3]. In una matrice di Hadamard le righe sono mutuamente ortogonali, ovvero il loro prodotto scalare è nullo: ciò vuol dire che ogni coppia di righe diverse rappresenta due vettori perpendicolari. Inoltre, l'ordine di una matrice di Hadamard può essere solamente 1, 2 oppure un multiplo di 4.

Un metodo semplice per costruire una matrice di ordine $2n$ a partire da una matrice H di ordine n è descritto in [Eq. 2.4]: partendo dalla matrice di ordine 2 è possibile costruire matrici di ordine 2^n e dimostrare quindi che le matrici di Hadamard sono infinite.

$$H_n H_n^T = nI \quad [2.3]$$

$$\begin{bmatrix} H & H \\ H & -H \end{bmatrix} \quad [2.4]$$

Una matrice di Hadamard può essere normalizzata scambiando righe e colonne e invertendo i segni lungo righe e colonne, in modo tale da avere tutti 1 nella prima riga e nella prima colonna. In una matrice normalizzata, in ogni riga (colonna), tranne la prima, gli elementi hanno per metà segno positivo e per metà negativo e due righe (colonne) qualsiasi, sempre escludendo la prima, hanno metà dei valori 1 e metà dei valori -1 nella stessa posizione. Queste caratteristiche risulteranno significativamente utili per le fasi di encoding/decoding nell'implementazione della TE-pCASL.

Alcune delle proprietà più interessanti delle matrici di Hadamard possono essere così riassunte: due righe (colonne) qualsiasi differiscono in metà dei valori in caselle corrispondenti, caratterizzate cioè dallo stesso indice; una matrice di Hadamard di ordine n contiene esattamente $n(n - 1)/2$ volte un valore e $n(n + 1)/2$ volte quello di segno opposto; permutando righe o colonne o moltiplicando una riga o una colonna per -1 si ottiene un'altra matrice di Hadamard, considerata equivalente a quella originale; le matrici di Hadamard simmetriche e con somme lungo righe e colonne uguali, dette *regolari*, hanno ordine della forma $4m^2$ e somma di ogni riga e colonna uguale a $2m$ oppure a $-2m$.

2.3 Casi di studio

Gli obiettivi degli studi finora condotti in ambito TE-pCASL riguardano essenzialmente: (i) la potenziale perdita di segnale cambiando le condizioni di labeling; (ii) gli effetti prodotti variando la durata dei blocchi di encoding; (iii) i benefici derivanti dall'introduzione di blocchi addizionali rispetto al labeling pCASL tradizionale. Per fare questo sono stati condotti sia simulazioni al computer che esperimenti in vivo analizzando in particolare: (i) le proprietà del bolo generato; (ii) l'effetto del segnale globale prodotto dividendo il periodo di labeling in blocchi; (iii) applicazioni in vivo della TE-pCASL implementando tre differenti varianti temporali. Il primo metodo, denotato TE-pCASL_{fix}, è caratterizzato da una durata dei singoli blocchi costante. Nel secondo, TE-pCASL_{adj}, la durata dei sub-boli è stata opportunamente corretta per compensare il decadimento secondo il tempo di rilassamento T_1 del label. Il terzo e ultimo approccio, infine, è costruito in modo tale da

sfruttare il PLD della sequenza pCASL tradizionale inserendo blocchi di encoding al fine di misurare Δt : la durata del primo blocco sarà quindi equivalente a quella impiegata nella procedura standard, mentre i rimanenti saranno equamente distribuiti fino all'istante di Readout. Sfruttando la metodologia TE-pCASL_{FL}, "Free Lunch", le informazioni di Δt avranno un SNR pari alle mappe di perfusione CBF costruite.

I risultati ottenuti sono stati confrontati con le tecniche standard ASL come il labeling pCASL e il labeling QUASAR, in termini sia di temporal SNR (tSNR) che di mappe per CBF e Δt ⁽¹⁰⁾.

2.3.1 Metodologia applicata

i. Proprietà del bolo generato

I singoli blocchi utilizzati nella TE-pCASL hanno una durata di labeling di molto inferiore rispetto a quelli solitamente impiegati nella pCASL. Dal momento che il processo di inversione della magnetizzazione longitudinale M_Z non è istantaneo, i confini che delineano i differenti stati di labeling possono essere soggetti a fenomeni di *blurring*. Oltre a questo, la quantità di label prodotto può diminuire in modo non proporzionale con la durata del labeling stesso quando la durata del blocco analizzato è troppo corta per permettere il raggiungimento del massimo dell'inversione. Per studiare tali effetti sono state condotte simulazioni in Matlab a partire dalle equazioni di Bloch, esaminando l'evoluzione di M_Z nel tempo e nello spazio. Il profilo di inversione M_Z , caratterizzato dall'ampiezza della banda di transizione, è stato utilizzato come indice per indagare la nitidezza dei bordi dei vari blocchi.

Date le numerose velocità del flusso sanguigno presenti a livello cerebrale, le simulazioni sono state ripetute per velocità di 4-40 cm/s con un passo di 2 cm/s. A causa della relazione lineare con il numero di spin che attraversano il piano di inversione, non c'è quindi da stupirsi che differenti velocità di flusso possano influire notevolmente sulla quantità di sangue marcato generato. Tali velocità, inoltre, sono strettamente dipendenti dal ciclo cardiaco: per tenere in considerazione tutti questi elementi, il segnale ASL creato è stata misurato per durate di labeling crescenti, con e senza

l'applicazione di un trigger cardiaco. Il trigger cardiaco è un sistema di sincronizzazione molto diffuso in risonanza magnetica rivolto alla realizzazione di immagini, in distretti direttamente o indirettamente coinvolti dalla pulsazione cardiaca, in assenza di artefatti da movimento. Tale sistema può essere utilizzato, per esempio, per lo studio diretto delle strutture cardiache, per ridurre o eliminare la pulsazione vasale in distretti periferici oppure per eliminare artefatti da flusso lento liquorale indirettamente correlati alla pulsazione cardiaca, come nel caso del rachide (struttura avente la funzione di sostegno della testa e del tronco e di protezione del midollo spinale).

Analogamente, le stesse indagini quantitative sono state condotte nel caso pCASL in vivo. A partire dalle immagini acquisite è stato calcolato e successivamente plottato nel tempo il segnale medio relativo a voxel corrispondenti a *LICA* (Left Internal Carotid Artery); di questo, inoltre, sono stati ricavati il valore di picco, *FWHM* (Full Width at Half Maximum) e *AUC* (Area Under the Curve).

ii. Divisione del periodo di labeling in blocchi

Simulazioni ed esperimenti in vivo sono stati inoltre condotti dividendo il periodo di labeling in due blocchi: la FIG. 2.4.a) mostra in tutto quattro tipi di encoding differenti, rispettivamente *CC*, *LL*, *LC* e *CL*. Questo risulta particolarmente utile per investigare quanto il segnale prodotto da un particolare blocco risenta dalla condizione del blocco precedente e se il cambiamento control/label (oppure label/control) conduca alla perdita di segnale. La sottrazione $CC - LL$ corrisponde all'approccio pCASL tradizionale. Le sottrazioni $CC - LC$ e $CC - CL$, invece, rappresentano i sub-boli prodotti dal primo e dal secondo blocco, rispettivamente. Lo schema di post-processing $2*CC - LC - CL$ considera la somma dell'effetto dei sub-boli e verrà denotato con "summed blocks": se non sono presenti perdite di transizione, teoricamente questo contributo dovrebbe essere equivalente all'approccio convenzionale $CC - LL$.

Le simulazioni sono state ripetute per durate di labeling in un range di 15-2500 ms e per velocità di 5-45 cm/s con un passo di 5 cm/s. Lo schema proposto è stato condotto inoltre in esperimenti in vivo, calcolando il segnale corrispondente a *LICA* e valutando il segnale "summed sub-boli" confrontato con quello relativo all'intero bolo marcato.

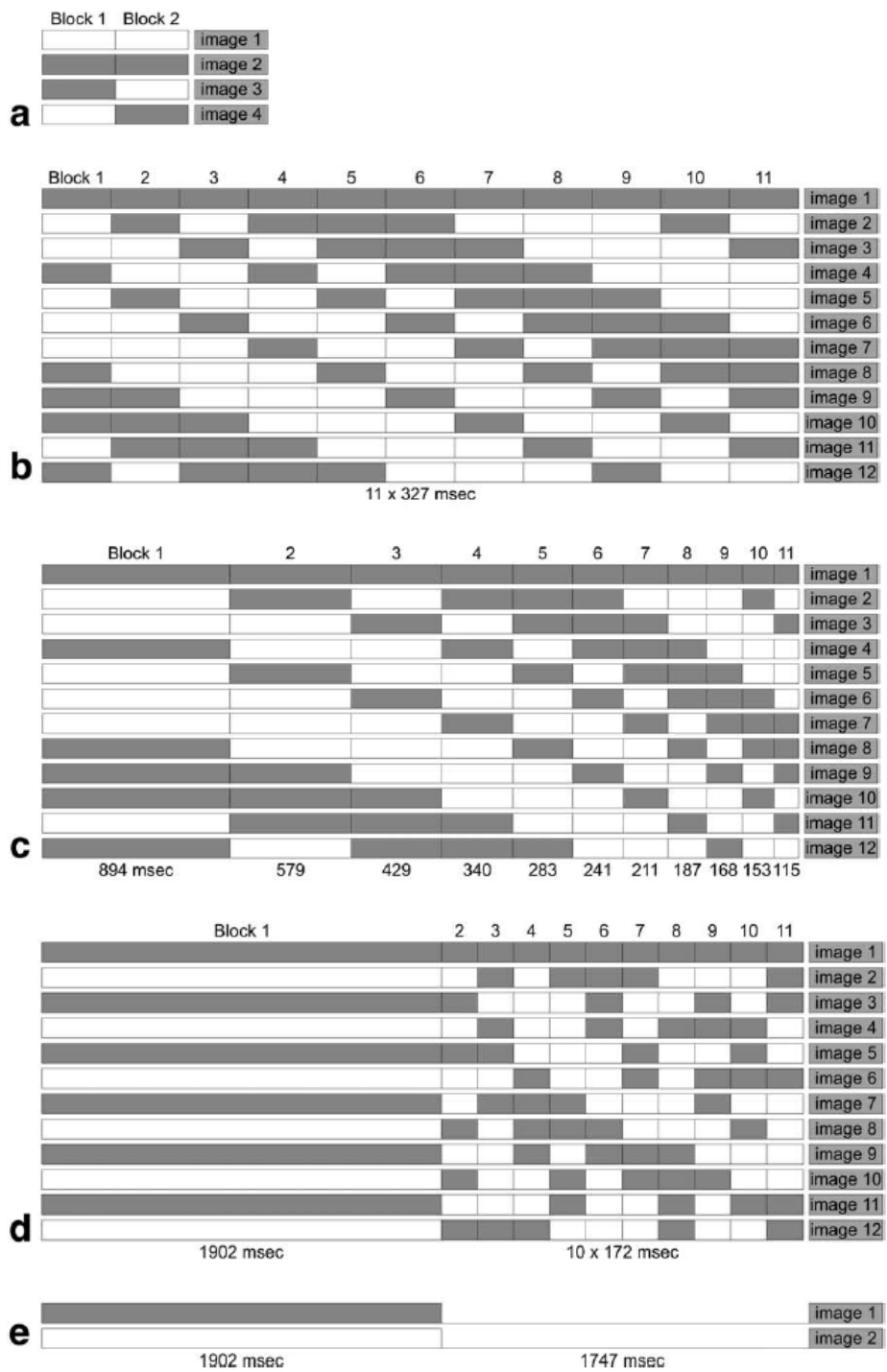


FIG. 2.4. a) Schema di encoding per misurare una variazione singola nei blocchi; b) TE-pCASL_{fix}: blocchi di durata fissa (Hadamard $N=12$); c) TE-pCASL_{adj}: blocchi di durata variabile per compensare il T_1 -decay; d) TE-pCASL_{FL-alt1}: sfrutta il tempo PLD non utilizzato in pCASL tradizionale per acquisire informazioni su Δt (con un ri-arrangiamento delle righe per costruire il blocco #1); e) Standard pCASL (reference).

I numeri sotto ogni colonna rappresentano la durata del relativo blocco in ms.

La condizione label è indicata con [•] mentre la condizione control con [◻].

iii. TE-pCASL in vivo

Per l'encoding temporale dei dati è stato applicato uno schema Hadamard $N=12$, composto da 12 acquisizioni complessive ognuna delle quali suddivisa in 11 blocchi, il tutto ripetuto 9 volte per aumentare l'SNR finale (per un totale di 108 acquisizioni per scan). In TE-pCASL_{fix}, mostrata in FIG. 2.4.b), la durata dei blocchi è fissata a 327 ms con un tempo globale di labeling pari a 3597 ms e un ritardo tra labeling e imaging di 49 ms. Nella TE-pCASL_{adj}, per il calcolo della distribuzione dei tempi è stato posto un rilassamento pari a $T_1 = 1665$ ms, in modo tale che l'integrale nel tempo di M_Z risulti uguale per tutti i blocchi. In riferimento a FIG. 2.4.c), le durate ricavate per i sub-boli sono rispettivamente 894, 579, 429, 340, 283, 241, 211, 187, 168, 153 e 115 ms, con un labeling complessivo di 3600 ms e un PLD minimo di 49 ms. Infine, nel caso TE-pCASL_{FL}, il PLD minimo scelto è pari a 27 ms, mentre la durata del primo blocco è pari a 1902 ms seguito da 10 blocchi equamente distribuiti di lunghezza 172 ms. Questo tipo di scan è stato implementato due volte: nella prima, TE-pCASL_{FL_alt1}, confrontata successivamente con pCASL tradizionale, le linee di encoding sono state ordinate in modo tale che la condizione di labeling del primo blocco alterni tra due acquisizioni consecutive, come evidenziato in FIG. 2.4.d); nella seconda, TE-pCASL_{FL}, l'ordine delle righe segue quanto mostrato in FIG. 2.4.b) e FIG. 2.4.c). Il confronto di TE-pCASL_{FL_alt1} con TE-pCASL_{FL} permetterà la valutazione dell'influenza dell'ordine della fase di labeling sul risultato finale.

Per valutare le performance di CBF e di $tSNR$ è stata sviluppata una metodologia pCASL standard caratterizzata da una durata di labeling pari a 1902 ms e un PLD pari a 1747 ms, per un totale di 108 acquisizioni comprendenti 54 coppie control/label. Il labeling proposto è riportato in FIG. 2.4.e). Le mappe di riferimento per Δt , invece, sono state acquisite con una sequenza QUASAR composta da 10 fasi globali, a intervalli di 250 ms, e da un ritardo di 100 ms.

Per ridurre possibili errori derivanti dalle operazioni di sottrazione, i dati grezzi sono stati corretti per il movimento utilizzando FSL. Mentre per la pCASL tradizionale le sottrazioni sono state eseguite per coppie di immagini corrispondenti, nel caso della TE-pCASL è stata applicata la matrice di Hadamard relativa riportata in FIG. 2.4. Per garantire un confronto significativo tra le metodologie appena proposte, in particolare

con pCASL, le immagini di perfusione calcolate per i blocchi 1-6 di TE-pCASL_{fix} e per i blocchi 1-3 di TE-pCASL_{adj} sono state infine sommate, garantendo durate relative dei sub-boli decisamente più simili. Tutte le mappe cerebrali ottenute, per CBF e per Δt , sono state alla fine registrate ad uno spazio di reference standard (*Montreal Neurological Institute template, MNI*) mediante l'utilizzo di FSL.

2.3.2 Risultati e discussione

i. Proprietà del bolo generato

Dalle simulazioni emerge come la transizione control/label avvenga principalmente al centro del piano di inversione, come indicato in FIG. 2.5.a). Per indagare invece la durata minima del sub-bolo richiesta per consentire la massima inversione di M_Z bisogna considerare esplicitamente l'evoluzione temporale della magnetizzazione: in particolare, la FIG. 2.5.b) mostra come l'inversione diventi più ripida all'aumentare della velocità del flusso. Risultati più interessanti sono evidenziati in FIG. 2.5.c). La diminuzione dell'ampiezza della banda di transizione, in funzione della velocità, scende al di sotto dei 50 ms per velocità maggiori di 20 cm/s.

Un esempio dei profili del bolo marcato relativi alla regione di riferimento considerata, *LICA*, sono riportati per un singolo soggetto in FIG. 2.6.a,b), rispettivamente senza e con trigger cardiaco. Con l'applicazione del trigger, il profilo arteriale diventa progressivamente più pronunciato: questo è confermato anche da un aumento del valore di picco, in FIG. 2.6.c), e da una ridotta $FWHM$, in FIG. 2.6.d). Tuttavia, nonostante l'evidente influenza del profilo specifico esaminato, il trigger cardiaco non modifica la quantità di label prodotta. In un range di 20-200 ms, la durata di labeling mostra una proporzionalità di tipo lineare con il quantitativo di bolo marcato generato sia nel caso di scan senza trigger che nel caso di scan con trigger; tale risultato appare decisamente evidente in FIG. 2.6.e).

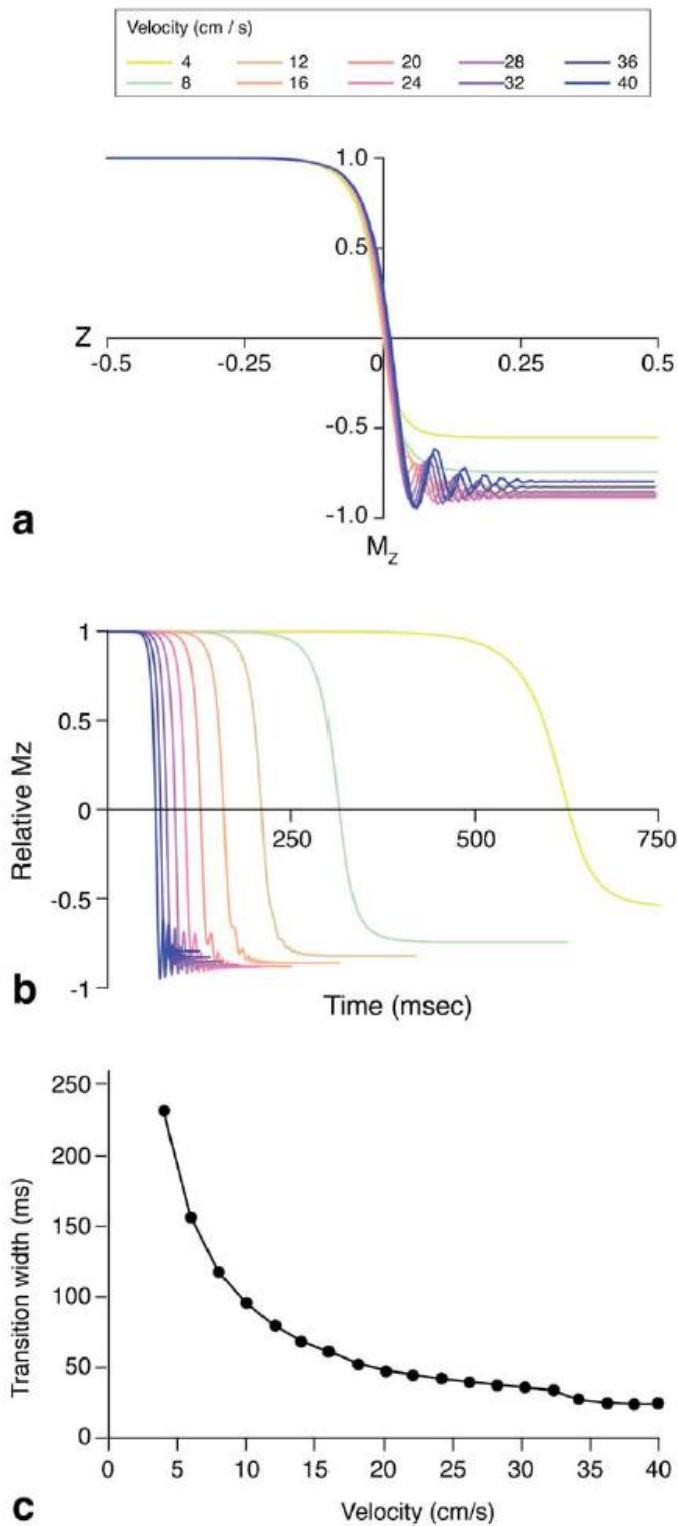


FIG. 2.5. Risultati di simulazioni per l'inversione di M_z al variare della velocità del flusso.

- a) Evoluzione di M_z lungo l'intero percorso attraverso il piano di labeling;
- b) Processo analogo osservato nel tempo: le transizioni procedono più velocemente all'aumentare della velocità scelta;
- c) Il tempo necessario per raggiungere il massimo di inversione è ridotto per velocità del flusso molto elevate e scende al di sotto dei 50 ms per velocità > 20 cm/s.

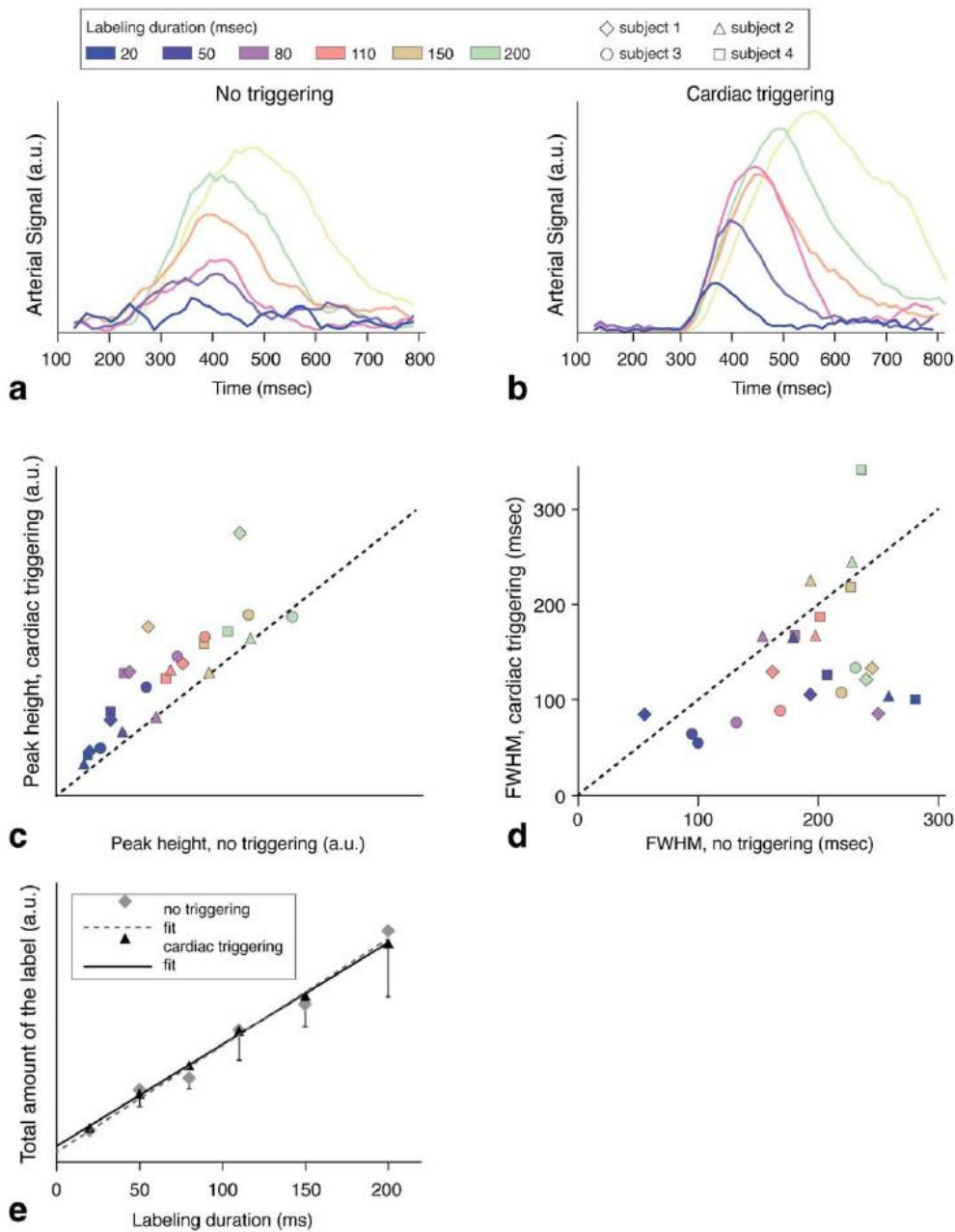


FIG. 2.6. a,b) Segnale arteriale durante il passaggio del bolo dopo un labeling di 20-200 ms, rispettivamente senza e con il trigger cardiaco; c) Aumento del valore di picco con il trigger cardiaco; d) Riduzione di *FWHM* con il trigger cardiaco; e) La quantità di label non sembra variare con l'applicazione del trigger, mostrando una relazione lineare tra la durata di labeling e il quantitativo dello stesso prodotto.

ii. Divisione del periodo di labeling in blocchi

Le simulazioni mostrano differenze molto piccole tra la quantità di label prodotto con l'applicazione di un unico lungo periodo di labeling piuttosto che con la somma dei risultati di sub-boli in seguito alla divisione del labeling in due blocchi.

Qualche discrepanza tra i due metodi è osservabile per velocità del flusso ridotte in combinazione con durate dei blocchi < 50 ms: come evidenziato in FIG. 2.7.a), questo avviene probabilmente a causa di un processo di inversione di M_Z non regolare.

I risultati ottenuti in esperimenti in vivo, invece, sono riportati in FIG. 2.7.b). Il segnale cumulativo, ottenuto dai cosiddetti “summed sub-boli”, mostra somiglianze molto forti con quello misurato da acquisizioni pCASL standard per tutte le durate dei blocchi indagate nel processo.

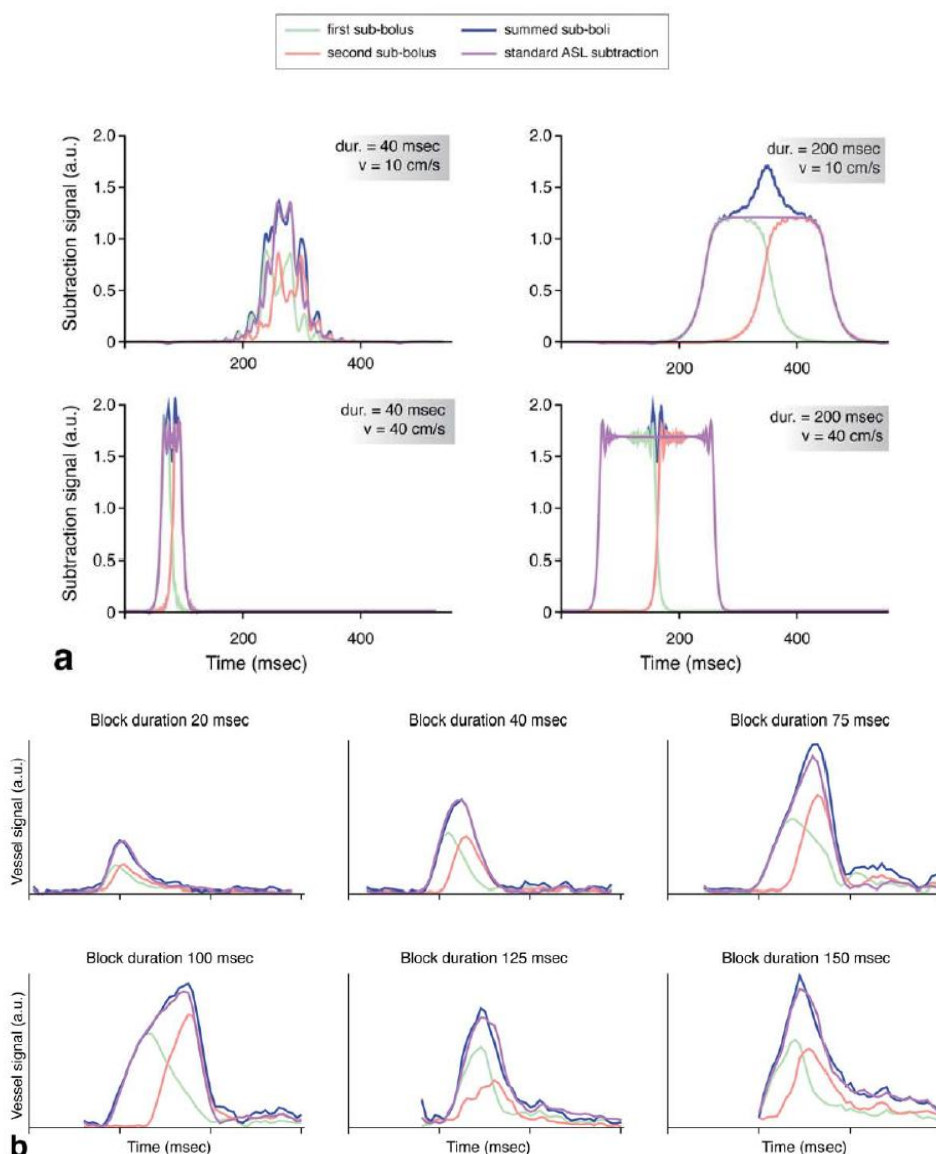


FIG. 2.7. Risultati per esperimenti pCASL dividendo il periodo di labeling in due blocchi. a) Simulazioni del segnale ASL per differenti velocità del flusso (10 cm/s in alto, 40 cm/s in basso) combinate con differenti durate dei blocchi (40 ms a sinistra, 200 ms a destra): profili irregolari si riscontrano per basse velocità in combinazione con durate di labeling ridotte; b) I dati in vivo mostrano ottime concordanze tra ASL standard e “summed sub-boli” per tutte le durate analizzate.

iii. TE-pCASL in vivo

Un esempio particolarmente significativo dell'effetto dei sub-boli ottenuti a partire dalla matrice di Hadamard è riportato in FIG. 2.8.a), dove è possibile riconoscere l'arrivo del bolo marcato nelle grandi arterie e la conseguente distribuzione dello stesso nell'albero vascolare e nel tessuto cerebrale. Nelle immagini TE-pCASL_{fix} si assiste alla diminuzione del segnale tessutale nel tempo a causa del T₁-decay, mentre nel caso TE-pCASL_{adj} tale fenomeno non è presente. Inoltre, TE-pCASL_{adj} fornisce dati sperimentali molto più informativi per quanto riguarda il segnale arteriale, permettendo un campionamento più fitto della curva di Δt .

La FIG. 2.8.b) riporta una media delle mappe di Δt ottenute in cinque soggetti. I risultati nei casi TE-pCASL_{adj} e QUASAR sono molto simili tra loro, sia in termini quantitativi che a livello di distribuzione; anche con la metodologia TE-pCASL_{fix} i risultati sono relativamente vicini ai precedenti, sebbene alcuni valori anomali siano comunque presenti.

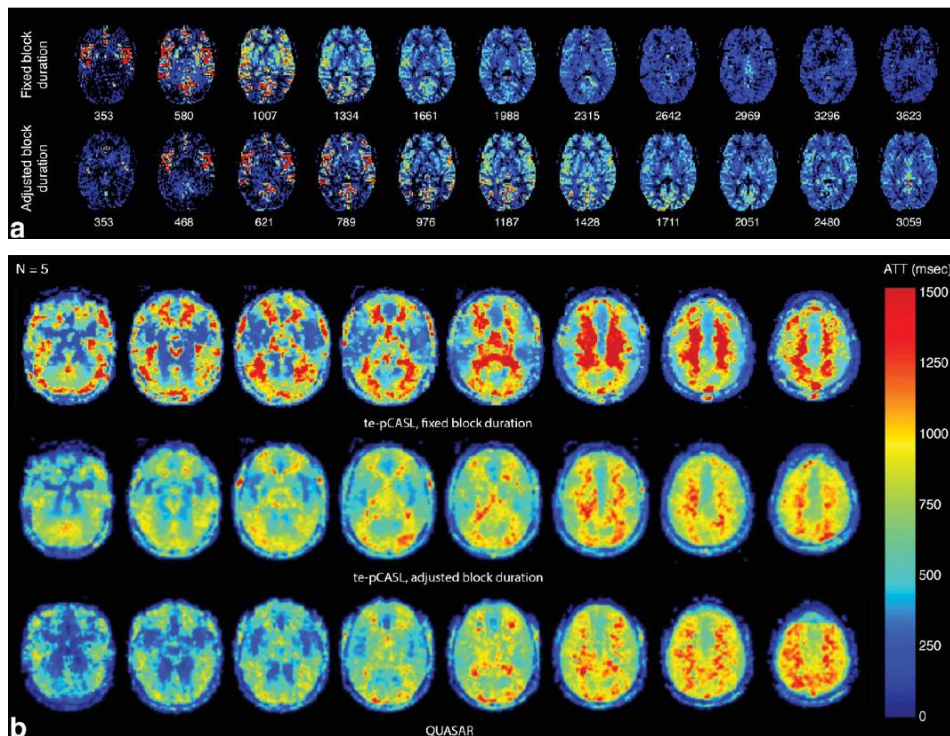


FIG. 2.8. a) Mappe di perfusione per punti consecutivi per TE-pCASL_{fix} (in alto) e per TE-pCASL_{adj} (in basso) in un singolo volontario. I numeri riportati sotto ad ogni mappa rappresentano i PLD in ms; b) Le mappe di Δt per TE-pCASL_{fix}, TE-pCASL_{adj} e QUASAR mostrano distribuzioni molto simili in tutte le metodologie, con alcuni valori anomali per regioni cerebrali caratterizzate da Δt molto elevati in TE-pCASL_{fix}.

Un esempio, invece, dei risultati ottenuti implementando la TE-pCASL_{FL} è mostrato in FIG. 2.9. Le mappe relative a Δt evidenziano valori e distribuzioni spaziali molto simili a quelli già riscontrati in letteratura, con una netta definizione di importanti aree cerebrali come la materia bianca (WM).

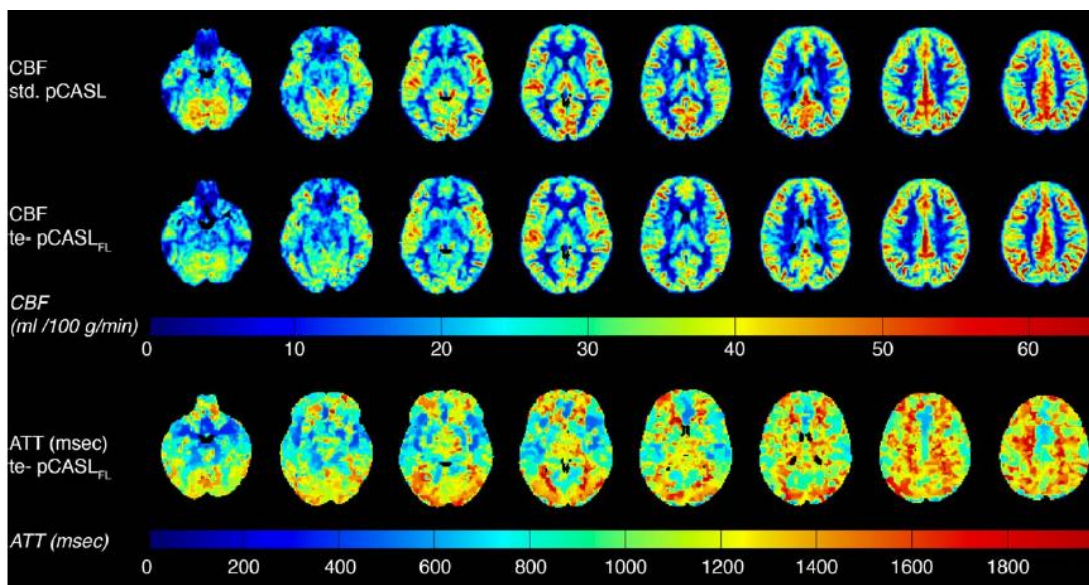


FIG. 2.9. Mappe di CBF acquisite con pCASL standard (riga in alto) e con TE-pCASL_{FL} (riga al centro) in un singolo soggetto.

Le mappe relative a Δt nel caso TE-pCASL_{FL} (riga in basso) evidenziano valori decisamente più elevati in materia bianca (WM) rispetto ai casi precedenti.

2.3.3 Considerazioni finali

I risultati principali ottenuti nello studio presentato sono i seguenti: la relazione tra la quantità di label prodotto e la durata di labeling è di tipo lineare e non varia con l'applicazione del trigger cardiaco; sebbene il trigger cardiaco non sia indispensabile per la realizzazione delle mappe di perfusione, questo garantisce comunque profili più pronunciati nonché *smooth*; la divisione del periodo di labeling in blocchi non porta alla perdita del bolo marcato e del segnale; le operazioni di post-processing che coinvolgono “summed sub-boli” peggiorano notevolmente la qualità delle mappe finali dei parametri, a causa dell'effetto del rumore che diventa sempre più dominante; le mappe di CBF e Δt possono essere ottenute tramite TE-pCASL anche con uno scan singolo.

i. Proprietà del bolo generato

Le simulazioni hanno mostrato aumenti significativi dell'ampiezza della banda di transizione per ridotte velocità del flusso. Per transizioni elevate, in particolare, il punto critico consiste nel raggiungimento dell'inversione completa della magnetizzazione M_z in seguito all'applicazione di blocchi di labeling molto corti. Tuttavia, i risultati in vivo esibiscono una dipendenza lineare tra il quantitativo di label prodotto e durate di labeling comprese tra i 20 e i 200 ms: ciò dimostra che anche nel caso di blocchi molto rapidi la perdita di segnale misurato è comunque trascurabile. Inoltre, l'applicazione di un trigger cardiaco non influenza la quantità di label complessiva. Il trigger conduce in ogni caso a profili temporali più stretti e limitati all'aumentare del valore di picco, rendendo preferibile un approccio di questo tipo ad applicazioni angiografiche.

ii. Divisione del periodo di labeling in blocchi

Le differenze per il label prodotto, nel caso di periodo di labeling singolo e continuo piuttosto che dopo aver sommato i risultati di sub-boli ottenuti da due blocchi aventi durata pari alla metà della tecnica precedente, indicano come il cambiamento delle condizioni control/label e label/control non influenzi l'esito finale. Questo risulta verificato in tutti gli esperimenti in vivo condotti; nelle simulazioni, invece, alcune divergenze nascono per basse velocità del flusso in combinazione con durate di labeling molto corte. Per evitare situazioni non desiderate come questa si dovrebbero pertanto utilizzare blocchi aventi durata > 50 ms.

iii. TE-pCASL in vivo

Uno degli svantaggi più evidenti di TE-pCASL_{fix} è costituito dal fatto che le immagini acquisite con un PLD molto elevato mostrano un SNR decisamente basso; questo risulta chiaro analizzando le mappe di Δt sopra riportate. Oltre a ciò, l'intervallo di campionamento relativamente lungo potrebbe dare origine a possibili artefatti di discretizzazione. Questi problemi sono state in parte risolti aggiustando la distribuzione

temporale delle immagini con l'introduzione di TE-pCASL_{adj}, in grado di compensare il decadimento longitudinale del bolo marcato.

Come detto in precedenza, la somma dei primi tre blocchi (nel caso *adj*) e dei primi sei blocchi (nel caso *fix*) negli scan Time-Encoded fornisce mappe di perfusione confrontabili, in durata, con quelle ottenute mediante la procedura pCASL standard. Purtroppo, come riportato in FIG. 2.10, i valori di temporal SNR (tSNR) nel caso TE-pCASL sono decisamente di molto inferiori. Questo può essere causato dall'effetto, sempre più evidente, del rumore di misura nelle operazioni di post-processing indispensabili per la fase di quantificazione globale. Quando mappe di perfusione relative a blocchi differenti vengono sommate, infatti, la combinazione dei diversi tempi a cui ciascuna di esse si riferisce renderà il rumore sempre più dominante. Se è richiesta una specifica configurazione di labeling e di PLD, pertanto, è largamente consigliato includerla direttamente nello schema di acquisizione iniziale piuttosto che ottenerla successivamente come "summed sub-boli".

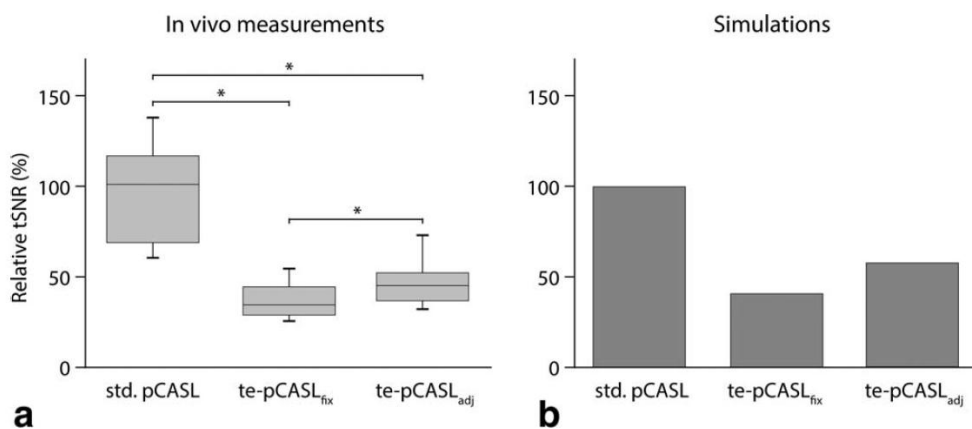


FIG. 2.10. a) Valutazione di tSNR nel caso TE-pCASL studiato e nel caso pCASL tradizionale; i valori medi di TE-pCASL_{fix} e di TE-pCASL_{adj} sono approssimativamente il 35% rispetto alla procedura standard; b) Anche dalle simulazioni per "summed blocks", normalizzate rispetto a pCASL tradizionale, si evince l'importanza del rumore nelle fasi di post-processing.

Nell'approccio TE-pCASL_{FL}, invece, il tempo tra la fase di labeling e la fase di imaging viene impiegato per registrare informazioni relative a Δt . Questa tipologia di scan fornisce mappe per Δt con ottima risoluzione spaziale, anche se i valori medi di GM CBF non differiscono molto dal metodo tradizionale. Anche la valutazione di tSNR mostra una qualità decisamente confrontabile con la soluzione pCASL. Cambiare l'ordine delle linee di encoding, in Hadamard Matrix, non influisce significativamente

nelle mappe di GM CBF e di tSNR prodotte, e quindi non viene considerato rilevante per tutte le variazioni fino a qui descritte.

Concludendo, l'implementazione della TE-pCASL consente la realizzazione di mappe relative a CBF e Δt sufficientemente accurate; per garantire un'acquisizione più robusta la durata dei singoli blocchi dovrebbe essere > 50 ms. Il trigger cardiaco, del resto, modifica la forma globale del profilo del bolo magnetizzato ma non la quantità di label effettivo prodotto: non è quindi necessario in fase di acquisizione dei dati sperimentali. Inoltre, un opportuno aggiustamento della distribuzione dei tempi e dei conseguenti PLD garantisce una maggiore affidabilità del segnale misurato, da un lato, ed un aumento dell'informazione netta portata da quest'ultimo, dall'altro. L'approccio "Free Lunch", sfruttando il tempo non impiegato nella pCASL tradizionale, permette infine di acquisire mappe per CBF e Δt utilizzando uno scan singolo.

3 Metodi di quantificazione

In questa sede, i concetti presentati nei capitoli precedenti vengono ora opportunamente messi insieme tra loro al fine di determinare i parametri incogniti indagati. Particolare attenzione viene posta nei casi della TE-pCASL, della componente macrovascolare e della dispersione della funzione arteriale di ingresso. Prima di applicare l'intera metodologia proposta ai dati reali a disposizione, derivanti da sessioni di risonanza magnetica condotte su soggetti volontari sani, sono stati effettuati degli studi di simulazione: questi rivestono il duplice obiettivo di comprendere gli effetti delle varianti indotte sul segnale finale misurato, da un lato, e di migliorare il processo di stima finale, dall'altro.

Il lavoro, nel complesso, è stato suddiviso in tre momenti successivi. I primi due sono rivolti all'analisi specifica della sola componente tessutale e della sola componente macrovascolare. Il terzo, invece, considera all'interno della formulazione globale le due componenti congiuntamente prese. Le prossime pagine hanno lo scopo principale di fornire un linea guida per la quantificazione dei parametri in ambito TE-pCASL. Per fare questo sono stati considerati differenti modelli di riferimento nonché particolari accorgimenti nella fase implementativa vera e propria.

3.1 Implementazione e modelli

L'applicazione della TE-pCASL richiede una numerosa serie di accorgimenti in fase implementativa. A livello modellistico, il punto critico maggiore consiste nella scelta dell'istante di acquisizione del segnale, relativo al sub-bolo esaminato, creato in base al riferimento scelto. Una valutazione temporale errata, infatti, porterebbe ad uno shift progressivo dei punti del segnale globale prodotto, con conseguente sottostima/sovrastima dei parametri reali relativi alla fisiologia propria del soggetto. Oltre a questo, durante la procedura di quantificazione nel caso di dati reali, ulteriori espedienti devono essere considerati: ne sono un esempio il tempo di decadimento del tracciante endogeno utilizzato e il tempo di slice relativo allo specifico Readout.

Per questo motivo, prima di analizzare i dataset a disposizione si è preferito procedere con la realizzazione di simulazioni per i segnali acquisiti. Attraverso uno studio di questo tipo, supponendo di conoscere completamente i parametri caratterizzanti la specifica configurazione in esame, è possibile descrivere in modo sufficientemente esaustivo l'andamento temporale registrato in fase di misura. Inoltre, tale modo di procedere consentirà una migliore definizione del valore dei parametri iniziali nel processo di stima effettivo nonché i relativi lower/upper bound.

Lo studio per le simulazioni e per i dati reali è stato condotto lavorando in ambiente Matlab R2014a. Il punto di partenza per l'analisi condotta è la valutazione del segnale a disposizione per ciascuno dei sub-boli considerati. Nel caso di simulazioni, questo può essere semplicemente ottenuto tenendo presente la durata del blocco i -esimo e l'istante di acquisizione corrispondente; nel caso di dati reali, invece, è necessario applicare uno degli schemi di decoding descritti nel capitolo precedente. In particolare, la matrice di Hadamard implementata è quella relativa al caso TE-pCASL_{adj}: l'aggiustamento della durata dei blocchi costruiti, in modo da compensare il T_1 -decay del bolo magnetizzato, avrà importanti conseguenze sull'SNR complessivo risultante e sulla qualità delle immagini generate. Solamente dopo aver effettuato un decoding di questo tipo sarà possibile applicare un modello teorico opportuno per la quantificazione vera e propria. Quello che è importante sottolineare in questa sede è che il segnale effettivo sul quale verrà applicata la procedura di stima non è il classico segnale ASL misurato in risonanza magnetica. Ragionando in via prettamente teorica, il segnale costruito segue effettivamente il modello di riferimento adottato, in particolare il modello di Buxton descritto nelle pagine precedenti; questo segnale, però, dovrà essere opportunamente considerato in un preciso istante di acquisizione. L'insieme di tutti i punti selezionati relativi agli 11 sub-boli costituirà il segnale finale sul quale applicare la quantificazione dei parametri. Non c'è quindi da stupirsi se l'andamento atteso sarà nettamente differente da quello adottato nelle procedure ASL standard.

Data la notevole complessità della materia trattata, prima di inglobare tutte le conoscenze a disposizione in un unico grande modello di riferimento si è proceduto con la validazione delle sue componenti singolarmente prese. In altre parole, come primo passo è stato elaborato un modello per la sola componente tessutale e un modello per la

sola componente macrovascolare; solo successivamente i due metodi verranno considerati in modo congiunto per la stima finale. Il nodo cruciale del processo di quantificazione è infatti la determinazione dei valori relativi al fenomeno di dispersione, valori che se stimati in modo non corretto potrebbero compromettere drasticamente la valutazione di tutti i parametri caratteristici dei modelli impiegati.

La tecnica di stima utilizzata è quella dei minimi quadrati non lineari, realizzabile in Matlab mediante la funzione *lsqnonlin* a disposizione. Questa garantisce il giusto compromesso tra velocità computazionale e accuratezza dei valori finali forniti. Nello specifico, i modelli adottati per spiegare le componenti costituenti il segnale misurato sono descritte in seguito. Accanto a questi sono stati riportati, per completezza, anche i relativi parametri incogniti cercati.

La valutazione delle singole componenti tessutali e macrovascolari sono riportate rispettivamente in [Eq. 3.1] e [Eq. 3.2]: nonostante la relativa semplicità della notazione utilizzata, questo passo preliminare risulta indispensabile per la comprensione dei risultati finali. Con il termine *TISSUE* ci si riferisce agli 11 punti acquisiti relativi all'effetto degli 11 sub-boli considerati, valutando solamente l'effetto del tessuto sul segnale globale; con il termine AIF_{MACRO} , invece, si intende l'Arterial Input Function (AIF) della sola componente macrovascolare, corrispondente a voxel nelle arterie maggiori sempre per effetto degli 11 sub-boli. Il modello per la componente macrovascolare e tessutale, congiuntamente prese, è invece descritto in [Eq. 3.3]. Questo tipo di formulazione terrà conto pertanto sia della componente macrovascolare aggiuntiva che del fenomeno di dispersione della funzione arteriale, permettendo una descrizione decisamente più realistica della fisiologia intrinseca del processo in esame. In particolare, sempre considerando [Eq. 3.3], il termine $max(TISSUE)$ verrà impiegato solamente negli studi di simulazione, in quanto costituisce un fattore di scala aggiuntivo per rendere confrontabili le ampiezze delle due componenti. Nell'analisi dei dati reali veri e propri tale fattore sarà del tutto assente: il modello di riferimento previsto pertanto sarà quello riportato in [Eq. 3.4].

In tutti gli studi effettuati, l'approccio modellistico gold standard è costituito dal metodo di convoluzione, per la parte tessutale, e dal modello *gamma kernel*, per la dispersione dell'ingresso, precedentemente descritto. Solo in seguito saranno adottate tecniche implementative più efficienti per ridurre l'oneroso carico globale.

$$ASL_{signal} = TISSUE \quad [3.1]$$

con f_{Buxton} perfusione cerebrale [ml/100g/min], $DELTA_T$ tempo di arrivo del bolo nel tessutale [s], s_{kernel} “sharpness” del kernel [uniteless], p_{kernel} tempo di picco (time-to-peak) [uniteless].

$$ASL_{signal} = aBV * AIF_{MACRO} \quad [3.2]$$

con $DELTA_T_A$ tempo di arrivo del bolo nel macrovascolare [s], aBV arterial Blood Volume [uniteless], s_{kernel} “sharpness” del kernel [uniteless], p_{kernel} tempo di picco (time-to-peak) [uniteless].

$$ASL_{signal} = aBV * \max(TISSUE) * AIF_{MACRO} + TISSUE \quad [3.3]$$

con f_{Buxton} perfusione cerebrale [ml/100g/min], $DELTA_T$ tempo di arrivo del bolo nel tessutale [s], $DELTA_T_A$ tempo di arrivo del bolo nel macrovascolare [s], aBV arterial Blood Volume [uniteless], s_{kernel} “sharpness” del kernel [uniteless], p_{kernel} tempo di picco (time-to-peak) [uniteless].

$$ASL_{signal} = aBV * AIF_{MACRO} + TISSUE \quad [3.4]$$

con f_{Buxton} perfusione cerebrale [ml/100g/min], $DELTA_T$ tempo di arrivo del bolo nel tessutale [s], $DELTA_T_A$ tempo di arrivo del bolo nel macrovascolare [s], aBV arterial Blood Volume [uniteless], s_{kernel} “sharpness” del kernel [uniteless], p_{kernel} tempo di picco (time-to-peak) [uniteless].

Per indagare gli effetti indotti dalla singola componente tessutale [Eq. 3.1] sono state valutate due possibili varianti. Il primo approccio, standard nelle procedure di quantificazione, prevede la risoluzione attraverso l’utilizzo della convoluzione, come riportato in [Eq. 1.4]. Il secondo sfrutta la particolare condizione di labeling impiegata, adottando la soluzione analitica particolareggiata nel caso pCASL [Eq. 1.12]. La

valutazione successiva dei risultati ottenuti, ricorrendo a particolari grafici di dispersione o scatterplot, permetterà di scegliere la soluzione migliore da impiegare nel modello finale complessivo e nell'analisi dei dati reali.

Data la notevole complessità di *gamma kernel* per descrivere la dispersione di AIF, nella realizzazione delle simulazioni è stato sviluppato un ulteriore modello di riferimento per rappresentare tale effetto. La soluzione proposta prevede una convoluzione analitica tra un esponenziale ritardato $h(t)$ e una funzione rettangolare traslata $u(t)$ (ovvero un *rect* nel tempo opportunamente centrato). Come riportato in [Eq. 3.5], in questo caso l'unico parametro incognito è costituito da a_kernel , contro i due parametri presentati in precedenza. Se i risultati nel caso gold standard e nel caso *exp kernel* sono in grado di identificare i parametri incogniti in modo confrontabile allora la nuova soluzione analitica verrà implementata anche nell'elaborazione dei dati reali di risonanza magnetica.

$$\begin{aligned} h(t) &= e^{-a(t-t_0)} \\ u(t) &= \mathbb{1}(t) - \mathbb{1}(t - T) \\ y(t) &= h(t) \otimes u(t) \end{aligned} \tag{3.5}$$

con a_kernel costante del termine esponenziale del kernel [uniteless], t_0 ritardo temporale [s], T lunghezza della funzione rettangolare traslata [s].

Nelle pagine successive si intende presentare la metodologia per lo studio del segnale TE-pCASL, in particolare: la definizione delle funzioni dei modelli, la scelta del valore iniziale dei parametri, la creazione del segnale e/o la fase di decoding, la realizzazione di mappe cerebrali caratterizzanti la fisiologia e l'emodinamica del soggetto esaminato.

3.2 Metodologia per le simulazioni

Il segnale elaborato nella TE-pCASL risente drasticamente dalle condizioni fisiologiche intrinseche del soggetto indagato. In particolare, la dispersione del profilo temporale del bolo è un fattore molto critico in grado di modificare significativamente i risultati in fase di post-processing. Per questo motivo, al fine di comprendere più nel

dettaglio gli effetti prodotti da questo fenomeno nonché cercare di limitare, per quanto possibile, le conseguenze causate da quest'ultimo, sono state implementati quattro differenti casi particolari. A seconda del livello di dispersione dell'ingresso AIF costruito, la situazione si può così riassumere: 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Gamma Kernel); 3. Mean Dispersion (Gamma Kernel); 4. High Dispersion (Gamma Kernel). Mentre la prima alternativa costituisce la classica versione composta da *rect*, assunta per semplicità nella formulazione del modello di Buxton, le rimanenti tre prevedono diverse dispersioni dell'ingresso variando i parametri s_kernel e p_kernel . Come sarà evidente nelle analisi successive, una dispersione bassa, media oppure alta avrà un'influenza molto rilevante sulla stima dei parametri di perfusione cerebrale.

Un altro aspetto importante da considerare è poi la componente macrovascolare. A seconda del distretto cerebrale indagato, tale componente riveste un'importanza più o meno preponderante nel segnale complessivo. Per valutare l'influenza del bolo marcato nelle arterie maggiori, nelle simulazioni sono stati utilizzati differenti valori per arterial Blood Volume (*aBV*): tale parametro costituisce un fattore di scala per il segnale macrovascolare in grado di modificare significativamente l'entità del contributo in esame. Naturalmente, in corrispondenza di distretti arteriali molto consistenti i valori di *aBV* saranno determinanti ai fini della quantificazione; per contro, in regioni puramente tessutali, come la materia grigia (GM), ci si aspetterà un contributo nullo. Per questo motivo nel caso di modello descrivente la sola componente tessutale [Eq. 3.1] il valore di *aBV* è completamente assente.

Le simulazioni condotte nel caso di sola componente macrovascolare e di componenti macrovascolare e tessutale congiuntamente prese prevedono pertanto sia la variazione dell'ingresso che la variazione dei valori di *aBV*, per un totale di 16 combinazioni totali. Nel caso di sola componente tessutale, invece, mancando il fattore di scala arteriale, i segnali finali indagati saranno solamente 4.

In tutti e tre i casi proposti sono stati impiegati alcuni valori di base comuni, riportati in [Eq. 3.6]; l'asse dei tempi di riferimento comprende l'intervallo 0-6 s, con un passo di campionamento molto fitto pari a 1 ms. A questi si aggiungono i tempi relativi alla $TE-pCASL_{adj}$, elencati precedentemente e non riportati in questa sede, e i valori caratteristici dei parametri cercati, a seconda del modello considerato. Per rendere più lineare e coerente l'esposizione si è preferito lasciare questa particolare sezione agli specifici casi in esame selezionati, descritti attentamente nelle pagine successive.

$\lambda = 0.9$	coefficiente di ripartizione sangue-tessuto [ml/g/s ²]	
$\alpha = 0.85$	efficienza di labeling [uniteless]	
$T_{1t} = 1.65$	tempo di rilassamento longitudinale del tessuto [s]	
$T_{1b} = 1.65$	tempo di rilassamento longitudinale del sangue [s]	
$M_{0b} = 2500000$	magnetizzazione all'equilibrio del sangue [a.u.]	[3.6]
$\tau = 3600$	durata di labeling [ms]	
$PLD = 49$	Post Labeling Delay [ms]	
$r(t) = e^{-t * \frac{f}{\lambda}}$	funzione residuo	
$m(t) = e^{-\frac{t}{T_{1b}}}$	funzione di rilassamento della magnetizzazione	

Dopo aver creato il segnale di riferimento, a secondo del modello e dell'ingresso selezionati, in tutte le simulazioni proposte si è poi proceduto con l'implementazione del metodo Monte Carlo ⁽¹¹⁾. Tale metodo, in generale, viene utilizzato per ottenere stime a partire da simulazioni generando una serie di numeri, tra loro incorrelati, descritti da una certa distribuzione di probabilità (caratteristica del fenomeno da indagare). La simulazione Monte Carlo calcola pertanto una serie di realizzazioni possibili del fenomeno in esame cercando di esplorare tutto lo spazio dei parametri possibili. Una volta calcolato questo campione, la simulazione esegue una stima delle grandezze di interesse sul campione stesso. Il metodo è ben eseguito se il valore medio di tutte le realizzazioni del sistema convergono al valore vero.

Nel caso specifico, a partire dai segnali simulati prodotti sono state create $NMC = 100$ realizzazioni rumorose degli stessi. Per fare questo, alle curve generate è stata sommata una versione di rumore bianco gaussiano AWGN sfruttando la funzione Matlab *randn*. In questo modo da ogni singolo segnale ne sono state ricavate 100 versioni rumorose. Il valore di deviazione standard SD del rumore AWGN è stato calcolato come descritto in [Eq. 3.7]. Mancando la parte tessutale nel modello puramente macrovascolare, per questo particolare caso si è deciso di fissare $SD = 0.05$, senza compromettere in modo significativo i risultati finali.

$$SNR = 5 \quad [3.7]$$

$$SD = \max(\text{ASL Tissue Signal with Ideal AIF}) / SNR$$

A questo punto si è passati al processo di stima ai minimi quadrati non lineari utilizzando la funzione Matlab *lsqnonlin*. In aggiunta, avendo a disposizione in uscita della presente function i valori di *resnorm* e di *jacobian*, dopo aver calcolato i valori della SD a posteriori sono stati infine trovati i valori dei coefficienti di variazione CV dei singoli parametri indagati. I CV trovati costituiranno un metro di giudizio affidabile per determinare se il processo di stima è andato a buon fine o meno. Infine, per una valutazione quantitativa dei risultati ricavati sono stati costruiti dei boxplot per i singoli parametri e i relativi CV su tutte le 100 realizzazioni stimate. I risultati delle simulazioni, a seconda del metodo ottimo sviluppato e del metodo analitico di riferimento, sono stati tra loro confrontati mediante scatterplot, indagando possibili correlazioni spaziali tra i vari segnali esaminati.

Per chiarire le differenti tipologie di simulazioni effettuate, nei punti seguenti saranno riportati a scopo esplicativo le simulazioni Monte Carlo prodotte sulle quali effettuare la procedura di stima. In particolare, a livello grafico, la schematizzazione utilizzata prevede: il segnale originale (linea tratteggiata rossa) ; il segnale medio valutando tutte le realizzazioni (linea continua blu); le bande di variabilità al 5% e al 95% (in giallo).

Tutti i segnali simulati generati sono stati prodotti sfruttando la convoluzione e il modello *gamma kernel*, rispettivamente per la componente tessutale e per la componente macrovascolare. Nelle successive identificazioni, invece, oltre a queste due metodologie sono stati applicati il modello di Buxton nel caso pCASL con soluzione analitica e il modello di dispersione esponenziale appena presentato. Se le soluzioni consentono una valutazione quantitativa correlabile nelle differenti casistiche allora sarà possibile procedere con la soluzione più semplice, e quindi più veloce, in tutte le analisi successive condotte.

3.2.1 *Componente tessutale*

I valori stabiliti per analizzare la sola componente tessutale sono riportati in [Eq. 3.8]: nonostante la combinazione di valori per valutare la dispersione di AIF siano solamente tre, non c'è da dimenticare il caso di Ideal AIF descritto esclusivamente dai tempi della TE-pCASL_{adj}. Come si può ben notare, i parametri settati costituiscono valori tipici riscontrabili in esami in vivo.

$f = 0.01$	perfusione cerebrale [ml/gr/s]	
$DELTA T = 1000$	tempo di arrivo del bolo nel tessutale [ms]	
$s = 0.001, p = 10$	AIF High Dispersion (Gamma Kernel)	[3.8]
$s = 0.01, p = 50$	AIF Mean Dispersion (Gamma Kernel)	
$s = 0.05, p = 100$	AIF Low Dispersion (Gamma Kernel)	

I segnali creati sono invece riportati in FIG. 3.1: già da questo primo esempio trattato si può evincere come un differente livello di dispersione abbia effetti nettamente diversi sulle curve prodotte. Questo risulta particolarmente evidente nel caso High Dispersion. La variazione di magnetizzazione causata dalla sola componente tessutale è responsabile della parte centrale e finale della curva finale. In seguito ad una fase di salita, per i sub-boli 6/7, il segnale si assesta poi ad un valore più o meno definito, mostrando comunque una percettibile diminuzione nella parte conclusiva.

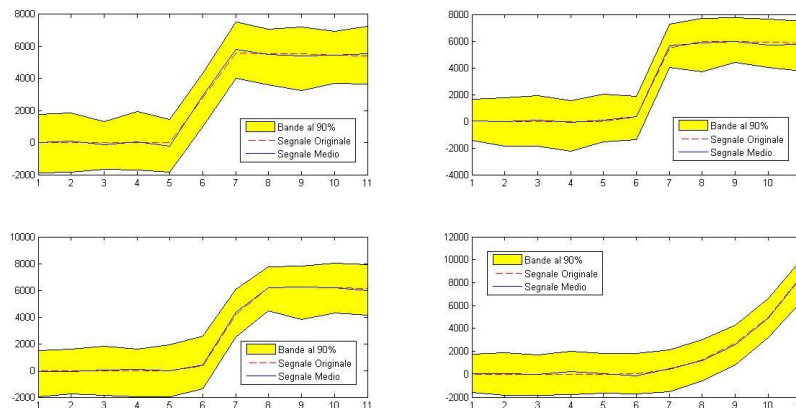


FIG. 3.1. Simulazioni MC per la componente tessutale con bande di variabilità al 90% al variare dell'ingresso AIF: 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Gamma Kernel); 3. Mean Dispersion (Gamma Kernel); 4. High Dispersion (Gamma Kernel).

3.2.2 Componente macrovascolare

Per quanto riguarda la definizione dei parametri incogniti ricercati, lo stesso tipo di considerazioni può essere effettuata nel caso della componente macrovascolare; il valore vero degli stessi è elencato in [Eq. 3.9]. Avendo utilizzando un altro modello di riferimento per la procedura di quantificazione, naturalmente anche i parametri ricercati saranno differenti dal caso precedente.

$DELTA_T_A = 250$	tempo di arrivo del bolo nel macrovascolare [ms]	
$aBV_{scalari} = [1\ 2\ 5\ 10]$	arterial Blood Volume [uniteless]	
$s = 0.001, p = 10$	AIF High Dispersion (Gamma Kernel)	[3.9]
$s = 0.01, p = 50$	AIF Mean Dispersion (Gamma Kernel)	
$s = 0.05, p = 100$	AIF Low Dispersion (Gamma Kernel)	

Nelle figure FIG. 3.2, FIG. 3.3, FIG. 3.4 e FIG. 3.5 sono mostrati gli esiti delle simulazioni Monte Carlo al variare dell'ingresso selezionato; per ognuna di queste, inoltre, si evidenzia l'effetto del fattore di scala aBV sulle curve finali ricavate.

A questo proposito si possono fare due tipi di considerazioni interessanti. A parità di aBV , il rumore aumenta al crescere della dispersione di AIF: questo si può constatare analizzando l'ampiezza delle bande di variabilità indicate in giallo. A parità di ingresso, invece, i valori percentili delle soglie selezionate si riducono progressivamente mostrando incertezze, in proporzione, minori.

A differenza del segnale relativo alla componente tessutale prima mostrato, nel caso macrovascolare i punti acquisiti per effetto degli 11 sub-boli sono responsabili della parte iniziale della curva, indicativamente per i primi 3/4 punti. Questo concorda pienamente con quanto atteso in via teorica: i differenti blocchi rappresentano il transito del sangue magnetizzato all'interno delle arterie maggiori, per poi raggiungere i siti di destinazione specifici. La parte finale del segnale globale, infatti, è approssimativamente nulla per tutti i rimanenti punti registrati in Readout.

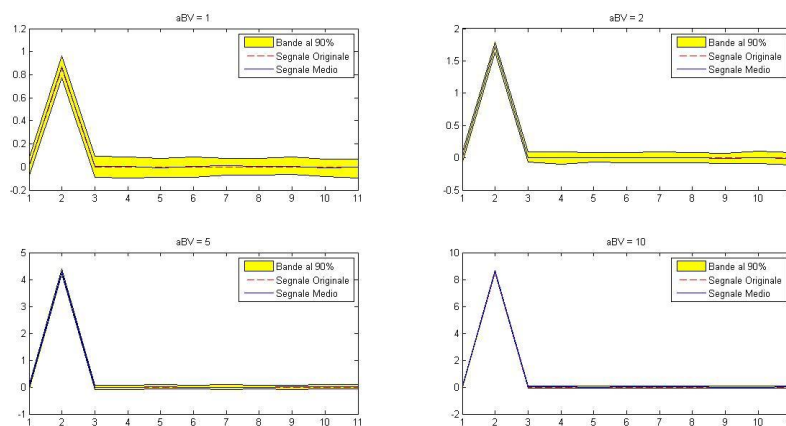


FIG. 3.2. Simulazioni MC per la componente macrovascolare con bande di variabilità al 90% al variare di aBV con un ingresso Ideal (Box-Car).

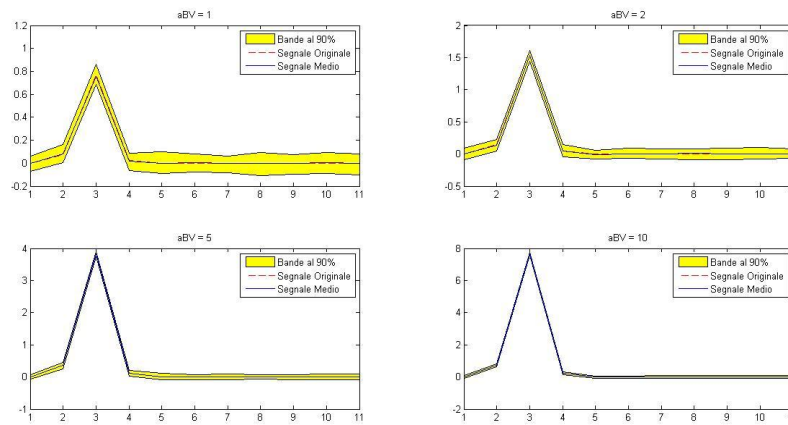


FIG. 3.3. Simulazioni MC per la componente macrovascolare con bande di variabilità al 90% al variare di aBV con un ingresso Low Dispersion (Gamma Kernel).

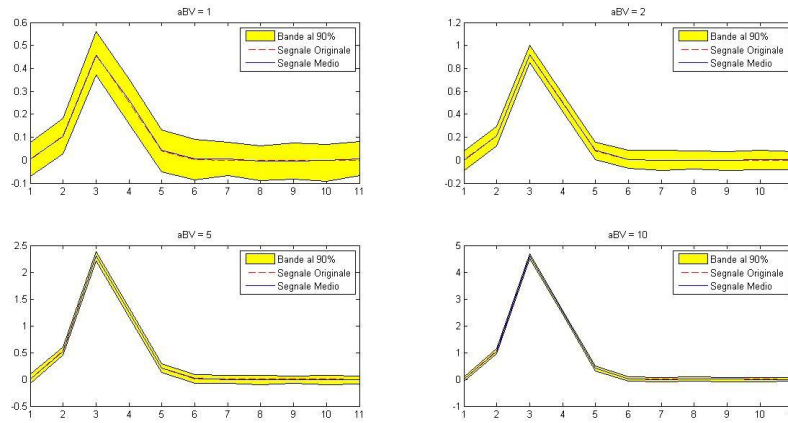


FIG. 3.4. Simulazioni MC per la componente macrovascolare con bande di variabilità al 90% al variare di aBV con un ingresso Mean Dispersion (Gamma Kernel).

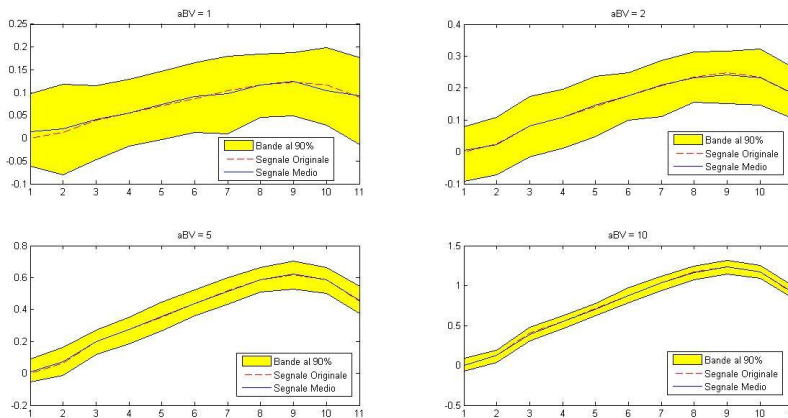


FIG. 3.5. Simulazioni MC per la componente macrovascolare con bande di variabilità al 90% al variare di aBV con un ingresso High Dispersion (Gamma Kernel).

3.2.3 Componenti macrovascolare e tessutale

Tutti i parametri ricercati vengono a questo punto messi insieme in un unico grande modello descrivente in modo congiunto le due componenti. Eccetto per le quantità scalari di aBV , i valori imposti in fase realizzativa seguendo fedelmente quanto implementato nei due modelli precedenti, così da rendere possibile un confronto più significativo in fase di quantificazione [Eq. 3.10].

$f = 0.01$	perfusione cerebrale [ml/gr/s]	
$DELTA T = 1000$	tempo di arrivo del bolo nel tessutale [ms]	
$DELTA T_A = 250$	tempo di arrivo del bolo nel macrovascolare [ms]	
$aBV_{scalari} = [0 \ 1 \ 2 \ 10]$	arterial Blood Volume [uniteless]	[3.10]
$s = 0.001, p = 10$	AIF High Dispersion (Gamma Kernel)	
$s = 0.01, p = 50$	AIF Mean Dispersion (Gamma Kernel)	
$s = 0.05, p = 100$	AIF Low Dispersion (Gamma Kernel)	

Analizzando FIG. 3.6, FIG. 3.7, FIG. 3.8, e FIG. 3.9 è possibile osservare, a livello puramente qualitativo, l'effetto tessutale e macrovascolare al variare della dispersione dell'ingresso e di aBV . Per valori relativamente bassi di arterial Blood Volume è possibile inoltre apprezzare come il segnale netto complessivo sia effettivamente la somma di due contributi completamente differenti, ciascuno dei quali responsabile di una precisa configurazione temporale.

Nel caso $aBV = 0$, inoltre, le curve prodotte dovrebbero coincidere con quelle ottenute per il modello esclusivamente tessutale, essendo nullo il contributo della componente macrovascolare. Questa considerazione, banale ma doverosa, dovrà trovare una giustificazione esplicita nei boxplot ricavati in seguito alla stima parametrica.

Nella condizione High Dispersion la situazione peggiora drasticamente, a tal punto che la curva prodotta assume una conformazione del tutto diversa dai casi elencati. Anche in questo modello, come nei precedenti, la valutazione dei risultati in fase di post-processing sarà molto critica: una dispersione di AIF significativamente elevata potrebbe compromettere l'esito finale dell'intera metodologia.

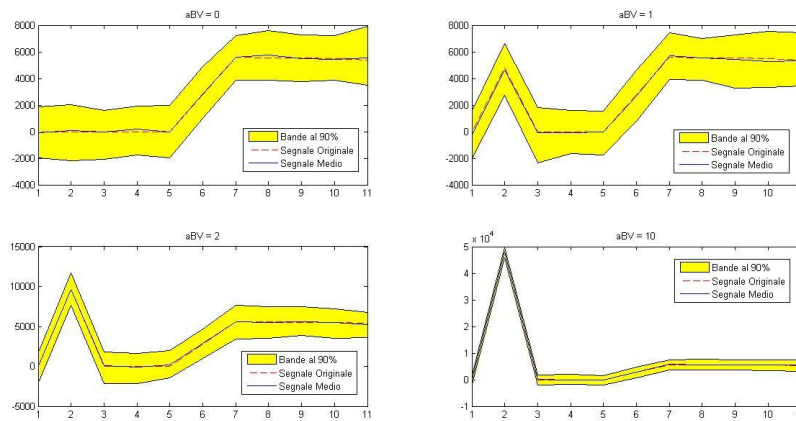


FIG. 3.6. Simulazioni MC per componenti macrovascolare e tessutale con bande di variabilità al 90% al variare di aBV con un ingresso Ideal (Box-Car).

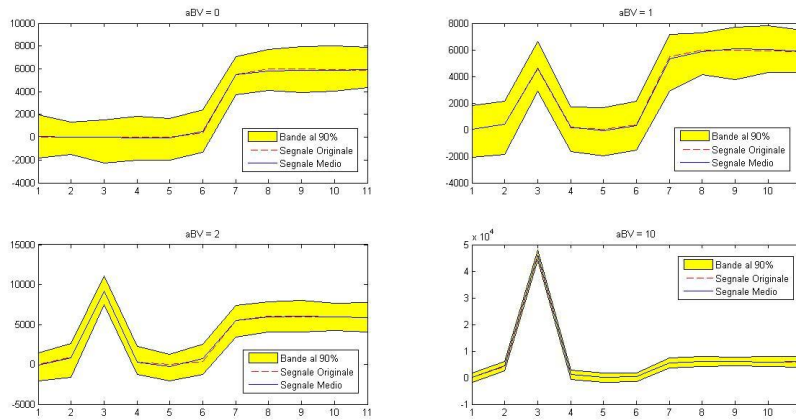


FIG. 3.7. Simulazioni MC per componenti macrovascolare e tessutale con bande di variabilità al 90% al variare di aBV con un ingresso Low Dispersion (Gamma Kernel).

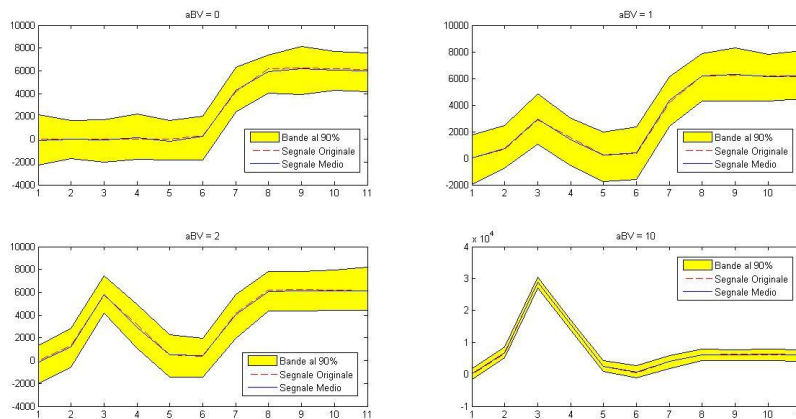


FIG. 3.8. Simulazioni MC per componenti macrovascolare e tessutale con bande di variabilità al 90% al variare di aBV con un ingresso Mean Dispersion (Gamma Kernel).

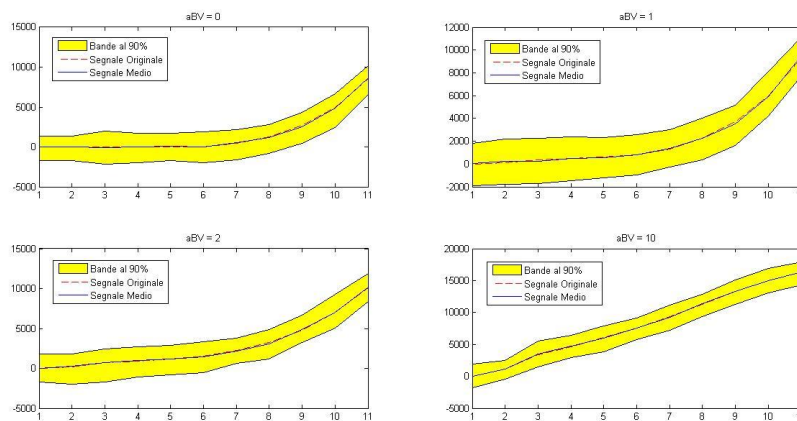


FIG. 3.9. Simulazioni MC per componenti macrovascolare e tessutale con bande di variabilità al 90% al variare di aBV con un ingresso High Dispersion (Gamma Kernel).

3.3 Metodologia per i dati reali

Per studiare gli effetti prodotti dalla $TE-pCASL_{adj}$ a livello cerebrale sono state condotte delle sessioni di risonanza magnetica su soggetti volontari sani. Tali sessioni sono state sviluppate presso l'Ospedale Civile Maggiore di Verona Borgo Trento utilizzando uno scanner di risonanza a 3 Tesla. In generale, con un'unità di questo tipo è possibile formulare in modo accurato la diagnosi per esami al seno, fegato, pancreas e corpo in generale, sfruttando al meglio le caratteristiche tecnologiche dell'elevato valore di campo magnetico applicato in ambito sanitario. Lo scanner in dotazione (Achieva TX, versione software 3.2.3.2) è un'apparecchiatura relativamente recente fornita di tutte le dotazioni tecnologiche avanzate che consentono, oltre a studi morfologici convenzionali di altissima qualità, anche applicazioni di natura funzionale come gli studi della diffusione, la natura della perfusione, la spettroscopia e la risonanza funzionale per lo studio dell'attivazione corticale.

Nel complesso, i soggetti sani analizzati sono in totale 4, per un'età compresa tra i 20 e i 30 anni. In base alla storia clinica passata, non si segnalano problemi di alcun tipo a livello cerebrale. Dopo aver dato il consenso per l'esame da svolgere, e tenendo sempre presente la natura totalmente non invasiva della procedura ASL, è stato possibile procedere con la registrazione dei dati di risonanza. In particolare, i dati ottenuti sono stati acquisiti nel formato *PAR/REC*: per una corretta analisi degli stessi in ambiente Matlab è stata quindi necessaria una successiva rielaborazione in formato *Nifti*.

All'interno di ogni singolo esame effettuato, le informazioni registrate comprendono tre tipi di dati clinici. Il primo, *WIP_ASL_TE_Macro*, contiene l'effetto prodotto dalle componenti macrovascolare e tessutale nel loro insieme; il secondo, *WIP_ASL_TE_Tissue*, costituisce la variazione della magnetizzazione della sola componente tessutale, utilizzando particolari impulsi RF per la soppressione del contributo relativo alle arterie maggiori; il terzo, *WIP_MO_SENSE*, è una Saturation Recovery (SR) la quale permette di risalire ai valori di M_{0b} (magnetizzazione all'equilibrio del sangue) e di T_{1t} (tempo di rilassamento longitudinale del tessuto), parametri indispensabili per la risoluzione del modello di Buxton. Dalla sottrazione dei primi due dati presentati è stato possibile risalire all'effetto prodotto per la parte puramente macrovascolare: in questo modo, seguendo la linea adottata per le simulazioni, è possibile confrontare tutti e tre i modelli proposti a seconda del segnale finale a disposizione.

Lo strumento utilizzato per elaborare dati di questo tipo è Matlab R2014a. Il primo passo consiste nel caricamento dei dati direttamente dal formato *PAR/REC*; un'alternativa consiste nel caricamento degli stessi dal formato *Nifti* precedentemente convertiti utilizzando *MRICRON_dcm2nii*. Tuttavia, per evitare inconvenienti modifiche nell'operazione di conversione, è stata scelta la prima opzione. Dopo il caricamento di tutti i dati acquisiti e la conseguente permutazione delle dimensioni per semplificare le trattazioni successive, le acquisizioni sono state salvate in *Nifti* sfruttando alcuni Toolbox Matlab per l'elaborazione di tale formato.

Prima di passare all'analisi quantitativa vera e propria dei parametri incogniti sono necessarie alcune operazioni di pre-processing⁽¹²⁾. Tali operazioni, indispensabili per una corretta valutazione dei dati a disposizione, sono state implementate in ambiente FSL e prevedono nell'ordine: la corretta conversione dei segnali acquisiti; il processo di allineamento delle sequenze così da riferirle allo stesso spazio di indagine, includendo opportuni accorgimenti per correggere gli artefatti da movimento; il decoding iniziale dei dati di risonanza; lo *smoothing* complessivo dei valori ottenuti fino a questo momento. Il pre-processing così condotto risulta a dir poco indispensabile per la gestione globale dei dati reali acquisiti: senza questo, infatti, le informazioni a disposizione potrebbero essere fortemente contaminate da componenti rumorose non rilevanti in grado di compromettere severamente le stime finali cercate.

Per aumentare l'SNR dei 3 dati a disposizione (*MO*, *Macro* e *Tissue*) è stata fatta una media sul numero delle ripetizioni, passando da matrici 5D Double a matrici 4D Double; anche qui, per meglio interpretare l'evoluzione spaziale e temporale dei diversi segnali, è stata eseguita una permutazione dell'ordine in cui gli stessi sono stati salvati. Nel caso *MO* le dimensioni finali ottenute sono [80x80x17x16], mentre nei rimanenti due [80x80x17x12]: le prime tre dimensioni corrispondono alle coordinate spaziali (x,y,z), mentre la quarta al numero di punti acquisiti per ogni segnale. È interessante notare come il valore 12 nei dati *Macro* e *Tissue* corrisponda al numero di righe della matrice di Hadamard costruita nella TE-pCASL_{adj}.

Per agevolare la gestione delle matrici 4D, in modo computazionalmente efficiente, è stata costruita una maschera in grado di selezionare solamente i voxel utili all'interno dell'encefalo. La costruzione è resa possibile sfruttando delle funzioni esterne basate sul calcolo dell'istogramma e di opportuni valori soglia. Attraverso la maschera costruita, inoltre, si è passati a matrici 2D tenendo traccia della posizione del voxel nello spazio tridimensionale e del corretto istante di acquisizione a cui si riferisce. A questo si aggiunge un indicatore relativo alla slice di appartenenza per ogni voxel analizzato: questo risulterà particolarmente utile per la gestione dei tempi di arrivo del bolo magnetizzato al sito di destinazione.

Un altro problema di cui tenere conto è il calcolo di M_{ob} e di T_{It} utilizzando i dati di Saturation Recovery registrati. Come fatto in precedenza, il metodo di riferimento adottato è la stima ai minimi quadrati non lineari e l'applicazione della function *lsqnonlin*. L'identificazione del modello non lineare e la stima parametrica si basa sui valori imposti riportati in [Eq. 3.11] e sulla formulazione di reference in [Eq. 3.12].

$T_R = 4432$	tempo di ripetizione [ms]	
$\tau_{SR} = 3600$	durata di labeling [ms]	
$PLD_{SR} = 49$	Post Labeling Delay [ms]	
$SLICE_{TIME} = 46$	correzione per il tempo di acquisizione della slice	[3.11]
$t_{iniziale} = 49$	primo istante di acquisizione [ms]	
$t_{finale} = 3349$	ultimo istante di acquisizione [ms]	
$passo = 220$	intervallo regolare di campionamento [ms]	

$$y(t) = M_{0t} * \left(1 - A * e^{-\frac{t}{T_{1t}}}\right) \quad [3.12]$$

con M_{0t} magnetizzazione all'equilibrio del tessuto [a.u.], T_{1t} tempo di rilassamento longitudinale del tessuto [s], A termine noto [uniteless].

Una volta trovati i valori relativi alla SR e ordinato correttamente i dati di risonanza si è passati alla stima della TE-pCASL_{adj} nei tre differenti casi in analisi. Come esposto precedentemente, in [Eq. 3.13] sono mostrati i valori imposti per la definizione delle funzioni base create. La finestra temporale indagata comprende l'arco temporale 0-6 s con un passo di campionamento pari a 5 ms. Oltre a questo, è stato calcolato il valore di M_{0b} per ogni voxel con una conseguente ricalibrazione per escludere gli effetti del T_1 -decay [Eq. 3.14].

$$\begin{aligned} T_{1b} &= 1.65 && \text{tempo di rilassamento longitudinale del sangue [s]} \\ T_{1GM} &= 1.3 && \text{tempo di rilassamento longitudinale di GM [s]} \\ T_R &= 2 && \text{tempo di ripetizione [s]} \\ \alpha &= 0.85 && \text{efficienza di labeling [uniteless]} \\ \tau &= 3600 && \text{durata di labeling [ms]} \\ PLD &= 49 && \text{Post Labeling Delay [ms]} \\ r(t) &= e^{-t * \frac{f}{\lambda}} && \text{funzione residuo} \end{aligned} \quad [3.13]$$

$$M_{0b} = \frac{M_{0t}}{\lambda} * \left(\frac{1}{1 - e^{-\frac{T_R}{T_{1GM}}}} \right) \quad [3.14]$$

Successivamente è stata costruita e applicata la matrice di Hadamard di riferimento per il corretto decoding dei dati: solamente dopo l'applicazione di quest'ultima sarà terminata la procedura di elaborazione dei dati di risonanza da utilizzare all'interno dei modelli proposti. Hadamard Matrix e il contributo apportato dagli 11 sub-boli in questione sono in riportati in FIG 3.10. Lo schema di confronto impiegato è l'effetto del sub-bolo più vicino all'istante di Readout, che va per primo, e poi via via di tutti gli altri fino ad arrivare al più distante, che è il più lungo per compensare la perdita di magnetizzazione e che sarà responsabile della parte finale del segnale. Bisogna

sottolineare che l'operazione di decoding risulta comunque molto critica per il conseguimento dei dati effettivi da utilizzare: possibili errori in fase di acquisizione o nella gestione imprecisa dei tempi dei singoli blocchi potrebbero essere causa di errori molto consistenti negli step successivi. L'elevata sensibilità della metodologia TE-pCASL è infatti uno degli aspetti più rilevanti per l'intera fase realizzativa.

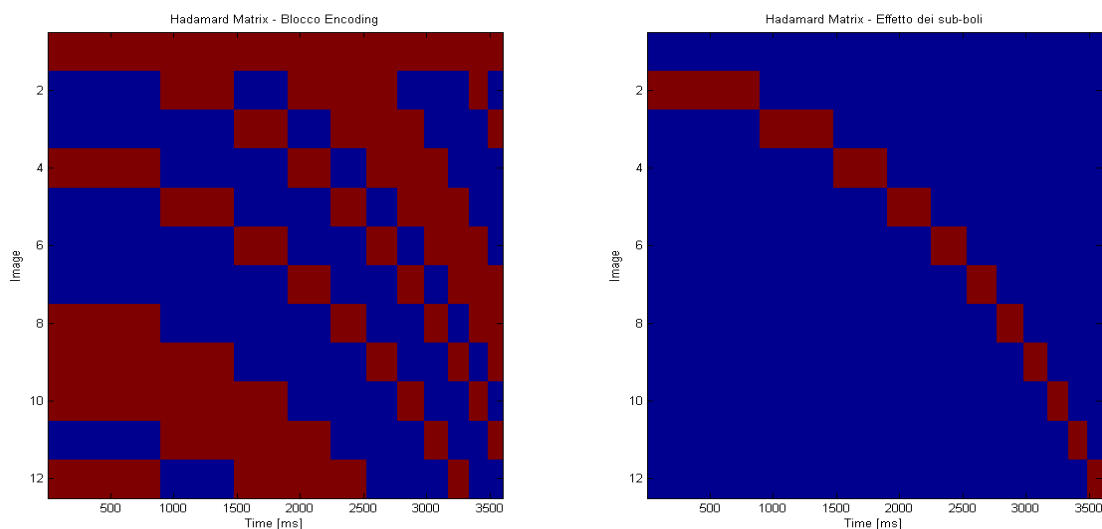


FIG. 3.10. Hadamard Matrix di riferimento: blocco di encoding implementato (a sinistra) e valutazione dell'effetto dei singoli sub-boli (a destra).

Per studiare gli effetti prodotti dalla presente tecnica ASL, anziché considerare l'intero volume cerebrale composto da 17 slice, in fase preliminare è stata selezionata una sola slice di interesse $SOI = 10$ situata indicativamente a metà delle varie fette a disposizione. Solamente in seguito sono state analizzate tutte le slice per i 4 dataset acquisiti, confrontando analogie e differenze a seconda dei risultati finali conseguiti. Da questo punto in poi, per indagare qualitativamente gli effetti delle componenti macrovascolare e tessutale prese singolarmente o in modo congiunto, verranno considerate solamente 8 slice posizionate al centro del cervello: le mappe riportate nel capitolo successivo, dunque, si riferiranno esclusivamente a queste ultime.

Sfruttando le matrici 2D costruite e la tecnica descritta da *lsqnonlin*, anche in questo caso sono stati stimati i valori dei parametri incogniti e dei relativi coefficienti di variazione CV. Accanto alle mappe cerebrali conseguite, per tutti i parametri in gioco, per descrivere in modo quantitativo i valori numerici prodotti sono stati realizzati dei boxplot in grado di spiegare a livello grafico le soluzioni ricavate.

3.3.1 *Componente tessutale*

Per quanto riguarda l'indagine condotta per la sola componente tessutale, nel caso di dati reali è stata considerata esclusivamente la soluzione analitica in quanto, come sarà possibile evincere dall'esito delle simulazioni, questa garantisce risultati pressoché uguali alla soluzione con convoluzione. Considerando i tempi computazionali nelle due differenti alternative, l'espressione analitica del modello di Buxton nel caso pCASL risulta senza dubbio molto vantaggiosa nell'elaborazione dei dati reali.

I risultati forniti nelle due implementazioni, nello specifico per i valori di f_{Buxton} e di $DELTA_T$, sono stati successivamente confrontati tra loro mediante l'utilizzo di scatterplot. Lo scatterplot, o grafico di dispersione, è un particolare tipo di grafico in cui due variabili di un set di dati sono riportate in uno spazio cartesiano. I dati sono visualizzati tramite una collezione di punti ciascuno con una posizione sull'asse orizzontale determinato da una variabile e sull'asse verticale determinato dall'altra. I grafici di dispersione vengono generalmente utilizzati per visualizzare il grado di correlazione di due variabili: costituisce quindi un buon indicatore per analizzare, puntualmente, i valori stimati qualora fossero applicate le stesse condizioni di partenza. Per linearità di esposizione i risultati nel caso di convoluzione, così come gli scatterplot ottenuti, non sono stati riportati nelle pagine seguenti. Si è preferito in questa sede concedere maggiore spazio ai metodi finali di riferimento lasciando i confronti esclusivamente alla sezione dedicata alle simulazioni.

3.3.2 *Componente macrovascolare*

Per ottenere le informazioni TE-pCASL relative al solo contributo macrovascolare è necessario, prima della fase di decoding, sottrarre i dati *Macro* da quelli *Tissue*. Così facendo, eliminando quasi completamente la componente tessutale dagli stessi, è possibile valutare il segnale derivante dalle arterie maggiori prima di raggiungere i distretti cerebrali interessati come la materia grigia (GM).

Nonostante la relativa semplicità del modello applicato e la consueta procedura ai minimi quadrati non lineari, a livello computazionale risulta molto difficile stimare i

parametri relativi a tale contributo. Per alleggerire il carico oneroso e per migliorare la quantificazione complessiva, in seguito all'applicazione della matrice di Hadamard è stato sviluppato un clustering KMEANS per selezionare solamente quei voxel, limitati in numero, caratterizzati da un andamento temporale desiderato ⁽¹³⁾. In generale, la procedura di clustering consiste in un gruppo di metodologie attraverso le quali è possibile definire dei gruppi, i cluster per l'appunto, di variabili omogenee all'interno del gruppo a cui appartengono (all'interno cioè dello stesso cluster) e disomogenee rispetto alle variabili appartenenti ad altri gruppi. Nel caso KMEANS, basato sulla definizione di un concetto di distanza, le variabili vengono suddivise in cluster cercando di ottimizzare una funzione predefinita. Tale funzione codifica il criterio di omogeneità all'interno del gruppo e disomogeneità tra i gruppi: ne è un esempio la minimizzazione del rapporto tra varianza entro cluster e varianza tra cluster, una volta fissato il numero di cluster K totale. Nel caso in esame, i numeri di cluster testati sono nell'ordine [4 – 5 – 6 – 7 – 8]. Uno o più gruppi saranno rappresentativi della componente macrovascolare desiderata, mentre i rimanenti saranno attribuibili al background: solamente un'analisi successiva permetterà di distinguere il numero di gruppi ottimale nonché, all'interno dei singoli tentativi, di identificare i cluster significativi. Una volta ottenute tutte queste caratteristiche sarà possibile applicare il modello della sola componente macrovascolare ai voxel utili così selezionati.

3.3.3 *Componenti macrovascolare e tessutale*

Tutte le considerazioni fatte convergono ora nella definizione del modello comprensivo di entrambe le componenti indagate. L'applicazione ai dati reali costituisce lo scopo principale delle presenti Tesi. Infatti, se da un lato considera l'implementazione vera e propria della TE-pCASL_{adj}, dall'altro comprende il fenomeno della dispersione e della componente macrovascolare, approcci aggiuntivi solitamente non previsti nelle procedure ASL standard. I risultati conseguiti, in termini di mappe di perfusione nonché di boxplot, saranno cruciali per la valutazione di tutte le varianti introdotte e del processo di quantificazione scelto nel suo complesso.

4 Risultati ottenuti

Gli studi effettuati hanno come fine ultimo la quantificazione dei valori legati alla perfusione cerebrale (CBF) e ai tempi di arrivo del bolo magnetizzato nei distretti tessutale e macrovascolare. Questi forniscono importanti informazioni diagnostiche sullo stato di salute del paziente e sono ampiamente investigati attraverso le procedure ASL in ambito clinico. Condizioni patologiche più o meno importanti sono in grado, infatti, di modificare drasticamente i parametri descrittivi l'emodinamica cerebrale nel suo insieme, ed è da questo che nasce la necessità di uno studio sempre più complesso nonché preciso per spiegare i fenomeni che avvengono all'interno del cervello.

Nelle pagine seguenti sono riportati i risultati conseguiti nel caso delle simulazioni e dei dati reali presentati nel Capitolo 3. In particolare, per una lettura più approfondita di quanto emerso dagli esami di risonanza magnetica, la strada che verrà intrapresa segue due percorsi paralleli. Preliminarmente, sono riportate le mappe cerebrali ottenute, a seconda del modello selezionato, per tutti i parametri investigati con i relativi CV. Questo fornisce una misura qualitativa dell'effetto del label prodotto, delineando con buona risoluzione spaziale le differenti aree cerebrali. Solo in seguito saranno descritti i valori numerici trovati attraverso dei boxplot: così facendo sarà possibile capire quanto accuratamente la procedura di stima ha funzionato e quanto invece questa risulta critica nella rappresentazione della fisiologia reale del sistema.

4.1 Analisi quantitativa

Le soluzioni ottenute nel caso di simulazioni e di dati reali seguono passo per passo le metodologie illustrate nel Capitolo precedente. In particolare, bisogna sempre tenere in debita considerazione i modelli di riferimento adottati e i relativi parametri incogniti ricercati, ovvero: componente tessutale [Eq. 3.1]; componente macrovascolare [Eq. 3.2]; componenti macrovascolare e tessutale accoppiate tra loro [Eq. 3.3] [Eq. 3.4]. Per semplificare la trattazione e per ottenere risultati più accurati nell'analisi dei dataset reali disponibili, si ricorda nuovamente che i parametri s_kernel e p_kernel non sono

stato stimati; il fenomeno di dispersione verrà considerato esclusivamente attraverso le variazioni riscontrate in a_kernel (costante del termine esponenziale del nuovo kernel). Tutti i risultati sono indicati riportando, accanto a questi, i valori dei coefficienti di variazione CV relativi. I CV costituiscono un indicatore molto efficiente per valutare l'esito della procedura di stima, sia in termini di quantità numerica calcolata che in termini di dispersione degli stessi. In ogni caso, la valutazione effettiva di parametri e CV è stata realizzata mediante l'utilizzo di grafici boxplot sfruttando la funzione Matlab *boxplot*. Per ogni box, la particolare rappresentazione di riferimento prevede: il valore mediano (al centro, in rosso); il 25-esimo e il 75-esimo percentile (i bordi dei singoli box, in blu); i punti di estremo non considerati come outlier (i cosiddetti *whiskers*, in nero); gli outlier veri e propri, plottati individualmente (simbolo [+], in rosso). Nel caso delle simulazioni, per consentire un confronto con i dati impostati nelle fasi iniziali, è riportato il valore vero a seconda di ogni singolo parametro; quest'ultimo è denotato con [*] in nero al centro del box corrispondente. Sempre in queste, inoltre, per ogni parametro calcolato (e per ogni CV) si sottolinea l'importanza della dispersione dell'ingresso scelto, dal caso Ideal AIF a quelli definiti da una determinata dispersione. Così facendo, è possibile confrontare in modo veloce ed efficiente l'esito prodotto, a seconda delle condizioni iniziali imposte, dai vari modelli testati.

Ricordando che nelle simulazioni la componente tessutale è stata risolta mediante soluzione analitica e soluzione con convoluzione mentre la componente macrovascolare è stata risolta sfruttando *gamma kernel* e *exp kernel*, per questa particolare sezione verranno proposti i livelli di correlazione dei differenti approcci utilizzando degli scatterplot. Più precisamente, i grafici di dispersione rappresentano i valori numerici di un metodo in ascissa e i valori prodotti dall'altro in ordinata; dipendendo significativamente dal livello di dispersione di AIF, nelle simulazioni tali scatterplot sono stati calcolati per ogni ingresso imposto al sistema di partenza.

Infine, come preannunciato, nel caso di dati reali sono riportate le mappe cerebrali dei singoli parametri cercati. Forse in modo più evidente rispetto all'analisi tramite boxplot, le immagini presentate permettono di capire a colpo d'occhio il livello di distribuzione di un certo parametro in dipendenza dal distretto cerebrale. Questo risulta decisamente preponderante per la valutazione complessiva di *CBF*.

4.2 Valutazione delle simulazioni

La valutazione preliminare dei risultati prodotti dalle simulazioni fornisce importanti informazioni quantitative sui valori attesi dei parametri indagati. L'analisi di dati ASL includendo all'interno della formulazione dei singoli modelli la dispersione di AIF e la componente macrovascolare aggiuntiva, infatti, non è generalmente adottata nelle procedure standard di quantificazione. Non c'è quindi da stupirsi se le soluzioni prodotte non rientrano completamente con quanto noto dalla letteratura di riferimento. Quello che interessa studiare, forse più di ogni altra cosa, è se la dispersione influenza in modo rilevante la procedura complessiva adottata. In altre parole, bisognerà verificare se i parametri s_kernel e p_kernel , così come a_kernel , sono in grado di ricostruire con precisione l'ingresso imposto in fase preliminare: questo passo ulteriore verrà analizzato nel dettaglio per la sola componente tessutale.

4.2.1 Componente tessutale

La FIG. 4.1 mostra i primi risultati prodotti in fase implementativa. Le prime due colonne sono rappresentative delle soluzioni ottenute tramite svolgimento analitico, mentre le rimanenti quattro riportano le stime applicando la convoluzione all'interno del modello di Buxton. Risulta evidente come la soluzione analitica fornisca, in base ai CV, valori decisamente più affidabili rispetto alla seconda metodologia; inoltre, anche le dimensioni dei singoli box risultano molto più contenute. Date le numerose ipotesi alla base di questo tipo di risoluzione, la variabilità dei singoli parametri non risulta tuttavia vincolante e i riferimenti iniziali possono essere facilmente identificati. Oltre a questo, bisogna però sottolineare che operando in un contesto di questo tipo non è possibile considerare la dispersione dell'Arterial Input Function.

La soluzione con convoluzione permette in ogni caso una descrizione rilassata delle singole stime, mostrando un'applicabilità decisamente più ampia. A livello numerico, f_Buxton e $DELTA T$ non evidenziano comunque grandi differenze nei due casi. Come atteso, però, i parametri relativi alla dispersione s_kernel e p_kernel risultano molto critici nel processo di quantificazione. Il primo, considerando quanto detto, è in grado di

distinguere le differenti “sharpness” delle singole curve (Low, Mean e High) riportando un andamento decrescente progressivo nei valori finali. Il secondo, invece, appare significativamente molto difficile da quantificare, come è possibile constatare anche dall’analisi dei CV.

Un ulteriore elemento di confronto tra i due metodi presentati è la valutazione del criterio di informazione di Akaike, in grado di fornire una misura della qualità della stima di un modello statistico considerando sia la bontà di adattamento dello stesso che la complessità del modello. Avendo definito $AIC = N \cdot \log(WRSS) + 2M$, con N istanti temporali, M parametri incogniti e $WRSS$ somma dei residui pesati al quadrato, in 400/400 casi l’indice di parsimonia riconosce come riferimento ottimo quello analitico.

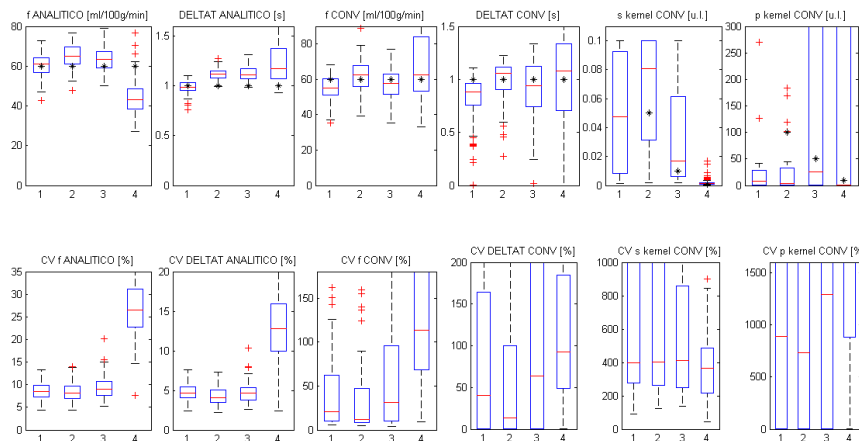


FIG. 4.1. Stima dei parametri e CV [%] per la componente tessutale al variare dell’ingresso AIF: 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Gamma Kernel); 3. Mean Dispersion (Gamma Kernel); 4. High Dispersion (Gamma Kernel).

Le analisi degli scatterplot di FIG. 4.2 indicano i livelli di correlazione al variare dell’ingresso AIF. I grafici riportati evidenziano come la corrispondenza puntuale dei risultati prodotti è molto elevata, in particolar modo per i valori di perfusione, indice di stime strettamente correlate qualora il sistema oggetto d’indagine fosse descritto dai medesimi segnali rumorosi. Le nuvole di punti generate passando da un ingresso ideale ad una AIF completamente dispersa sembrano però dissolversi progressivamente. L’andamento teorico ideale presentato dai grafici scatterplot, avente tutti i valori trovati lungo la diagonale principale, appare comunque rispettato. La soluzione analitica, caratterizzata da un costo computazionale molto vantaggioso, sarà quindi la scelta preferita anche nelle analisi successive.

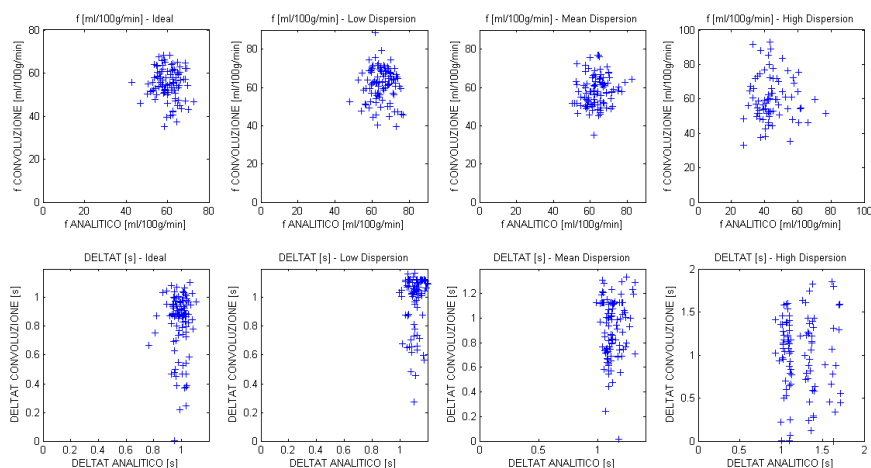


FIG. 4.2. Correlazione di f_{Buxton} e $DELTAT$ nei due metodi con un ingresso Ideal (Box-Car), Low Dispersion (Gamma Kernel), Mean Dispersion (Gamma Kernel) e High Dispersion (Gamma Kernel).

Considerando solamente la soluzione con convoluzione, in fase di post-processing si è voluto inoltre indagare quanto accuratamente la presente metodologia fosse in grado di ricostruire la rispettiva AIF in base ai parametri stimati s_{kernel} e p_{kernel} . Questo tipo di analisi è stata condotta anche nel caso Ideal AIF in cui gli effetti di dispersione sono totalmente assenti.

Il primo passo realizzato è rappresentato dall'osservazione dell'andamento delle curve prodotte dagli 11 sub-boli rispetto alle stesse costruite all'inizio delle simulazioni a livello puramente qualitativo (non riportato nelle pagine seguenti). Successivamente, per produrre dei risultati numerici significativi sono stati calcolati TTP (Time To Peak) e $FWHM$ (Full Width at Half Maximum). Questi due valori rappresentano un criterio quantitativo di indagine molto interessante per confrontare i differenti esiti prodotti, in particolare: TTP indica il tempo di picco responsabile di ogni singolo sub-bolo; $FWHM$, in generale, fornisce un'espressione della larghezza di una funzione data dalla differenza tra i valori assunti dalla variabile indipendente quando la variabile dipendente è pari a metà del suo valore massimo. I boxplot finali sono riportati in FIG. 4.3, FIG. 4.4, FIG. 4.5 e FIG. 4.6 seguendo la medesima notazione prima descritta. Tutti i risultati conseguiti, con una precisione variabile, mostrano andamenti confrontabili con i valori prodotti dalle curve reali di partenza; qualche eccezione si riscontra nel caso High dispersion. Come atteso, i tempi TTP descrivono un aumento progressivo all'aumentare del bolo marcato selezionato. Le quantità $FWHM$, invece, diminuiscono gradualmente essendo minore la durata degli ultimi blocchi della $TE-pCASL_{adj}$.

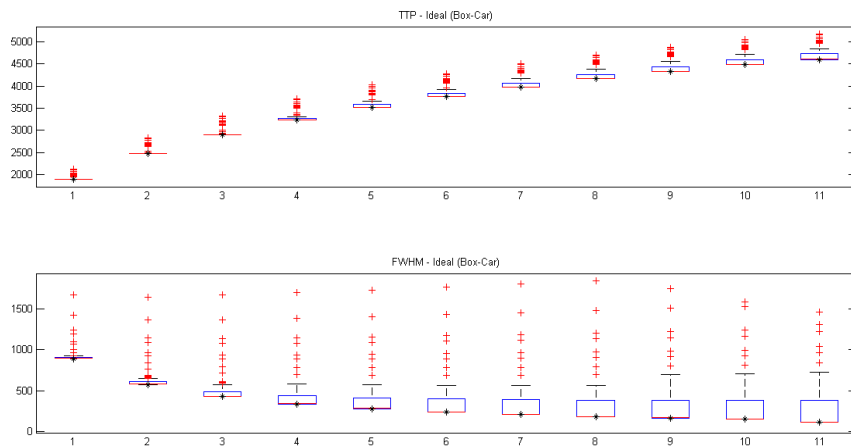


FIG. 4.3. *TTP* e *FWHM* per parametri stimati con convoluzione con un ingresso Ideal (Box-Car).

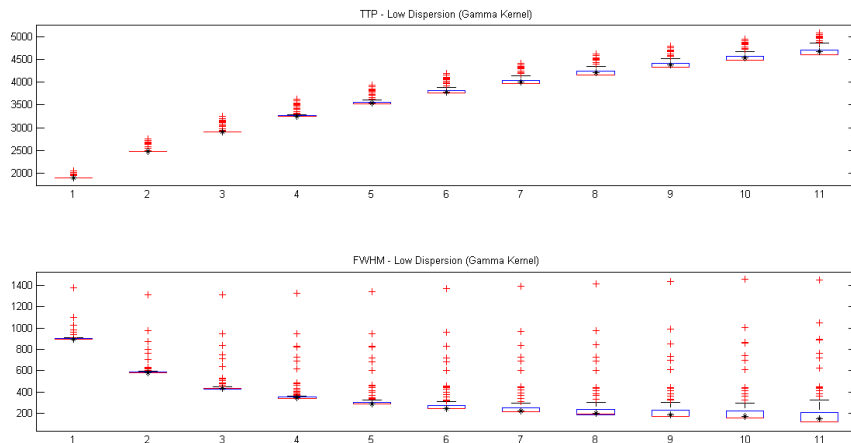


FIG. 4.4 *TTP* e *FWHM* per parametri stimati con convoluzione con un ingresso Low Dispersion (Gamma Kernel).

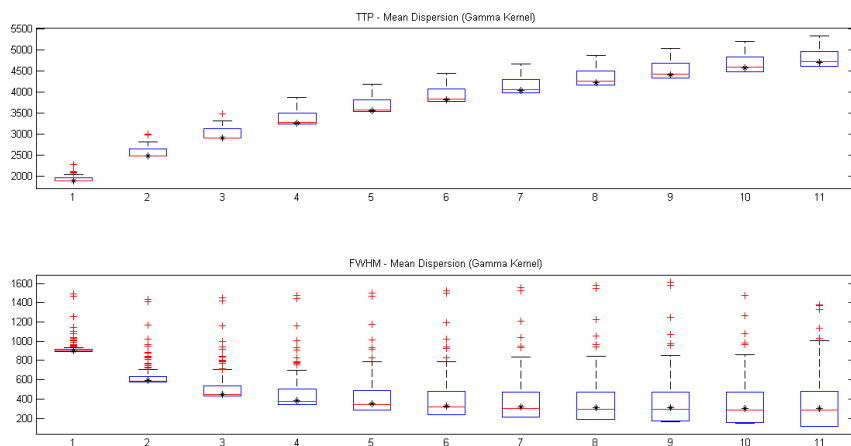


FIG. 4.5. *TTP* e *FWHM* per parametri stimati con convoluzione con un ingresso Mean Dispersion (Gamma Kernel).

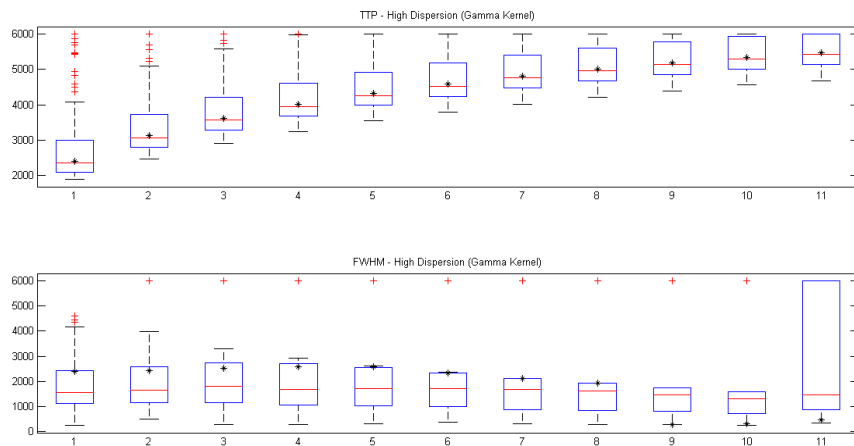


FIG. 4.6. *TTP* e *FWHM* per parametri stimati con convoluzione con un ingresso High Dispersion (Gamma Kernel).

4.2.2 Componente macrovascolare

L'analisi del contributo puramente macrovascolare, responsabile della parte iniziale dei segnali creati, è riportata a seconda dell'Arterial Input Function di partenza in FIG. 4.7, FIG. 4.8, FIG. 4.9 e FIG. 4.10 per quanto riguarda il modello *gamma kernel* e in FIG. 4.11, FIG. 4.12, FIG. 4.13 e FIG. 4.14 per quanto riguarda il modello *exp kernel*. Nel complesso, i boxplot presentati mostrano tempi di arrivo del bolo nei distretti relativi alle arterie maggiori molto prossimi ai valori impostati, con qualche difficoltà nel riconoscere il parametro corrente in presenza di un ingresso ideale.

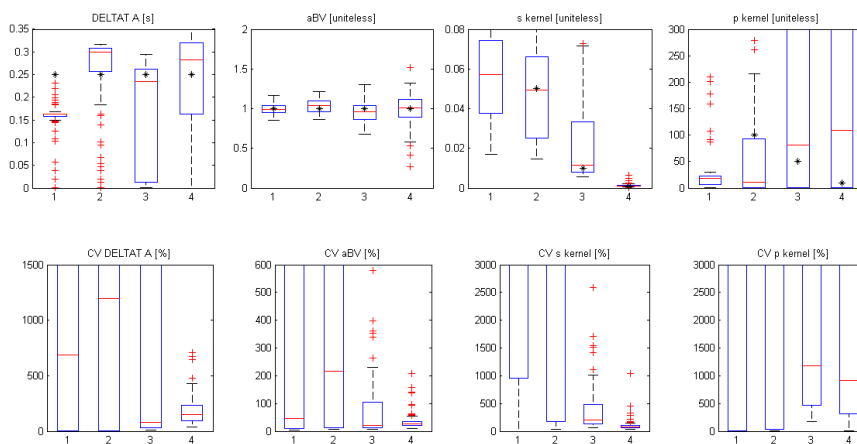


FIG. 4.7. Stima dei parametri e CV [%] per la componente macrovascolare per $aBV = 1$ al variare dell'ingresso AIF:

1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Gamma Kernel); 3. Mean Dispersion (Gamma Kernel); 4. High Dispersion (Gamma Kernel).

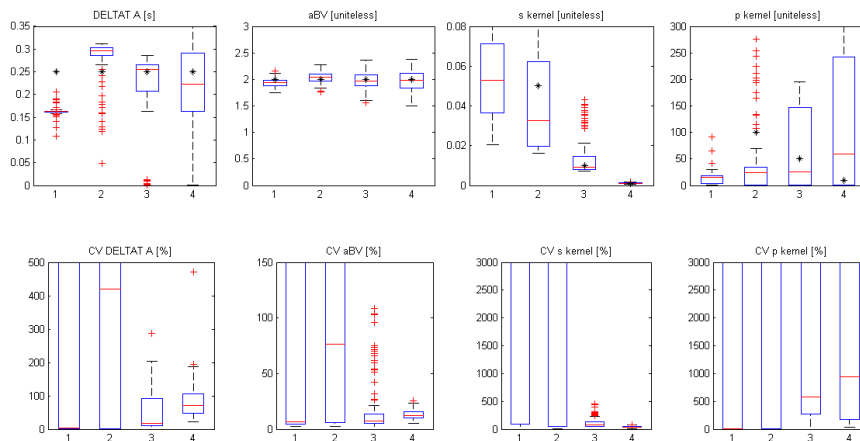


FIG. 4.8. Stima dei parametri e CV [%] per la componente macrovascolare per $aBV = 2$ al variare dell'ingresso AIF:
 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Gamma Kernel); 3. Mean Dispersion (Gamma Kernel); 4. High Dispersion (Gamma Kernel).

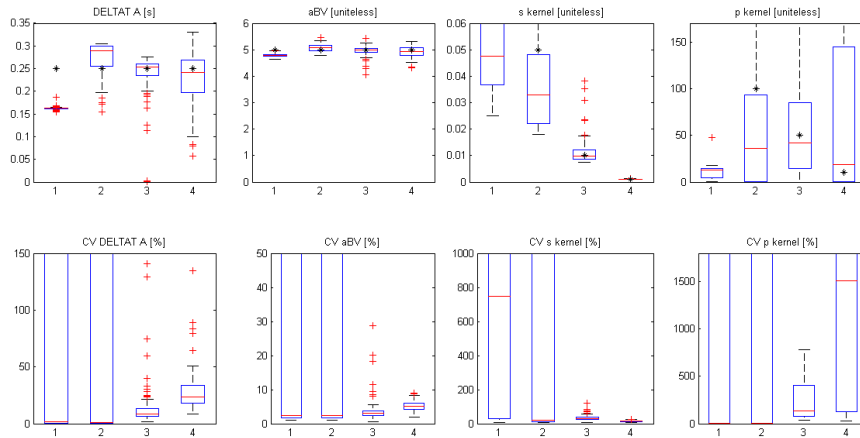


FIG. 4.9. Stima dei parametri e CV [%] per la componente macrovascolare per $aBV = 5$ al variare dell'ingresso AIF:
 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Gamma Kernel); 3. Mean Dispersion (Gamma Kernel); 4. High Dispersion (Gamma Kernel).

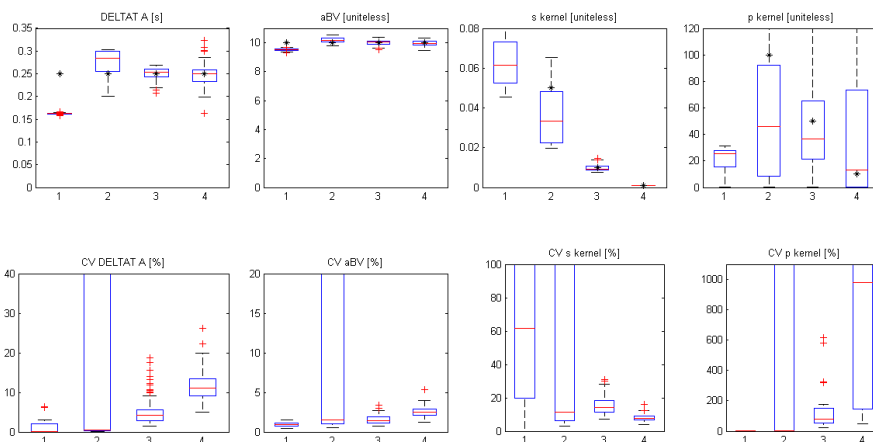


FIG. 4.10. Stima dei parametri e CV [%] per la componente macrovascolare per $aBV = 10$ al variare dell'ingresso AIF:
 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Gamma Kernel); 3. Mean Dispersion (Gamma Kernel); 4. High Dispersion (Gamma Kernel).

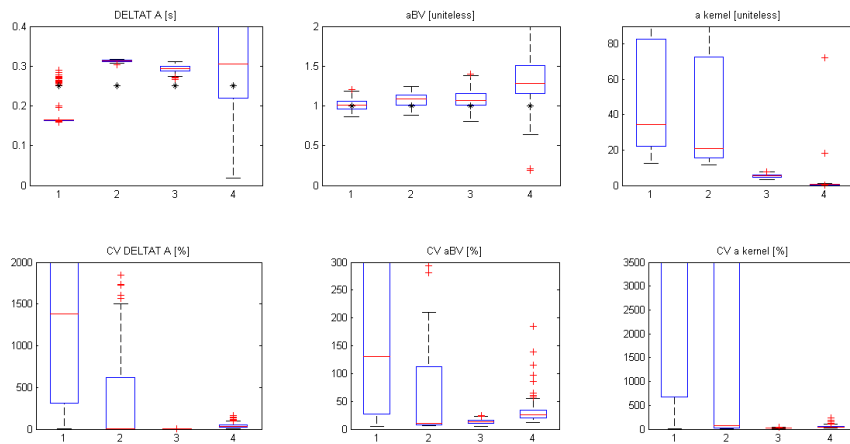


FIG. 4.11. Stima dei parametri e CV [%] per la componente macrovascolare per $aBV = 1$ al variare dell'ingresso AIF: 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Exp Kernel); 3. Mean Dispersion (Exp Kernel); 4. High Dispersion (Exp Kernel).

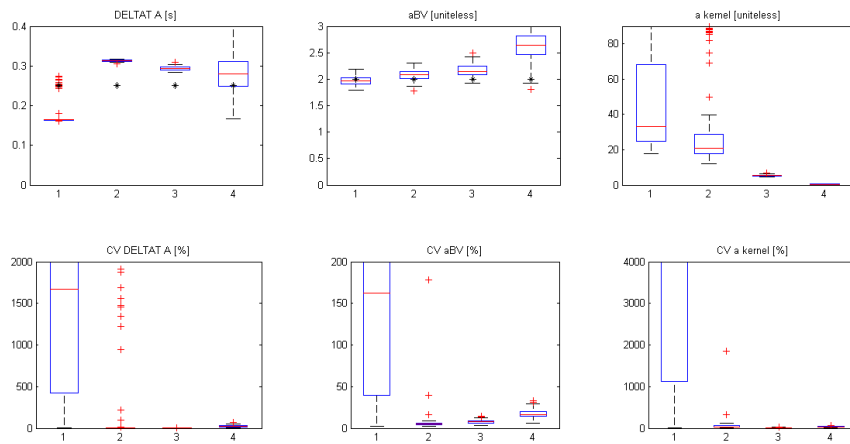


FIG. 4.12. Stima dei parametri e CV [%] per la componente macrovascolare per $aBV = 2$ al variare dell'ingresso AIF: 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Exp Kernel); 3. Mean Dispersion (Exp Kernel); 4. High Dispersion (Exp Kernel).

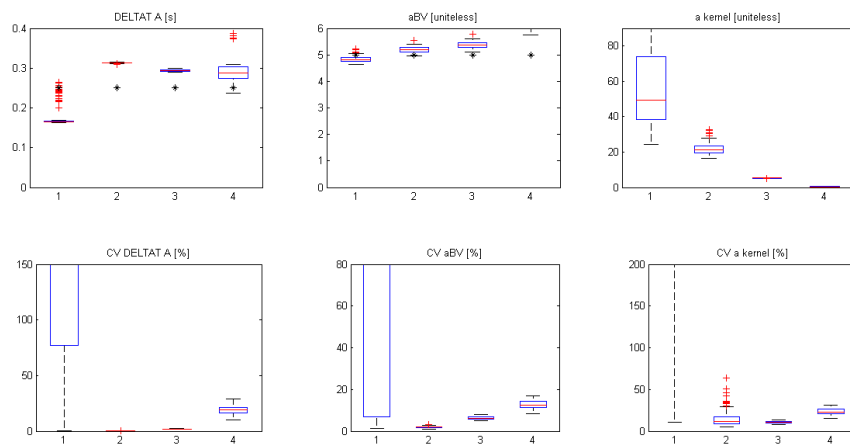


FIG. 4.13. Stima dei parametri e CV [%] per la componente macrovascolare per $aBV = 5$ al variare dell'ingresso AIF: 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Exp Kernel); 3. Mean Dispersion (Exp Kernel); 4. High Dispersion (Exp Kernel).

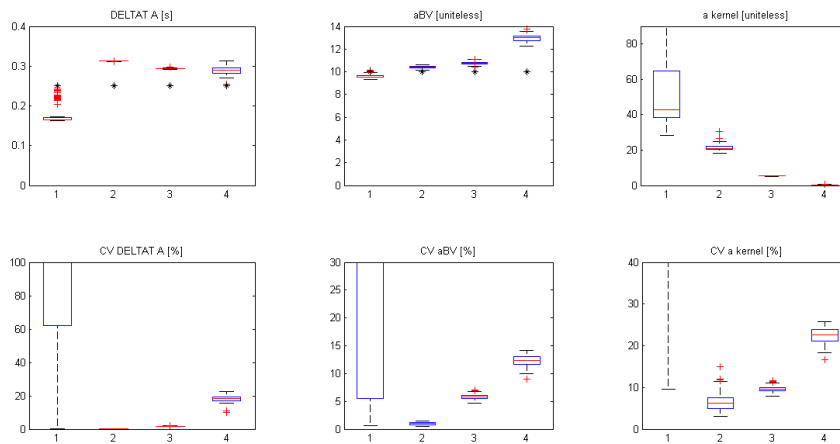


FIG. 4.14. Stima dei parametri e CV [%] per la componente macrovascolare per $aBV = 10$ al variare dell'ingresso AIF:
 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Exp Kernel); 3. Mean Dispersion (Exp Kernel); 4. High Dispersion (Exp Kernel).

Le stime di aBV producono in entrambi i casi valori numerici molto realistici nonché significativamente coerenti con quelli settati inizialmente; i modelli elaborati riescono quindi ad identificare il fattore di scala arteriale in modo molto preciso.

Per quanto riguarda i parametri di dispersione, in *gamma kernel* possono essere ricavate considerazioni analoghe a quanto descritto nel caso tessutale. Nello specifico: l'andamento decrescente di s_kernel all'aumentare del livello di dispersione; l'enorme difficoltà nella stima di p_kernel , sia in termini di valori medi che di CV. In *exp kernel*, invece, è possibile riscontrare una progressiva diminuzione nei valori di a_kernel così come accadeva per s_kernel . Tranne che per il caso ideale nelle differenti condizioni di dispersione questo secondo modello è in grado di identificare in modo più veloce ed efficiente la variabilità di AIF a seconda del fattore aBV imposto. Questo risulta particolarmente vantaggioso per il tipo di elaborazione che si intende realizzare nell'applicazione ai dati reali.

Anche in questo caso è stato valutato il criterio di informazione di Akaike definito come $AIC = N \cdot \log(WRSS) + 2M$, con N istanti temporali, M parametri incogniti e $WRSS$ somma dei residui pesati al quadrato. In 881/1600 simulazioni l'indice identifica *exp kernel* come modello ottimo per descrivere la dispersione di AIF. Il compromesso raggiunto tra numero di parametri e adattabilità della formulazione teorica sembra dunque confermare il miglioramento introdotto rispetto all'approccio *gamma kernel*.

Analogamente al caso tessutale, per l'analisi della componente macrovascolare sono stati calcolati i grafici di dispersione relativi ai parametri $DELATAT_A$ e aBV nei due

differenti modelli (FIG. 4.15). La situazione peggiora, seppur di poco, per i tempi di arrivo nei distretti relativi alle arterie maggiori all'aumentare dell'incertezza dell'ingresso. I risultati proposti sembrano tuttavia rientrare, come mostrato anche dai boxplot, nei limiti dell'accettabilità data l'elevata complessità del fenomeno trattato. Il fattore aBV evidenzia invece livelli di correlazione molto elevati: l'entità del contributo macrovascolare sembra almeno fino a questo punto un parametro relativamente semplice da stimare.

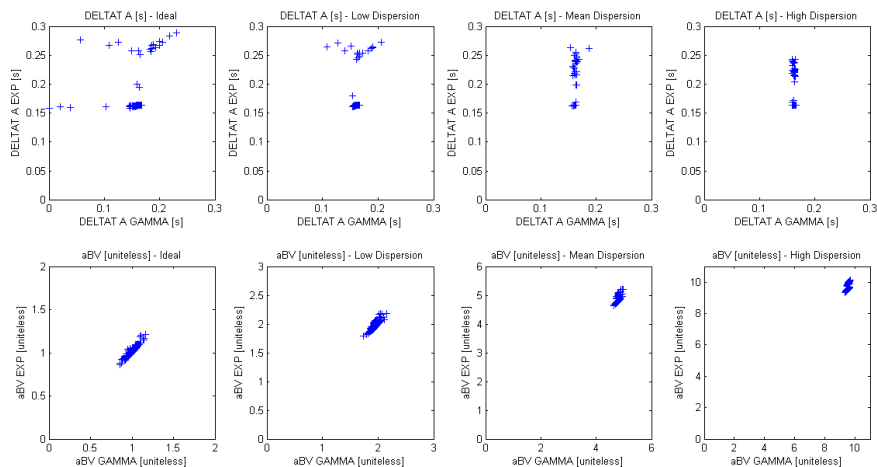


FIG. 4.15. Correlazione di $DELTAT_A$ e aBV nei due metodi con un ingresso Ideal (Box-Car), Low Dispersion (Gamma/Exp Kernel), Mean Dispersion (Gamma/Exp Kernel) e High Dispersion (Gamma/Exp Kernel).

4.2.3 Componenti macrovascolare e tessutale

I parametri relativi alle componenti macrovascolare e tessutale sono stati dunque calcolati considerando esplicitamente la dispersione di AIF a livello cerebrale. I boxplot ottenuti sono indicati in FIG. 4.16, FIG. 4.17, FIG. 4.18 e FIG. 4.19 per la risoluzione con convoluzione e γ kernel e in FIG. 4.20, FIG. 4.21, FIG. 4.22 e FIG. 4.23 per la risoluzione analitica e \exp kernel. In particolare, avendo calcolato gli effetti prodotti nel caso $aBV = 0$, i boxplot di FIG. 4.16 e FIG. 4.20 dovrebbero riportare le stime nella condizione della sola componente tessutale proposti in FIG. 4.1. Tale confronto appare decisamente significativo per i valori della perfusione cerebrale CBF e dei tempi di arrivo del bolo nel tessutale $DELTAT$.

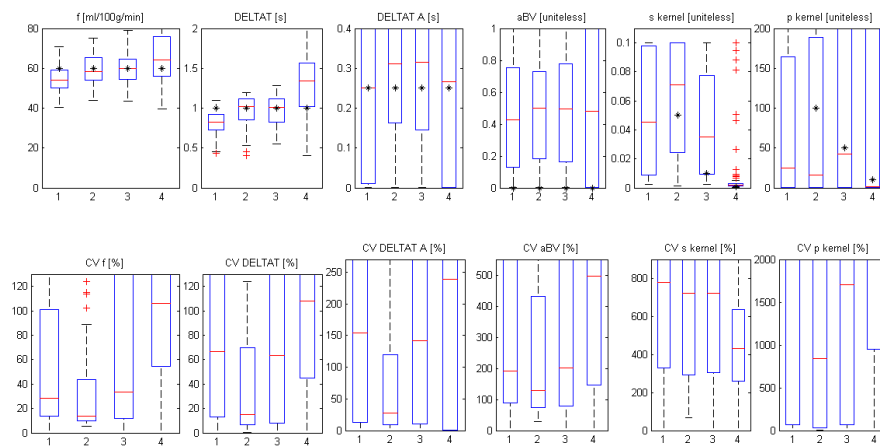


FIG. 4.16. Stima dei parametri e CV [%] per componenti macrovascolare e tessutale per $aBV = 0$ al variare dell'ingresso AIF:
 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Gamma Kernel); 3. Mean Dispersion (Gamma Kernel); 4. High Dispersion (Gamma Kernel).

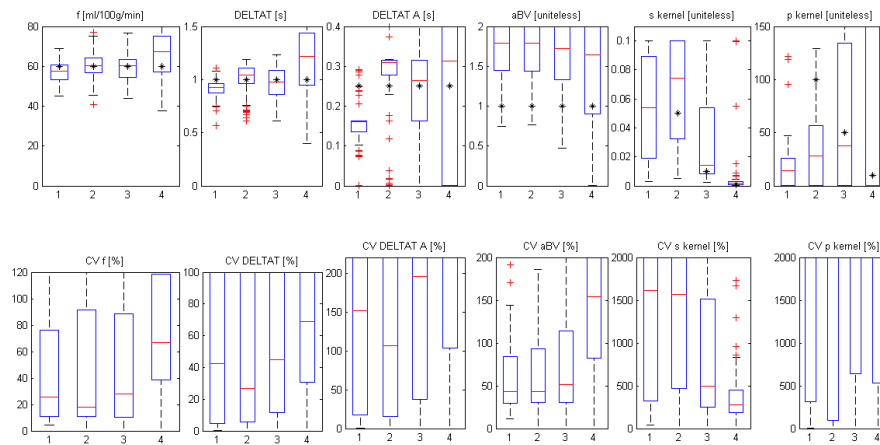


FIG. 4.17. Stima dei parametri e CV [%] per componenti macrovascolare e tessutale per $aBV = 1$ al variare dell'ingresso AIF:
 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Gamma Kernel); 3. Mean Dispersion (Gamma Kernel); 4. High Dispersion (Gamma Kernel).

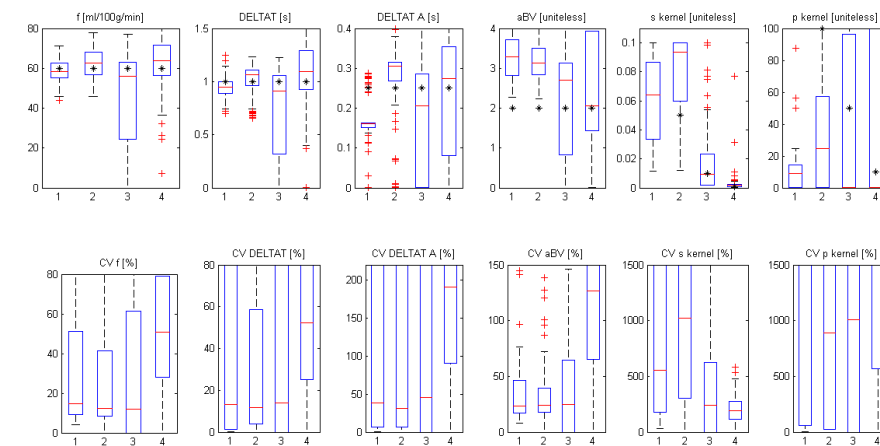


FIG. 4.18. Stima dei parametri e CV [%] per componenti macrovascolare e tessutale per $aBV = 2$ al variare dell'ingresso AIF:
 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Gamma Kernel); 3. Mean Dispersion (Gamma Kernel); 4. High Dispersion (Gamma Kernel).

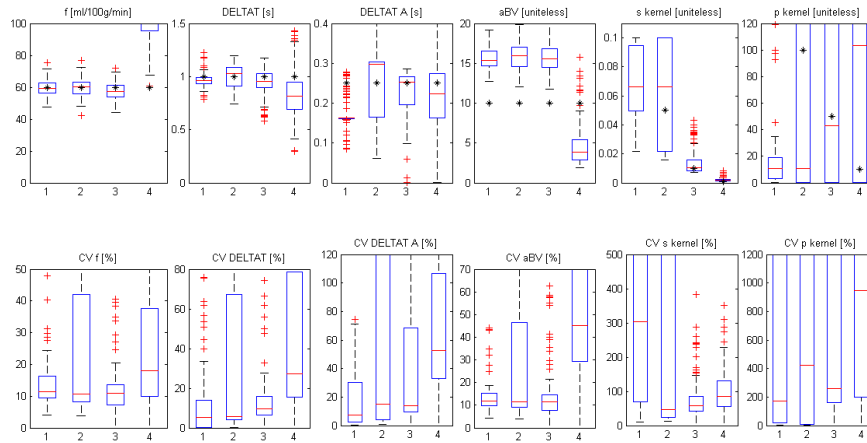


FIG. 4.19. Stima dei parametri e CV [%] per componenti macrovascolare e tessutale per $aBV = 10$ al variare dell'ingresso AIF:
 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Gamma Kernel); 3. Mean Dispersion (Gamma Kernel); 4. High Dispersion (Gamma Kernel).

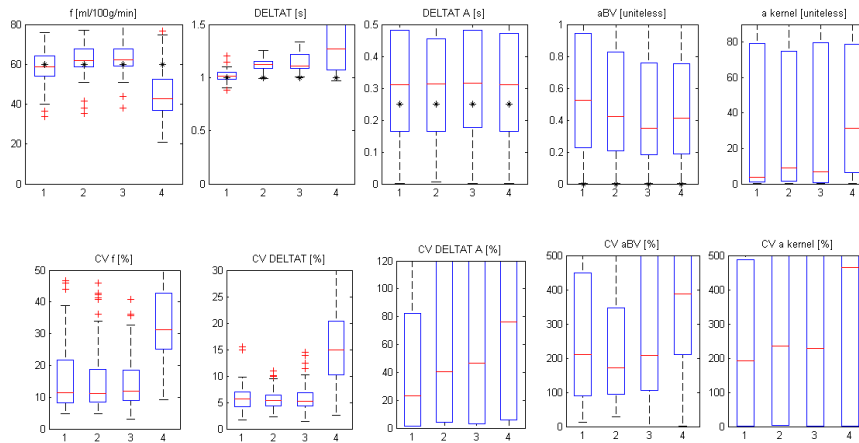


FIG. 4.20. Stima dei parametri e CV [%] per componenti macrovascolare e tessutale per $aBV = 0$ al variare dell'ingresso AIF:
 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Exp Kernel); 3. Mean Dispersion (Exp Kernel); 4. High Dispersion (Exp Kernel).

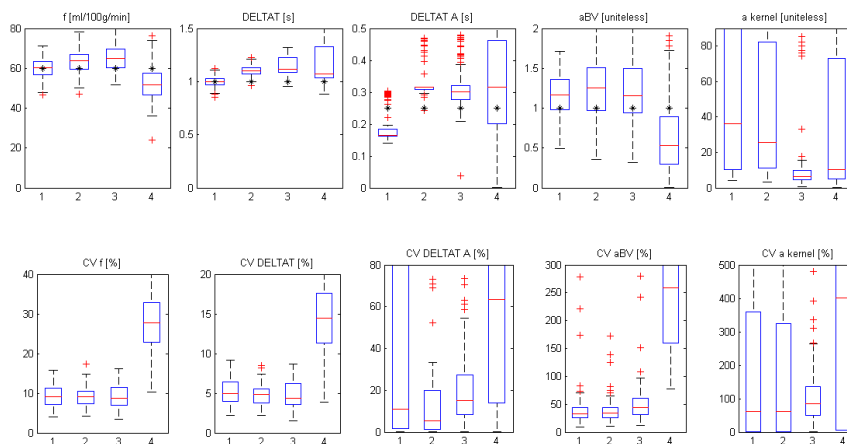


FIG. 4.21. Stima dei parametri e CV [%] per componenti macrovascolare e tessutale per $aBV = 1$ al variare dell'ingresso AIF:
 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Exp Kernel); 3. Mean Dispersion (Exp Kernel); 4. High Dispersion (Exp Kernel).

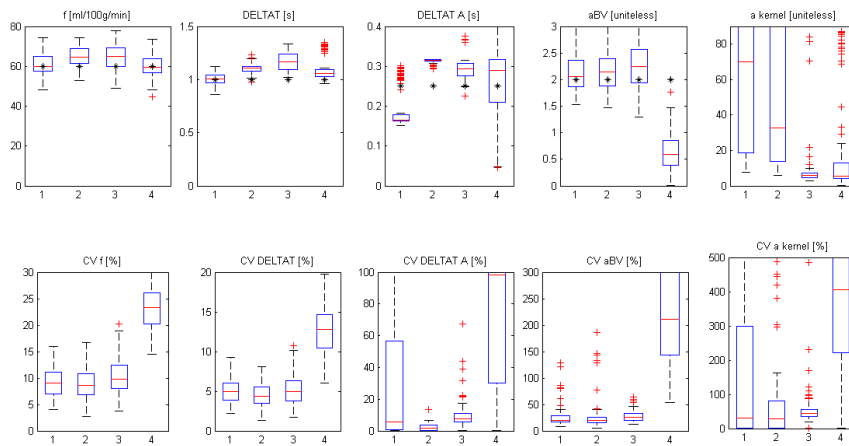


FIG. 4.22. Stima dei parametri e CV [%] per componenti macrovascolare e tessutale per $aBV = 2$ al variare dell'ingresso AIF:
 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Exp Kernel); 3. Mean Dispersion (Exp Kernel); 4. High Dispersion (Exp Kernel).

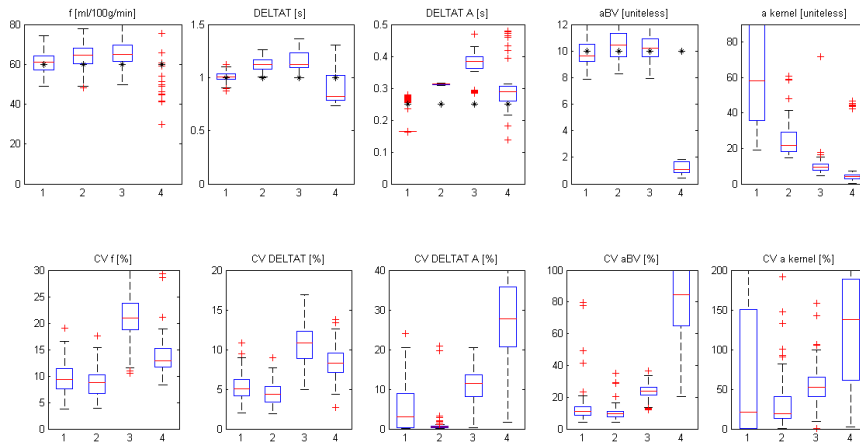


FIG. 4.23. Stima dei parametri e CV [%] per componenti macrovascolare e tessutale per $aBV = 10$ al variare dell'ingresso AIF:
 1. Ideal (Box-Car); 2. Low Dispersion (Exp Kernel); 3. Mean Dispersion (Exp Kernel); 4. High Dispersion (Exp Kernel).

Anche in questa situazione è evidente la forte criticità nell'identificazione del fenomeno di dispersione: i CV di s_kernel e di p_kernel assumono infatti valori decisamente molto elevati. I CV di a_kernel , invece, risultano tutto sommato relativamente accettabili nonostante le evidenti difficoltà di stima nel caso $aBV = 0$. L'inserimento di questi parametri aggiuntivi permette però una descrizione più accurata della fisiologia propria del sistema cerebrale, com'è possibile evincere dai rimanenti termini emodinamici.

Nei quattro esempi riportati, a seconda dei modelli selezionati si dimostra come la precisione di CBF nonché la variabilità all'interno dei singoli box di $DELTAT$ e di $DELTAT_A$ siano in ogni caso migliorate. Riassumendo, considerando dispersione e

componente macrovascolare all'interno della formulazione del modello risulta possibile attribuire ai singoli parametri il valore numerico indagato più appropriato.

Infine, come fatto per le componenti tessutale e macrovascolare singolarmente prese nei grafici seguenti sono descritti gli scatterplot dei parametri finali conseguiti. Nel confronto tra soluzione con convoluzione e soluzione analitica per la parte tessutale (FIG. 4.24) la correlazione tra le stime finali appare molto significativa, soprattutto per i valori di $DELTA_T$ rispetto a FIG. 4.2. Nei casi *gamma kernel* e *exp kernel* per la parte macrovascolare (FIG. 4.25), invece, si evidenziano le medesime considerazioni fatte nel paragrafo precedente, ovvero la discreta difficoltà nella stima di $DELTA_T_A$ e l'ottima quantificazione finale del fattore di scala aBV .

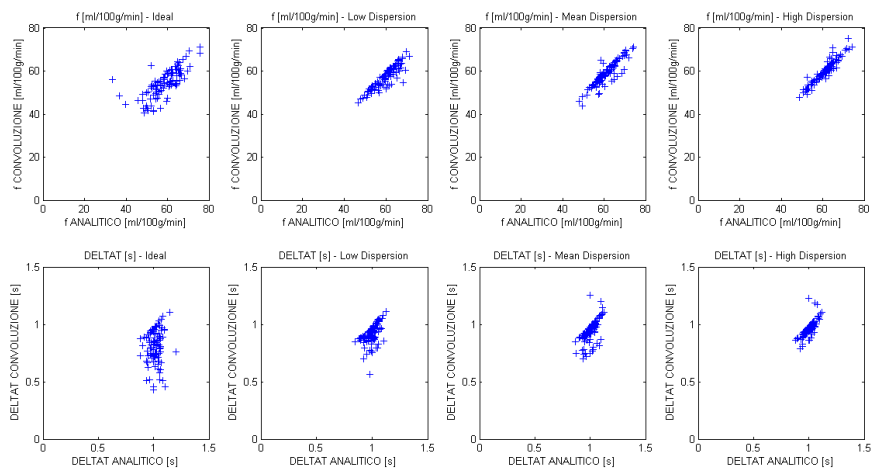


FIG. 4.24. Correlazione di f_{Buxton} e $DELTA_T$ nei due metodi con un ingresso Ideal (Box-Car), Low Dispersion (Gamma Kernel), Mean Dispersion (Gamma Kernel) e High Dispersion (Gamma Kernel).

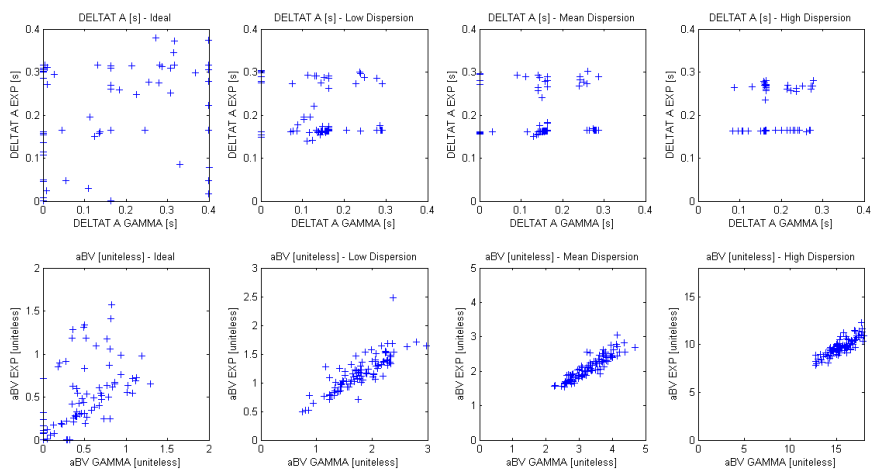


FIG. 4.25. Correlazione di $DELTA_T_A$ e aBV nei due metodi con un ingresso Ideal (Box-Car), Low Dispersion (Gamma/Exp Kernel), Mean Dispersion (Gamma/Exp Kernel) e High Dispersion (Gamma/Exp Kernel).

4.3 Valutazione dei dati reali

I risultati più informativi ed interessanti sono quelli ottenuti analizzando le mappe cerebrali dei dataset registrati dagli esami di risonanza magnetica. Delle quattro sessioni realizzate presso l’Ospedale Civile Maggiore di Verona Borgo Trento, nelle pagine seguenti saranno riportati i risultati qualitativi ottenuti in corrispondenza di una sola di queste. Sebbene l’intera fase implementativa sia stata applicata a tutti i dati effettivi a disposizione, la presenza di possibili artefatti da movimento e di possibili errori, dovuti al rumore di fondo o al processo di acquisizione, ha causato infatti la generazione di mappe sensibilmente differenti tra loro. Il dataset analizzato nello specifico è stato scelto sulla base della qualità delle immagini finali risultanti, in grado di spiegare in modo sufficientemente accurato i processi indagati. Le mappe costruite, in particolar modo quelle di *CBF*, costituiscono il fine ultimo di tutta l’elaborazione condotta. L’analisi tramite boxplot, invece, è stata descritta per ogni soggetto.

4.3.1 Componente tessutale

Le mappe prodotte per effetto della sola componente tessutale sono descritte in FIG. 4.26, FIG. 4.27, FIG. 4.28, FIG. 4.29, FIG. 4.30, FIG. 4.31, FIG. 4.32, FIG. 4.33, FIG. 4.34, FIG. 4.35, FIG. 4.36 e FIG. 4.37. Per ogni parametro indagato sono stati riportati, per completezza, i relativi CV calcolati per ogni voxel incluso nelle slice selezionate. In base agli studi analizzati durante le simulazioni, le stime finali sono state ricavate esclusivamente nel caso di soluzione analitica. Il calcolo di *CBF* fornisce risultati confrontabili rispetto alle mappe prodotte sfruttando gli approcci ASL tradizionali, distinguendo adeguatamente distretti cerebrali corrispondenti. Nello specifico, il caso analitico evidenzia in modo netto e marcato la materia grigia (GM). Anche dalle immagini dei coefficienti di variazione è possibile apprezzare la precisione nella stima di *DELTA*, nonostante l’estrema sensibilità di tale parametro. Coerentemente con quanto noto dalla fisiologia, in voxel corrispondenti alla materia bianca (WM) si riscontrano tempi di arrivo maggiori rispetto ai rimanenti.

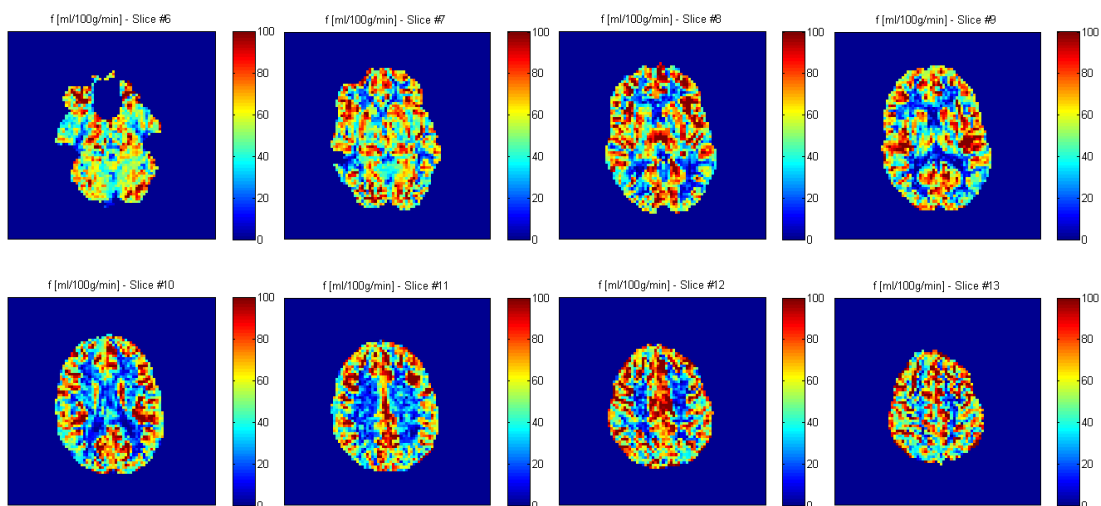


FIG. 4.26. Perfusione cerebrale f_{Buxton} [ml/100g/min] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione analitica.

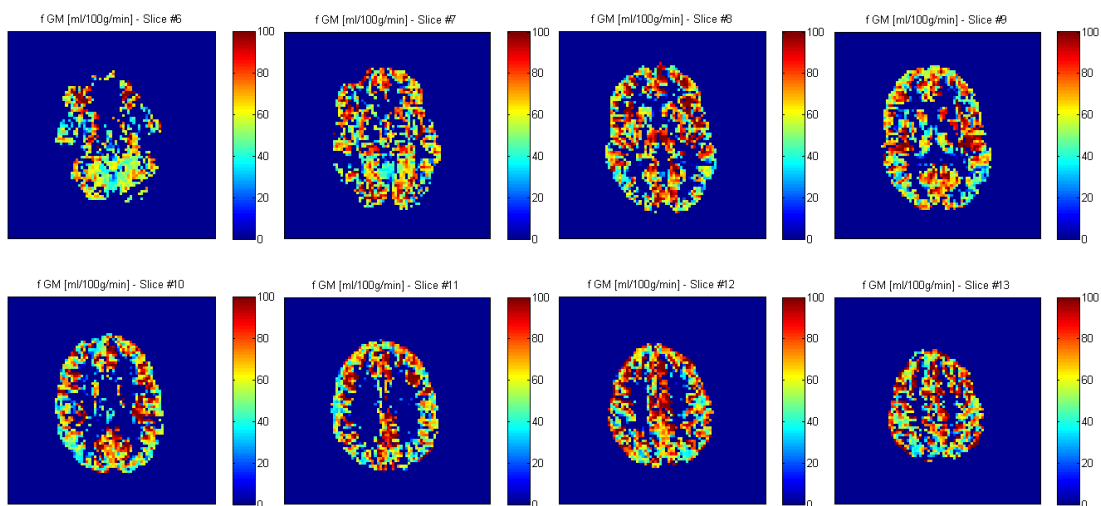


FIG. 4.27. Perfusione cerebrale f_{Buxton} [ml/100g/min] da Slice #6 a Slice #13 in GM – soluzione analitica.

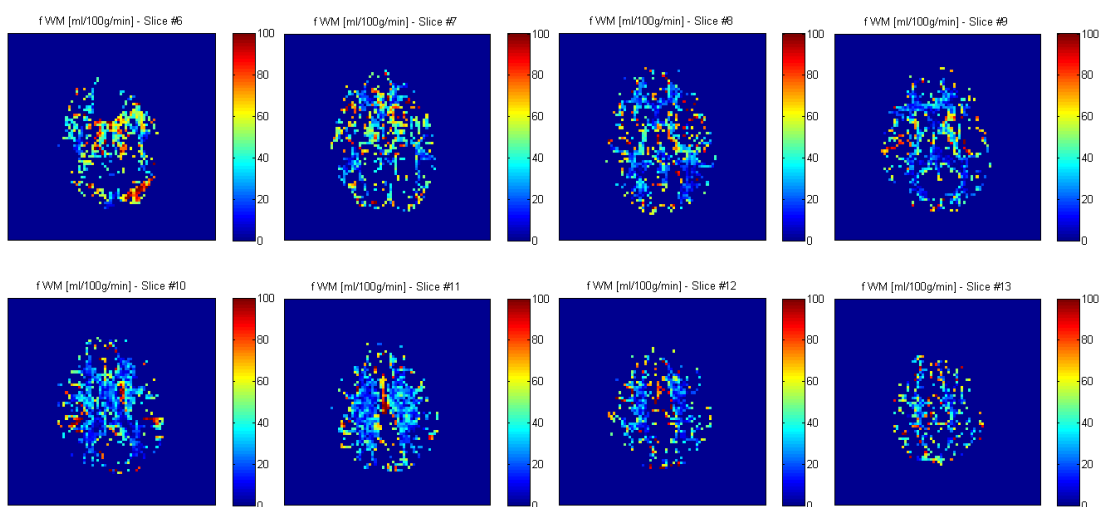


FIG. 4.28. Perfusione cerebrale f_{Buxton} [ml/100g/min] da Slice #6 a Slice #13 in WM – soluzione analitica.

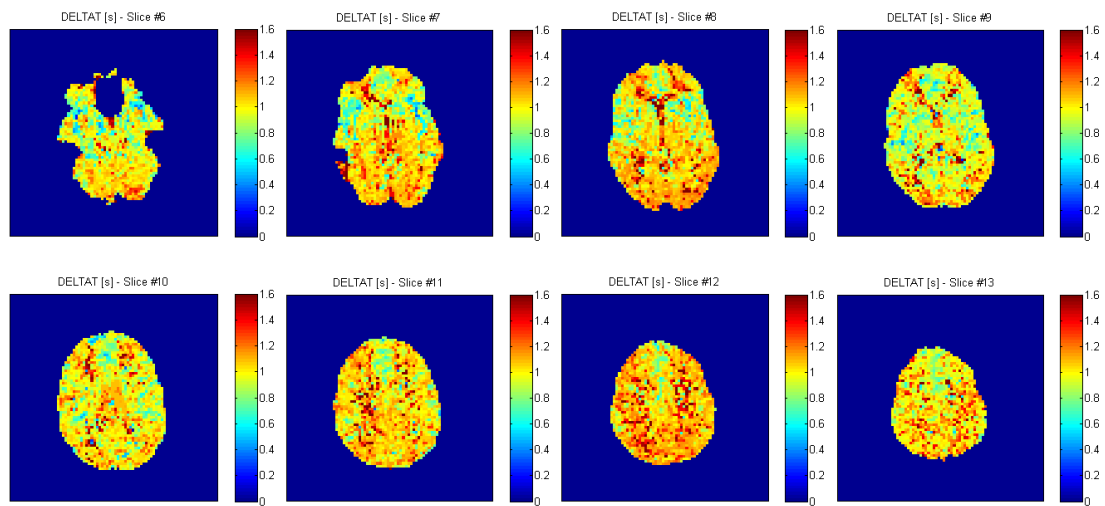


FIG. 4.29. *DELTAT* [s] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione analitica.

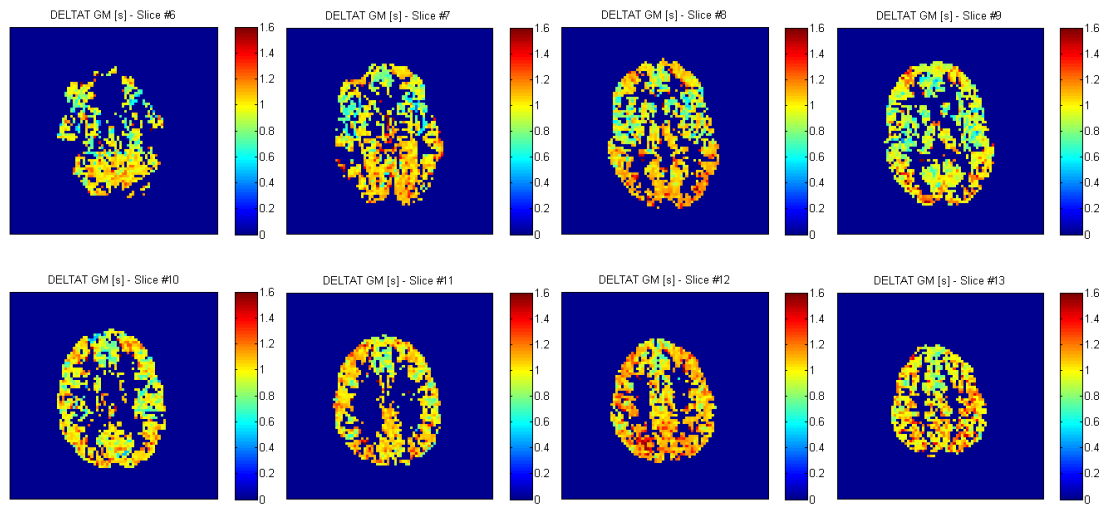


FIG. 4.30. *DELTAT* GM [s] da Slice #6 a Slice #13 in GM – soluzione analitica.

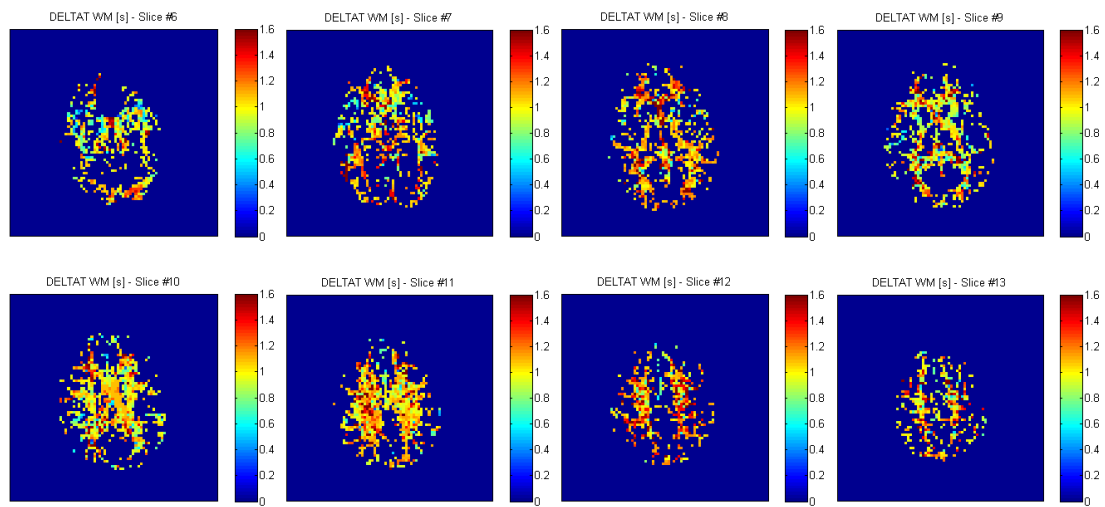


FIG. 4.31. *DELTAT* WM [s] da Slice #6 a Slice #13 in WM – soluzione analitica.

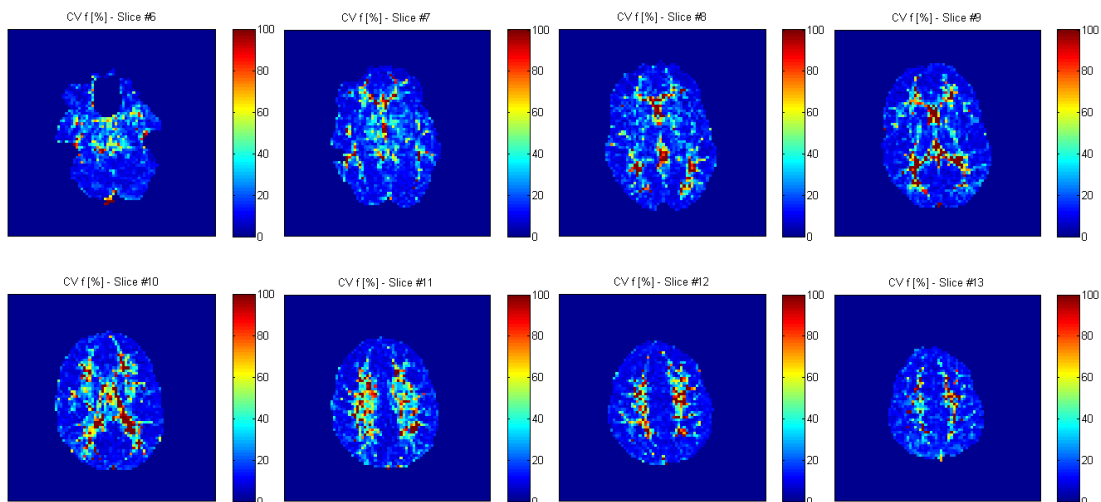


FIG. 4.32. CV [%] di perfusione cerebrale f_{Buxton} [ml/100g/min] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione analitica.

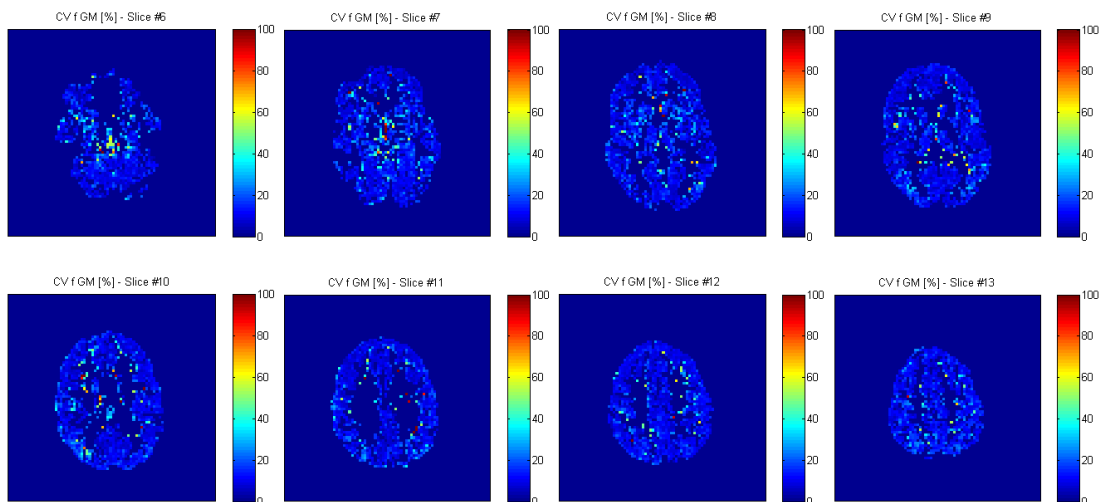


FIG. 4.33. CV [%] di perfusione cerebrale f_{Buxton} [ml/100g/min] da Slice #6 a Slice #13 in GM – soluzione analitica.

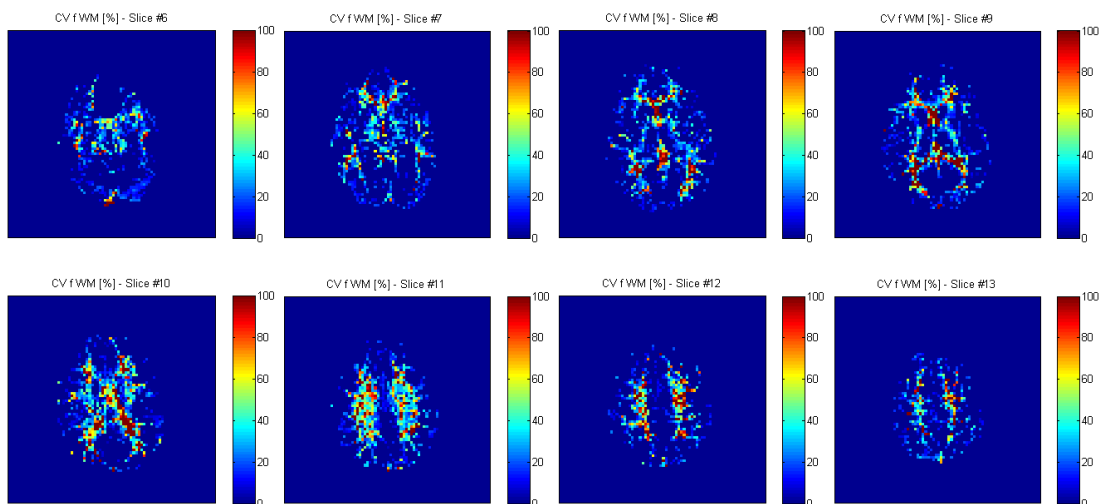


FIG. 4.34. CV [%] di perfusione cerebrale f_{Buxton} [ml/100g/min] da Slice #6 a Slice #13 in WM – soluzione analitica.

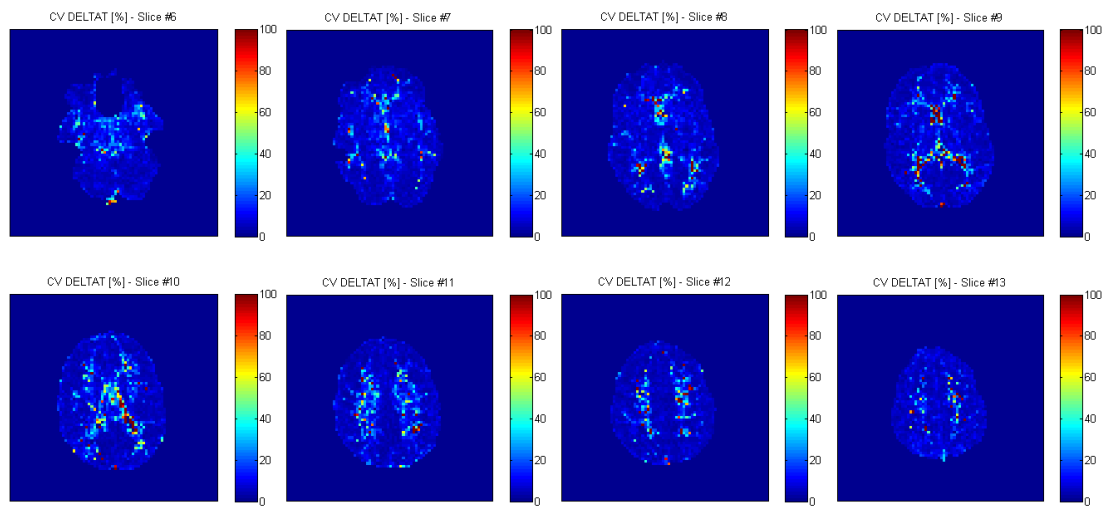


FIG. 4.35. CV [%] di $DEL TAT$ [s] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione analitica.

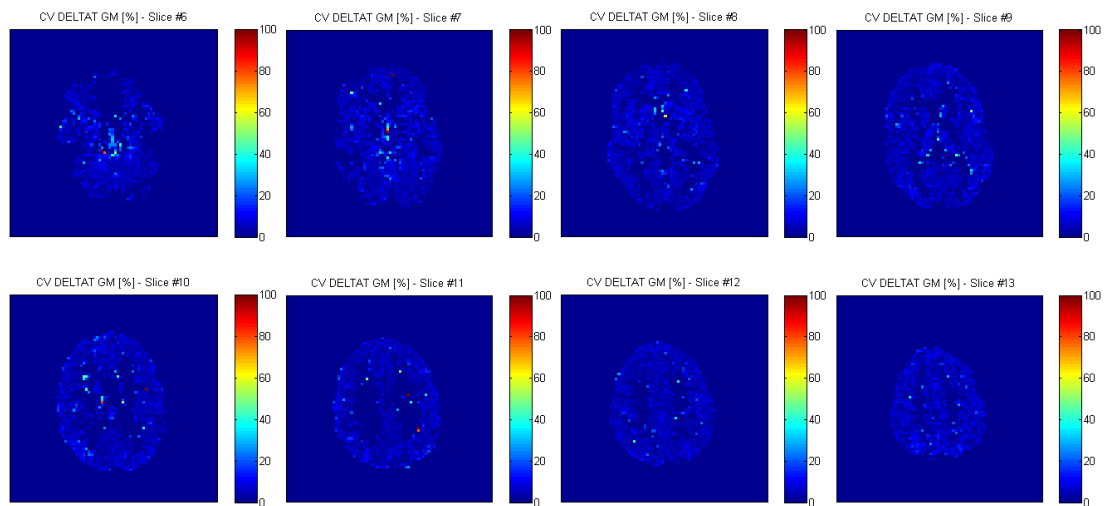


FIG. 4.36. CV [%] di $DEL TAT$ [s] da Slice #6 a Slice #13 in GM – soluzione analitica.

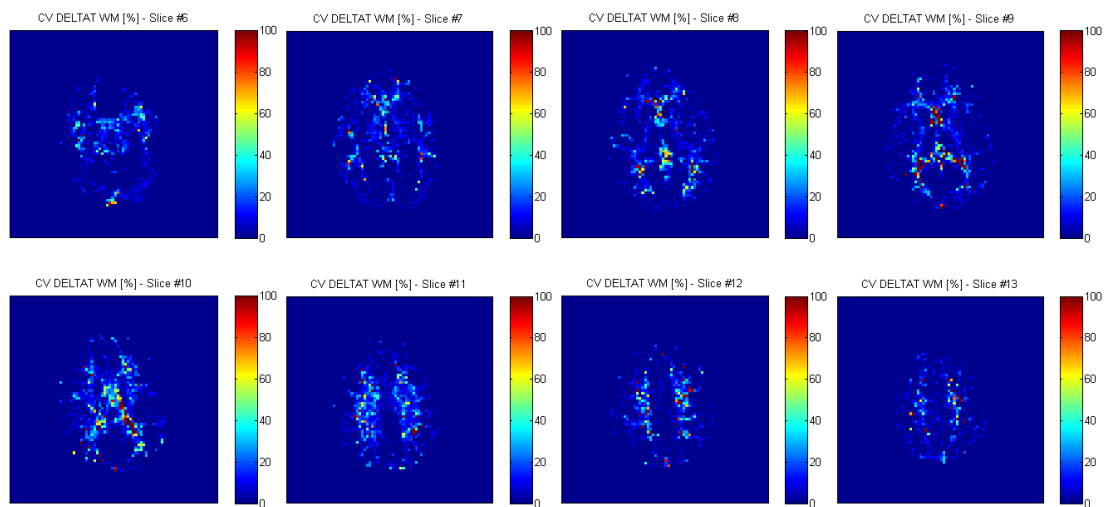


FIG. 4.37. CV [%] di $DEL TAT$ [s] da Slice #6 a Slice #13 in WM – soluzione analitica.

I risultati quantitativi della metodologia implementata sono mostrati nei boxplot di FIG. 4.38, FIG. 4.39, FIG. 4.40, FIG. 4.41, FIG. 4.42, FIG. 4.43, FIG. 4.44 e FIG. 4.45. Le soluzioni fornite confermano quanto già osservato nelle mappe cerebrali precedenti. Le stime relative alla perfusione cerebrale si attestano attorno a valori finali di 50-60 ml/100gr/min, con una differenza significativa tra materia grigia e materia bianca. I dettagli relativi a *DELTA*T, invece, mostrano una variabilità maggiore all'interno del processo di quantificazione presentando un valore mediano di 1 s. Nel complesso, la bontà delle stime ottenute viene ulteriormente confermata osservando la significatività dei boxplot relativi ai CV (< 100%).

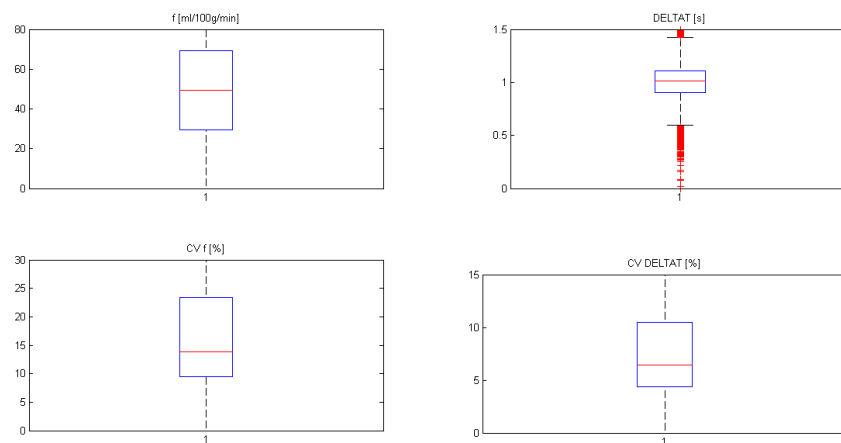


FIG. 4.38. Stima dei parametri e CV [%] per la componente tessutale – soluzione analitica (*Soggetto 1*).

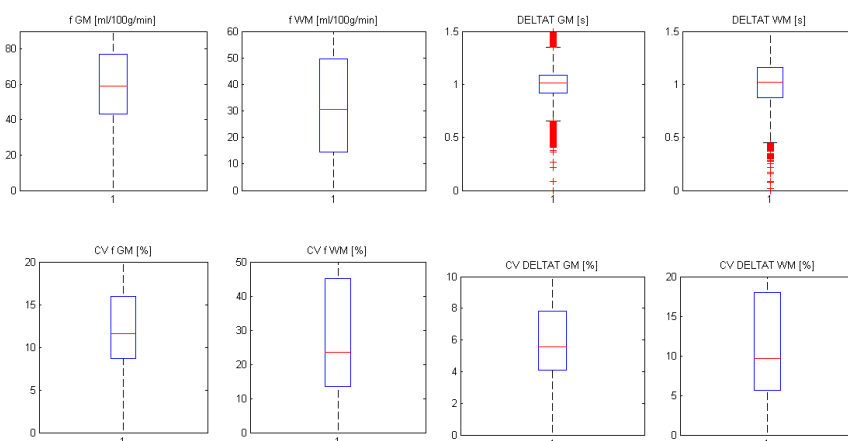


FIG. 4.39. Stima dei parametri e CV [%] per la componente tessutale in GM e WM – soluzione analitica (*Soggetto 1*).

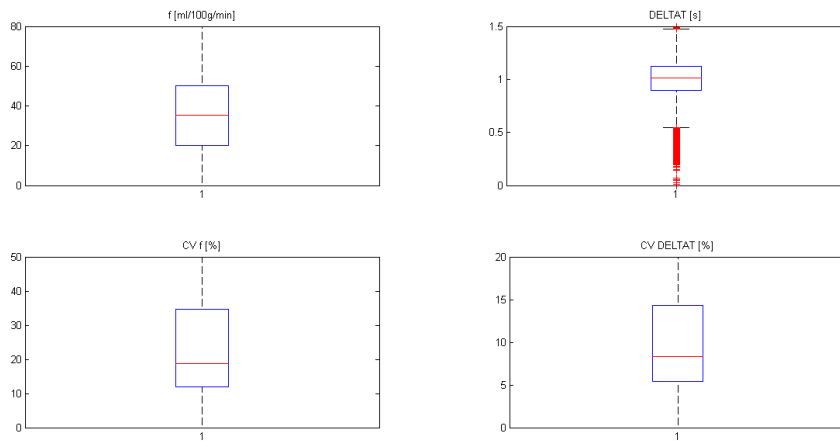


FIG. 4.40. Stima dei parametri e CV [%] per la componente tessutale – soluzione analitica (*Soggetto 2*).

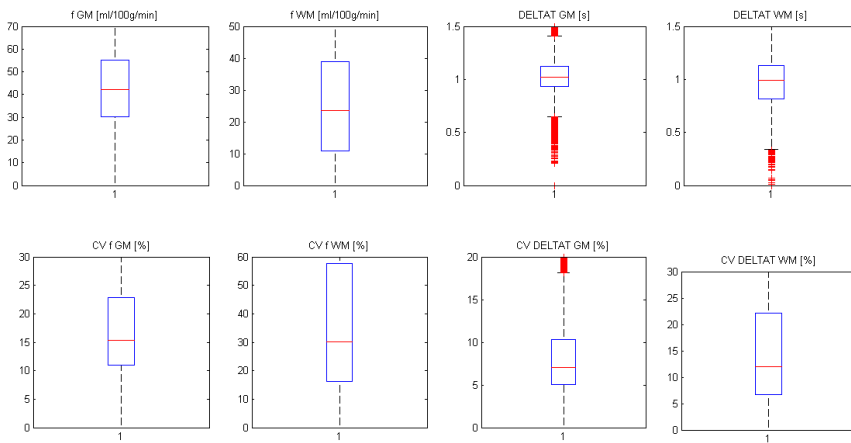


FIG. 4.41. Stima dei parametri e CV [%] per la componente tessutale in GM e WM – soluzione analitica (*Soggetto 2*).

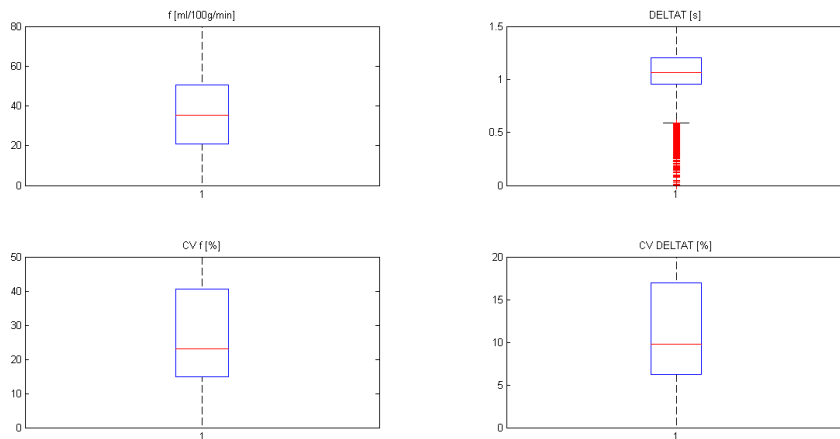


FIG. 4.42. Stima dei parametri e CV [%] per la componente tessutale – soluzione analitica (*Soggetto 3*).

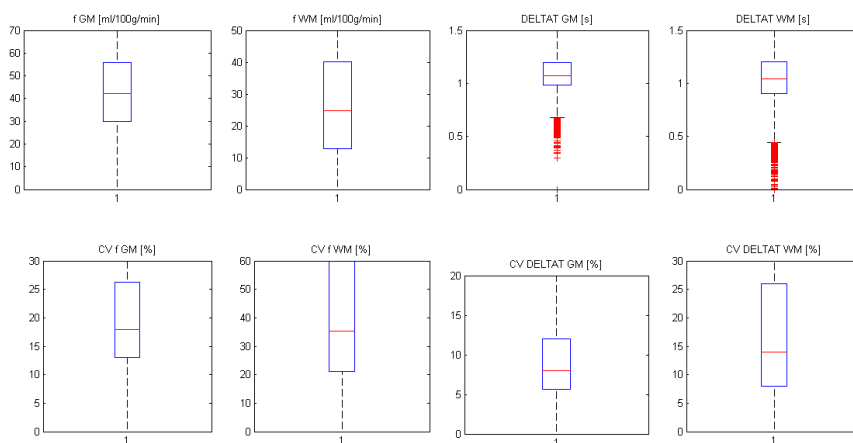


FIG. 4.43. Stima dei parametri e CV [%] per la componente tessutale in GM e WM – soluzione analitica (Soggetto 3).

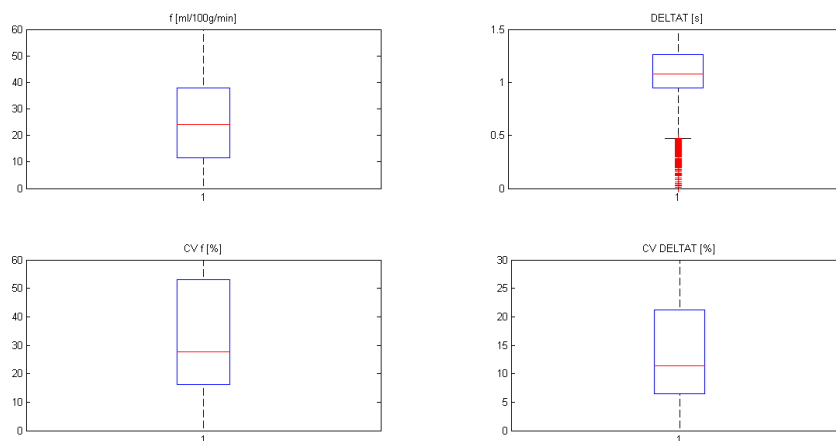


FIG. 4.44. Stima dei parametri e CV [%] per la componente tessutale – soluzione analitica (Soggetto 4).

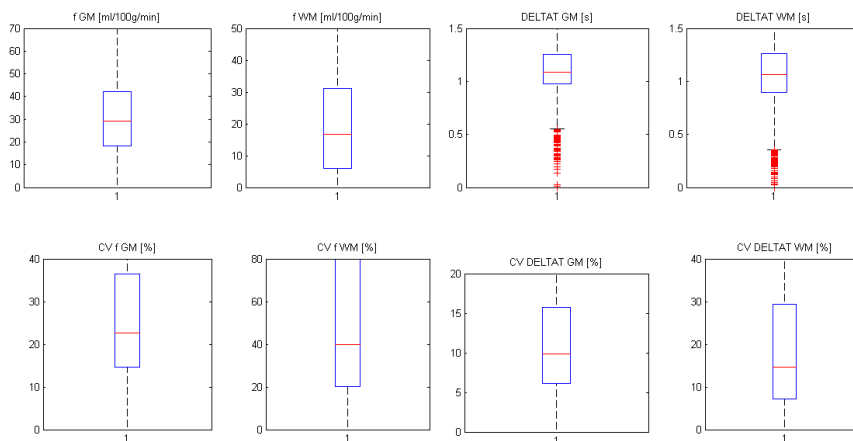


FIG. 4.45. Stima dei parametri e CV [%] per la componente tessutale in GM e WM – soluzione analitica (Soggetto 4).

4.3.2 Componente macrovascolare

In seguito alla procedura elencata nella sezione relativa alle metodologie applicate, comprensiva della differenza dei dataset a disposizione e della fase di decoding applicando la matrice di Hadamard prevista nella TE-pCASL_{adj}, la prima elaborazione prevede il clustering KEANS dei dati così ottenuti. Dopo aver testato differenti casi possibili, la soluzione ottimale consiste nell'utilizzo di $K = 8$ cluster totali in base ai quali suddividere i segnali sperimentali. L'andamento dei centroidi dei singoli gruppi, nonché tutti i voxel appartenenti agli stessi, sono descritti in FIG. 4.46 per un'opportuna slice di riferimento (Slice #6). In fase implementativa si è scelto di scartare il *Cluster 6* osservando l'evoluzione appena proposta: i rimanenti gruppi, infatti, presentano le caratteristiche curve studiate nel caso puramente macrovascolare. Questo risulta particolarmente evidente in FIG. 4.47 in cui è possibile apprezzare, oltre ai centroidi appena descritti, anche i distretti cerebrali a cui questi si riferiscono. Confrontando in parallelo le due figure riportate è evidente come l'operazione di clustering sviluppata permetta di identificare solamente quei voxel rappresentativi dell'effetto prodotto dal label marcato nelle arterie maggiori. La procedura sviluppata, applicata voxelwise e fortemente dipendente dalle caratteristiche degli 11 sub-boli in questione, costituisce pertanto un passo preliminare fondamentale per la stima finale dei parametri incogniti cercati.

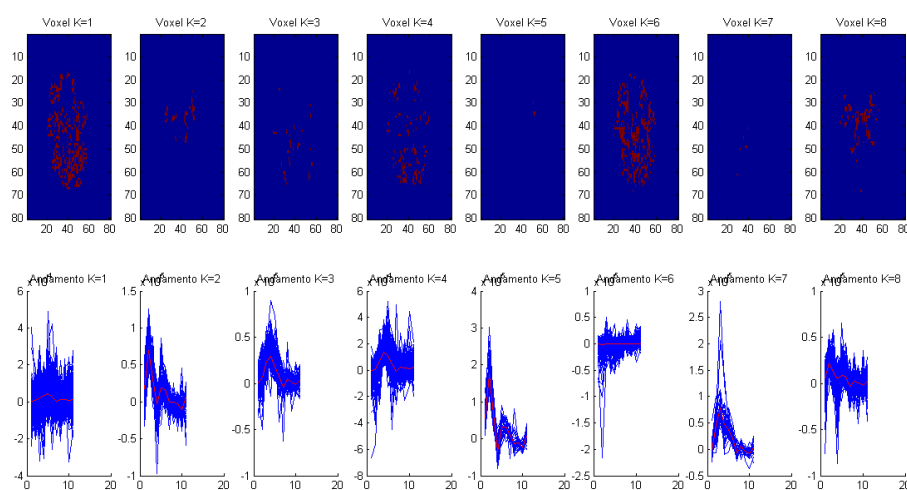


FIG. 4.46. Risultati del clustering KMEANS. In alto, voxel selezionati per ogni cluster considerato in Slice #6; in basso, andamento dei centroidi di ogni gruppo (in rosso) e di tutti i voxel appartenenti agli stessi (in blu).

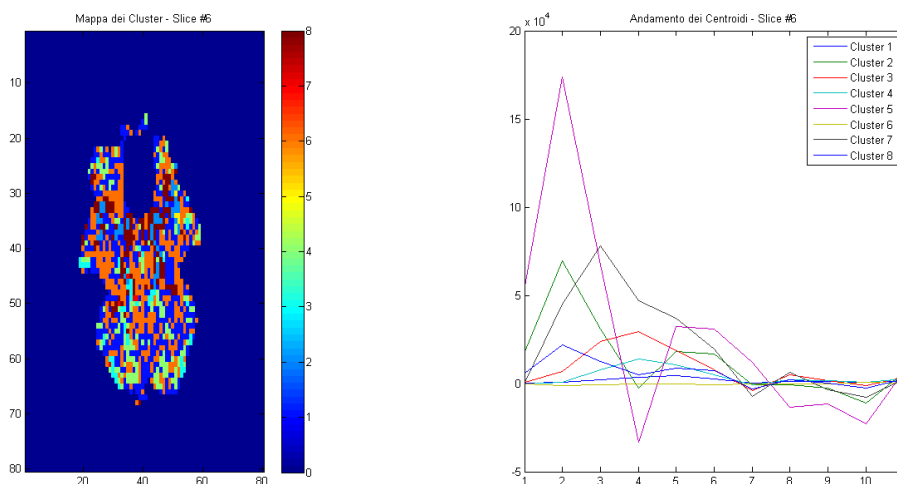


FIG. 4.47. Risultati del clustering KMEANS. A sinistra, mappa per i voxel selezionati in ogni cluster in Slice #6; a destra, andamento dei centroidi per gli 8 gruppi analizzati. I colori riportati non corrispondono tra le due immagini: per una migliore comprensione dei voxel rispettivi fare riferimento a FIG. 4.46.

In seguito all'applicazione di KMEANS è stato possibile realizzare le mappe dei parametri, in FIG. 4.48, FIG. 4.49, FIG. 4.50, FIG. 4.51, FIG. 4.52 e FIG. 4.53, e i conseguenti boxplot numerici per ogni soggetto, in FIG. 4.54, FIG. 4.55, FIG. 4.56 e FIG. 4.57. Risulta subito evidente l'estrema complessità nella quantificazione di questa particolare componente, come mostrato da tutti i CV ottenuti. Nonostante le molteplici difficoltà nel processo di stima il tempo di arrivo del bolo nel macrovascolare, *DELTA_T_A*, fornisce però alcune interessanti informazioni. A livello puramente qualitativo, infatti, regioni cerebrali molto lontane sono caratterizzate da tempi di distribuzione maggiori rispetto ai siti centrali, coerentemente con la fisiologia nota.

Un altro parametro molto utile per definire la componente macrovascolare è *aBV*. In particolare, le mappe realizzate (FIG. 4.49 e FIG. 4.52) sono rappresentative unicamente di voxel significativi selezionati ponendo i relativi coefficienti di variazione $CV < 100\%$. Così facendo è possibile riconoscere, seppur in modo limitato, le arterie maggiori e l'arteria cerebrale media appartenenti alle slice selezionate.

Il metodo di risoluzione ai minimi quadrati non lineari sembra in questo contesto poco adatto per la quantificazione finale dei parametri indagati. Una possibile alternativa potrebbe consistere nell'utilizzo di un approccio bayesiano sfruttando dei prior all'interno del processo di stima; osservando l'andamento delle predizioni ottenute, infatti, si evidenzia una forte dipendenza dai valori imposti in fase iniziale.

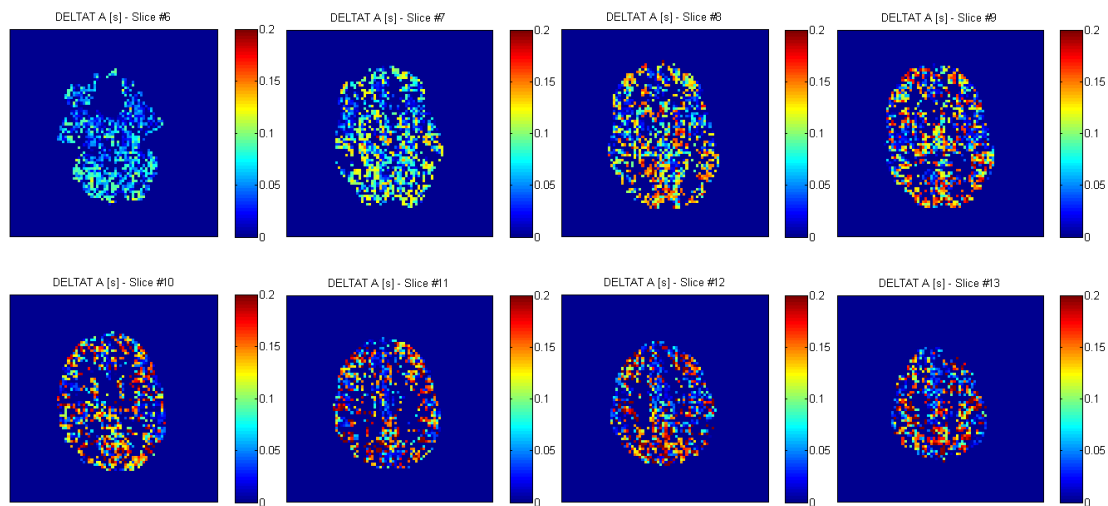


FIG. 4.48. *DELTAT_A* [s] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione *exp kernel*.

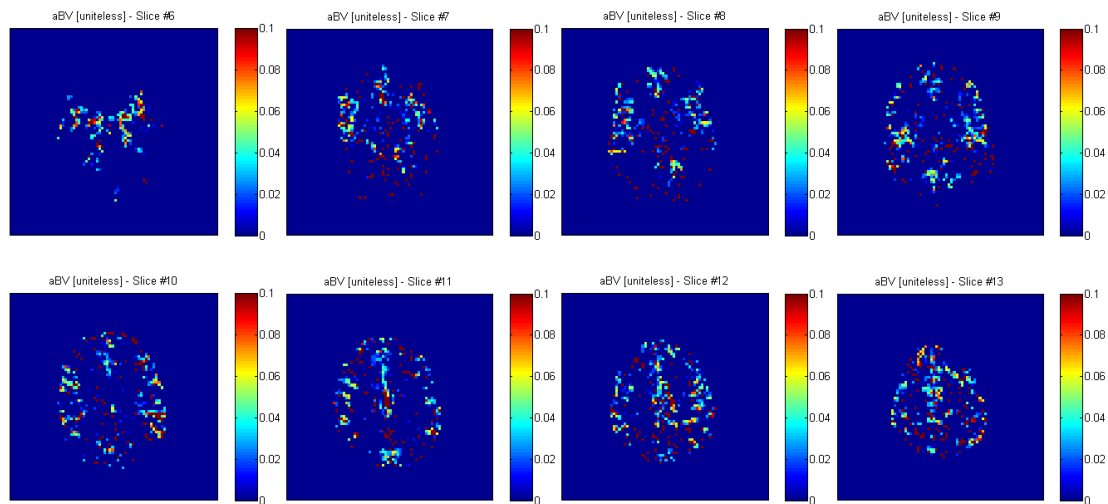


FIG. 4.49. *aBV* [uniteless] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione *exp kernel*.

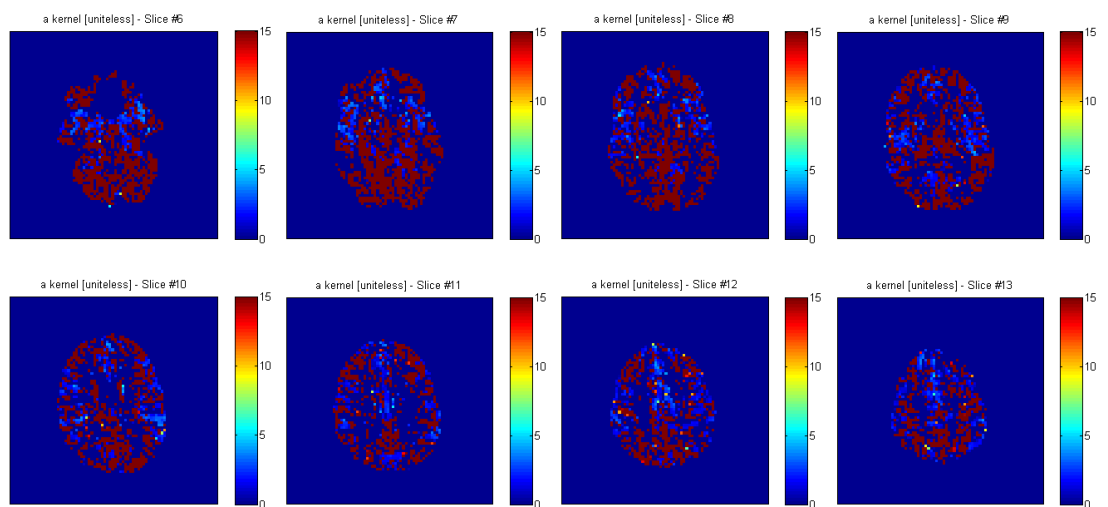


FIG. 4.50. *a_kernel* [uniteless] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione *exp kernel*.

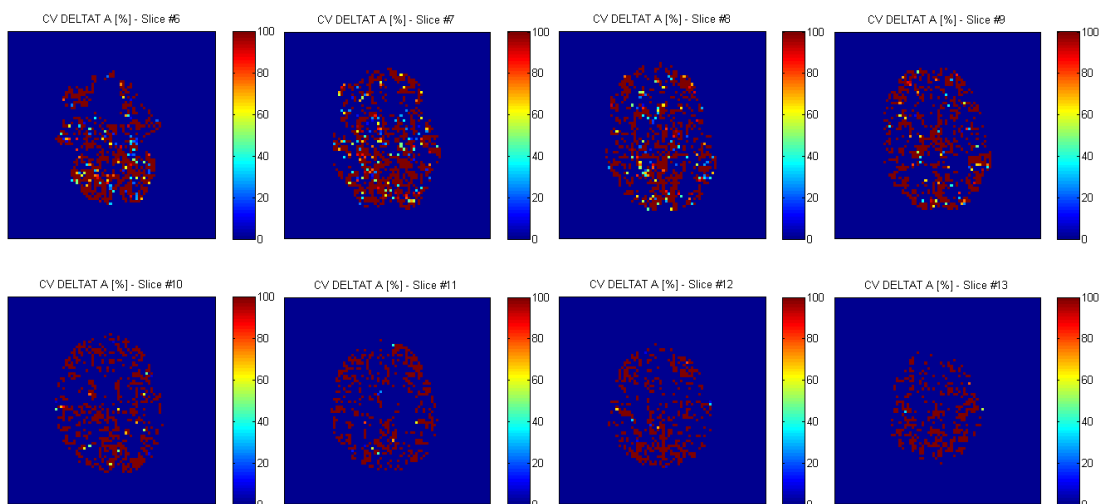


FIG. 4.51. CV [%] di $DELATAT_A$ [s] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione *exp kernel*.

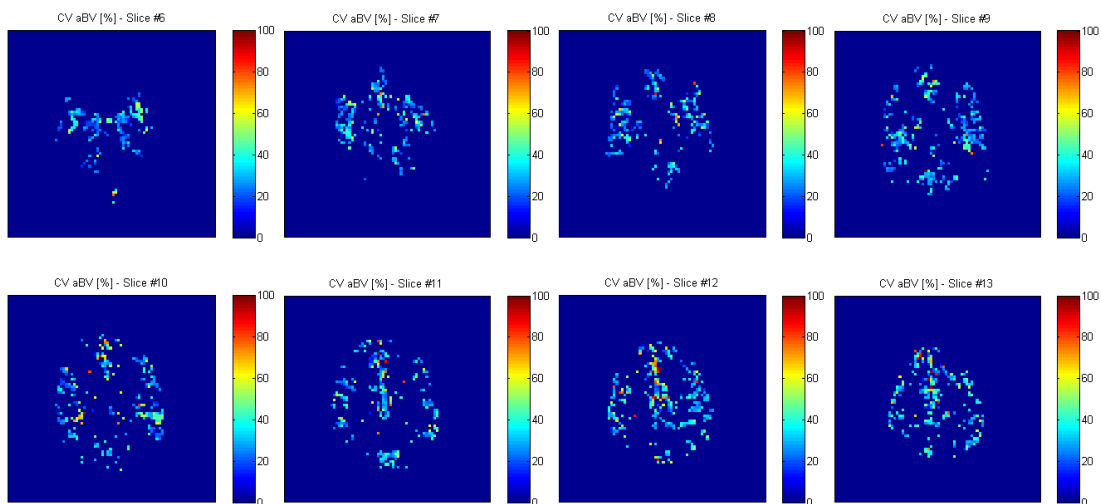


FIG. 4.52. CV [%] di aBV [uniteless] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione *exp kernel*.

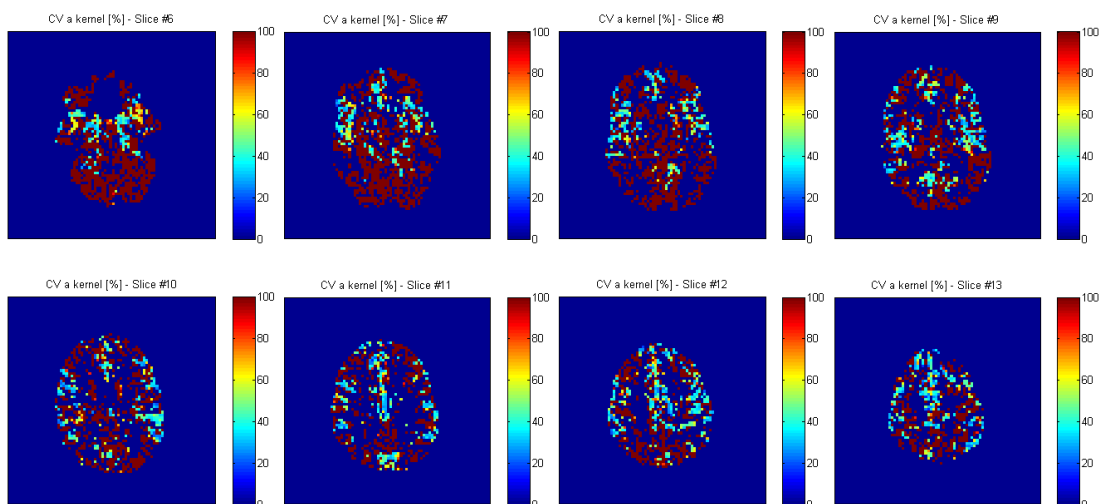


FIG. 4.53. CV [%] di a_kernel [uniteless] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione *exp kernel*.

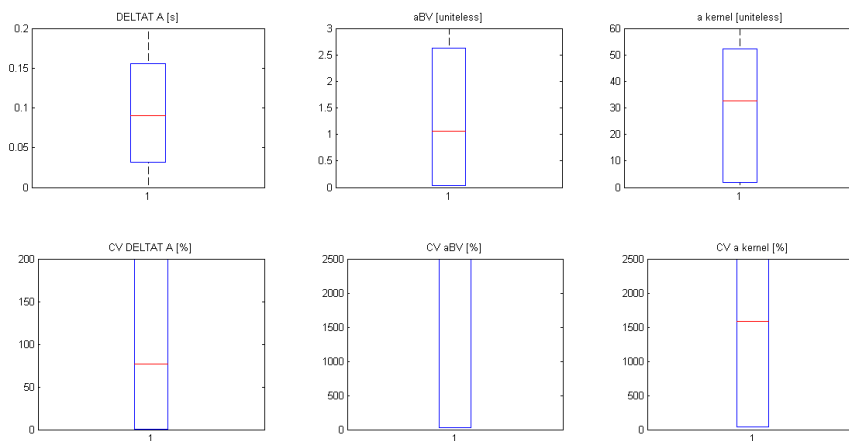


FIG. 4.54. Stima dei parametri e CV [%] per la componente macrovascolare – soluzione *exp kernel* (Soggetto 1).

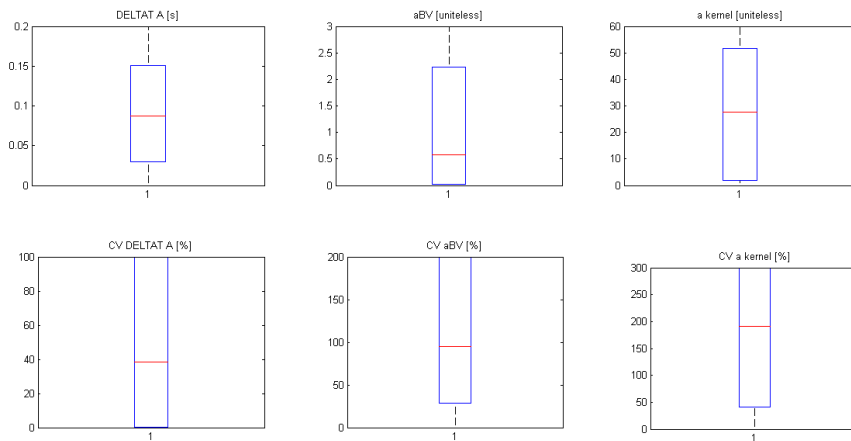


FIG. 4.55. Stima dei parametri e CV [%] per la componente macrovascolare – soluzione *exp kernel* (Soggetto 2).

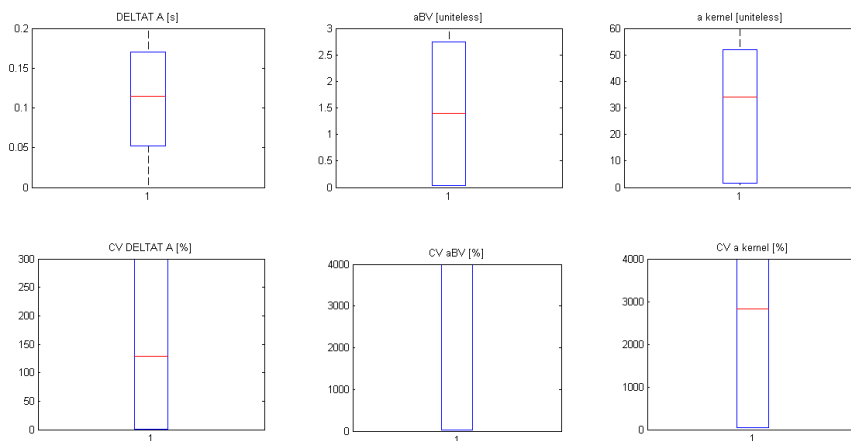
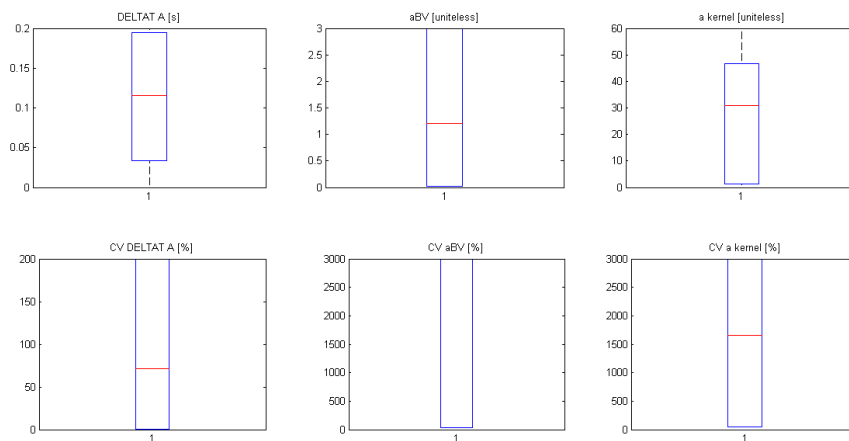


FIG. 4.56. Stima dei parametri e CV [%] per la componente macrovascolare – soluzione *exp kernel* (Soggetto 3).

FIG. 4.57. Stima dei parametri e CV [%] per la componente macrovascolare – soluzione *exp kernel* (Soggetto 4).

4.3.3 Componenti macrovascolare e tessutale

I risultati più critici si ottengono analizzando, in modo qualitativo e quantitativo, i parametri relativi ad entrambe le componenti in esame, sempre valutando l'effetto prodotto dalla dispersione di AIF applicando il modello *exp kernel*. Le mappe finali sono riportate in FIG. 4.58, FIG. 4.59, FIG. 4.60, FIG. 4.61, FIG. 4.62, FIG. 4.63, FIG. 4.64, FIG. 4.65, FIG. 4.66 e FIG. 4.67. In tutte le immagini si evidenzia un netto peggioramento nella precisione delle stime calcolate nonché una perdita significativa dell'informazione fornita dai dati. I coefficienti di variazione CV trovati mostrano incertezze in proporzione maggiori rispetto a quelli stimati, rispettivamente, per i singoli parametri nei due modelli esclusivamente tessutali o macrovascolari.

Tra tutte le mappe cerebrali calcolate quelle maggiormente informative rimangono comunque quelle rappresentative di f_{Buxton} , parametro per eccellenza in tutte le procedure ASL. I valori di perfusione cerebrale corrispondono approssimativamente con la soluzione prevista nel modello della sola componente tessutale. In questo caso, però, si nota una leggera sottostima nella valutazione globale del parametro stesso. Nonostante la notevole complessità del modello qui adottato, la soluzione prevista è in grado quindi di distinguere distretti corrispondenti all'interno del cervello, generando un contenuto informativo molto importante. Per quanto riguarda *DELTAT*, invece, le mappe mostrano una forte dipendenza dalla slice considerata. In Slice #8 e Slice #12, ad

esempio, la definizione dei voxel appartenenti al contributo tessutale evidenzia una soluzione tutto sommato accettabile.

I tre parametri rimasti, rispettivamente $DELATAT_A$, aBV e a_kernel , risultano tuttavia molto difficili da interpretare. Il fattore di scala aBV , a cui si attribuisce l'entità del contributo macrovascolare, presenta una situazione molto confusa in tutti i voxel in esame. Lo studio effettuato deve considerarsi pertanto come punto iniziale per valutare la complessità dei fenomeni indagati, date tutte le varianti introdotte rispetto alle procedure standard. Come suggerito in precedenza, un approccio di tipo bayesiano potrebbe condurre a un netto miglioramento delle stime finali cercate.

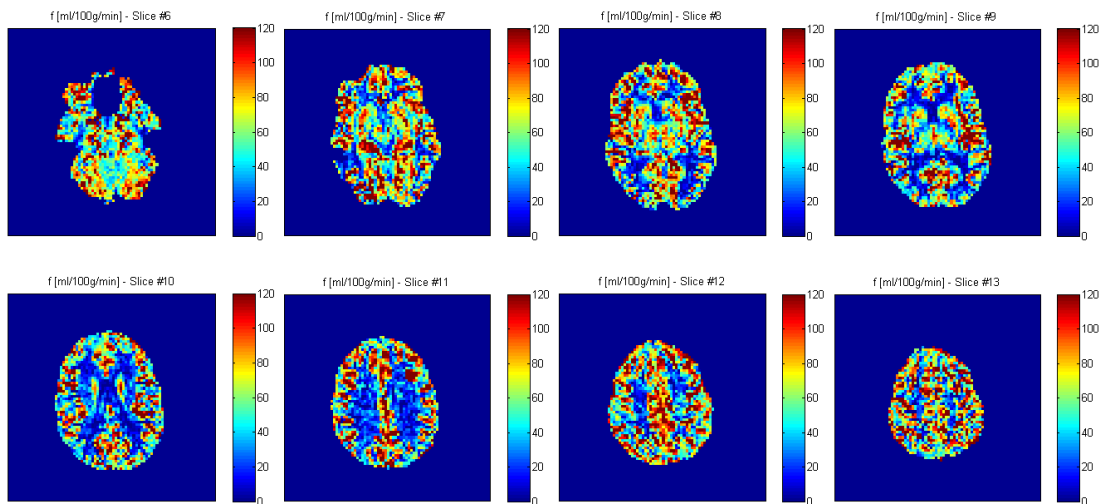


FIG. 4.58. Perfusione cerebrale f_{Buxton} [ml/100g/min] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione analitica con exp kernel.

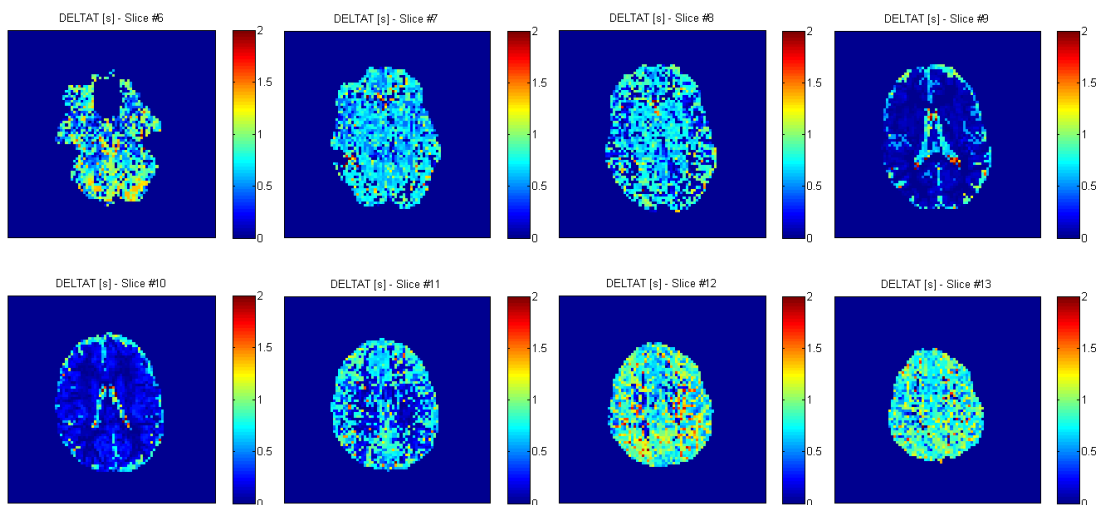


FIG. 4.59. $DELATAT$ [s] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione analitica con exp kernel.

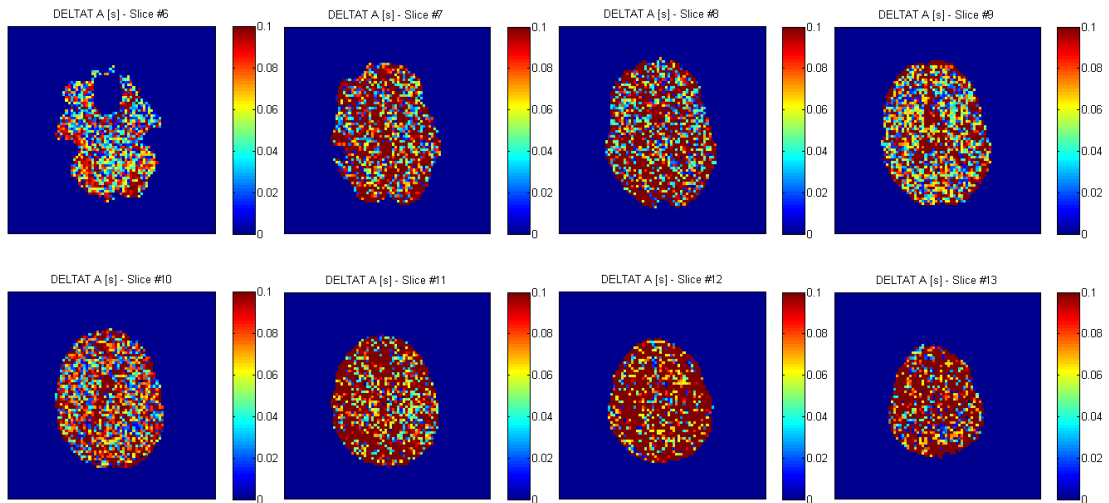


FIG. 4.60. ΔT_A [s] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione analitica con *exp kernel*.

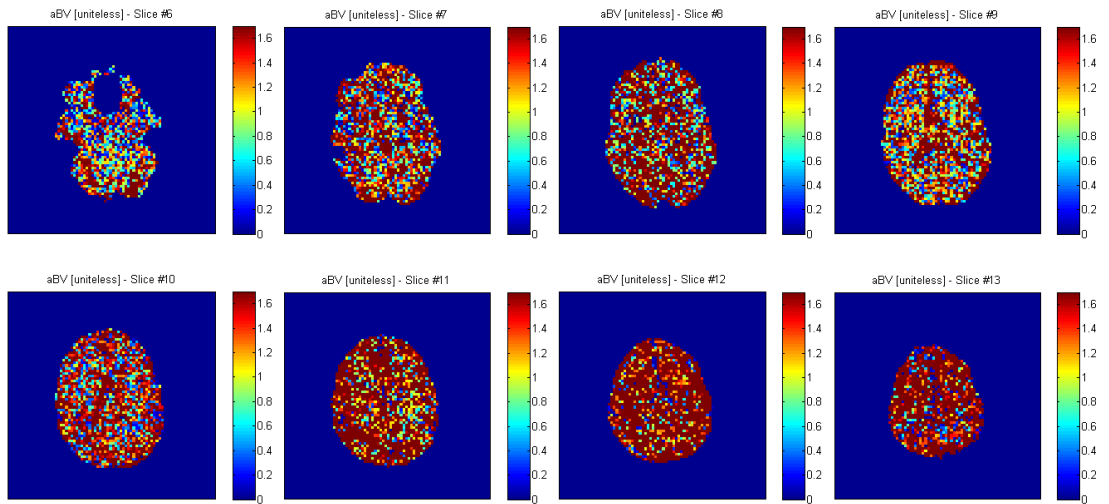


FIG. 4.61. aBV [unitless] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione analitica con *exp kernel*.

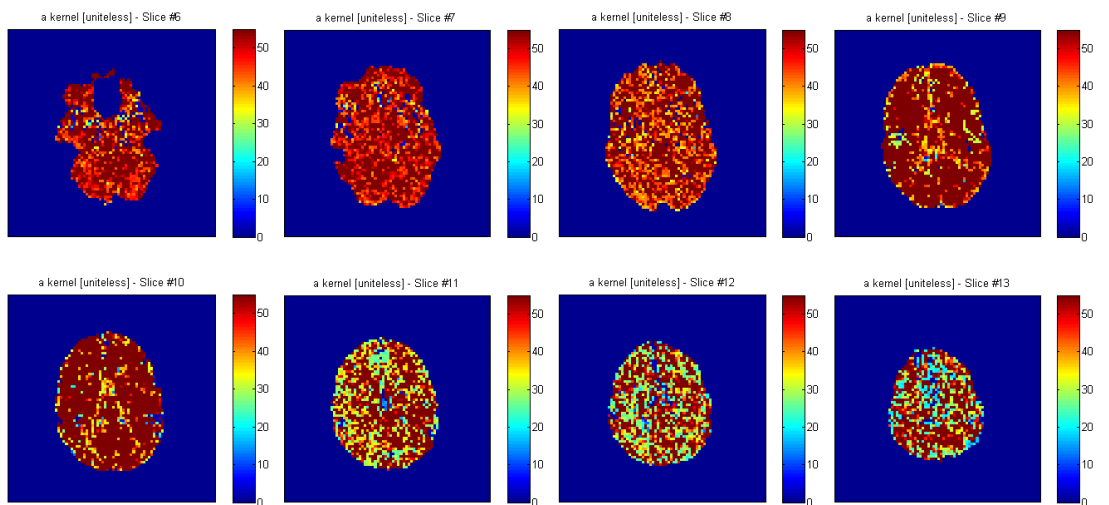


FIG. 4.62. a_{kernel} [unitless] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione analitica con *exp kernel*.

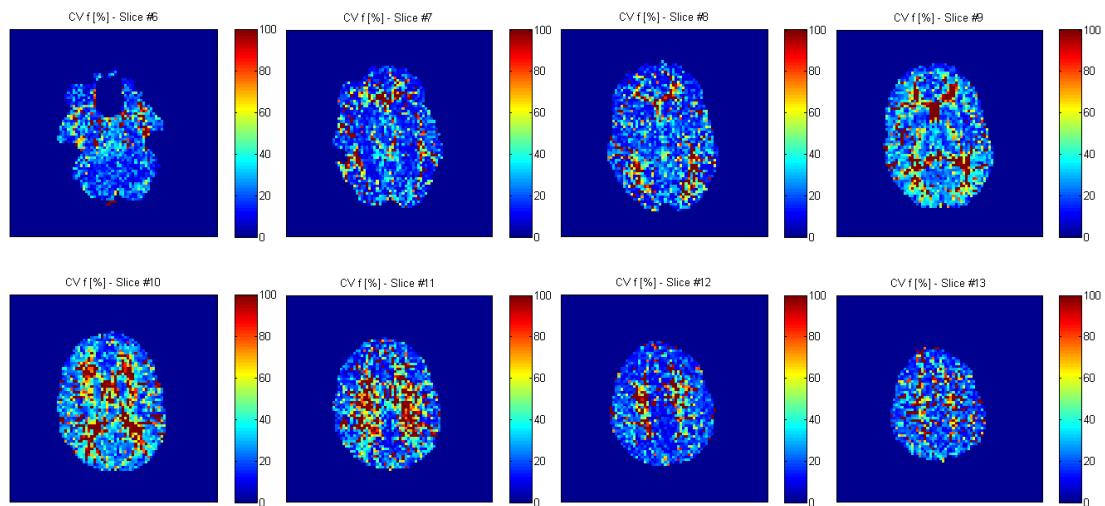


FIG. 4.63. CV [%] di perfusione cerebrale f_{Buxton} [ml/100g/min] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione analitica con *exp kernel*.

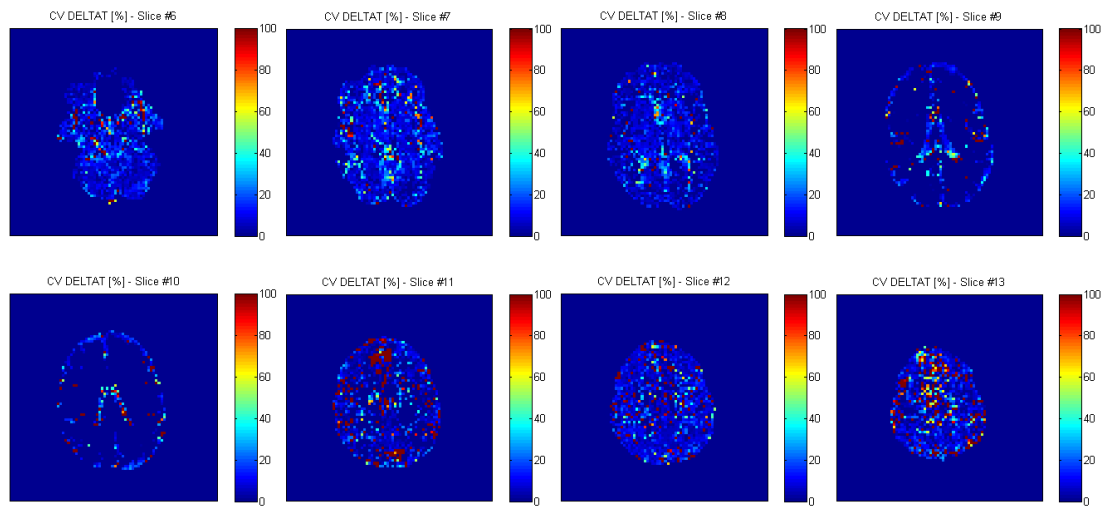


FIG. 4.64. CV [%] di $DELATAT$ [s] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione analitica con *exp kernel*.

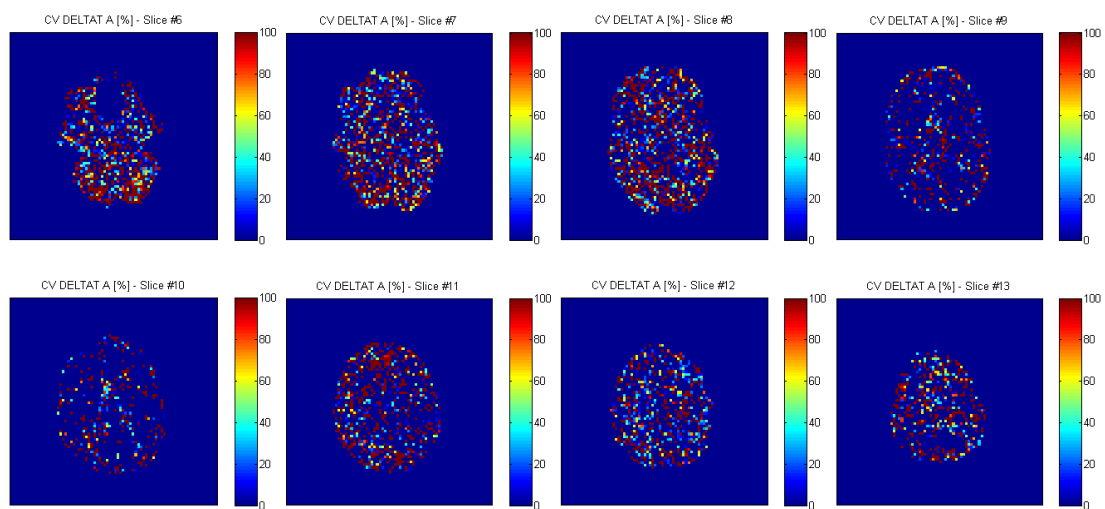


FIG. 4.65. CV [%] di $DELATAT_A$ [s] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione analitica con *exp kernel*.

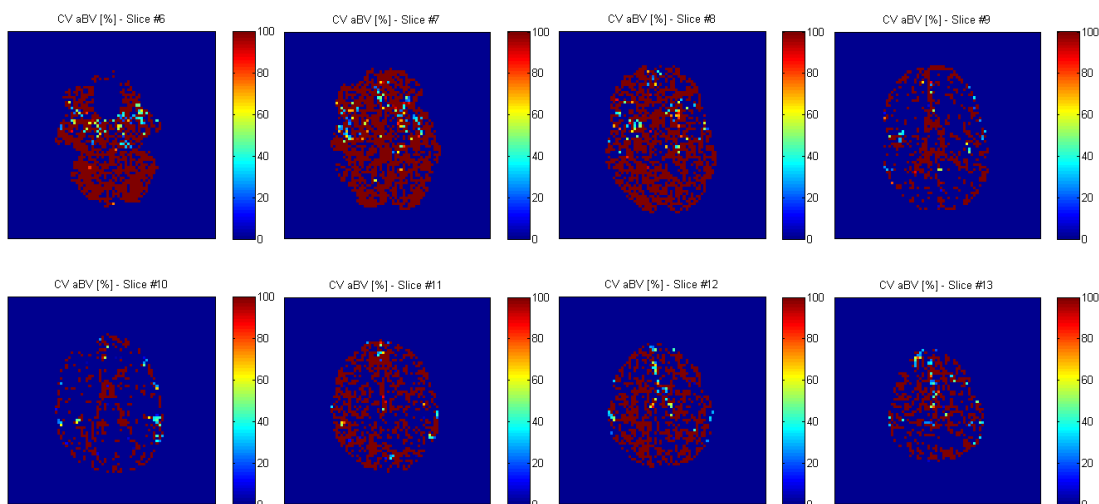


FIG. 4.66. CV [%] di a_{BV} [uniteless] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione analitica con exp kernel.

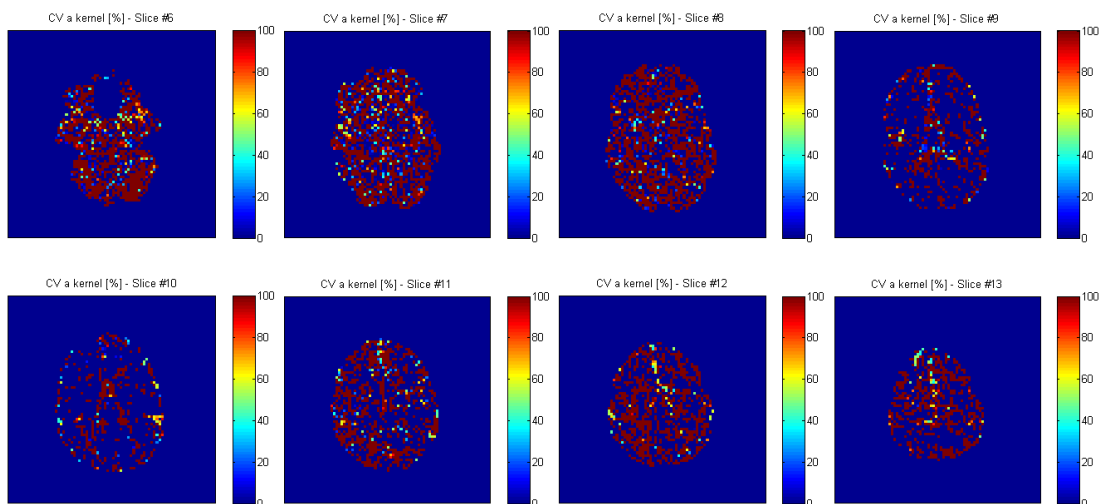


FIG. 4.67. CV [%] di a_{kernel} [uniteless] da Slice #6 a Slice #13 – soluzione analitica con exp kernel.

In ultimo, l’analisi dei boxplot di FIG. 4.68, FIG. 4.69, FIG. 4.70 e FIG. 4.71 dimostra la corretta implementazione della procedura presentata, anche se a livello puntuale la situazione rimane decisamente poco informativa. Sebbene nella presente metodologia non sia stata fatta alcuna distinzione tra voxel di GM, voxel di WM e voxel puramente macrovascolari, i valori mediани riportati rientrano pienamente nelle soluzioni riportate nei modelli delle pagine precedenti. Considerare all’interno della formulazione modellistica gli aspetti macrovascolari e di dispersione permette dunque una descrizione fisiologica più esaustiva e realistica dei processi in questione. Ne sono un esempio $DELTA_T$ e $DELTA_T_A$, i quali rappresentano i tempi di arrivo effettivi considerando tutti gli elementi di disturbo presenti nel sistema cerebrale.

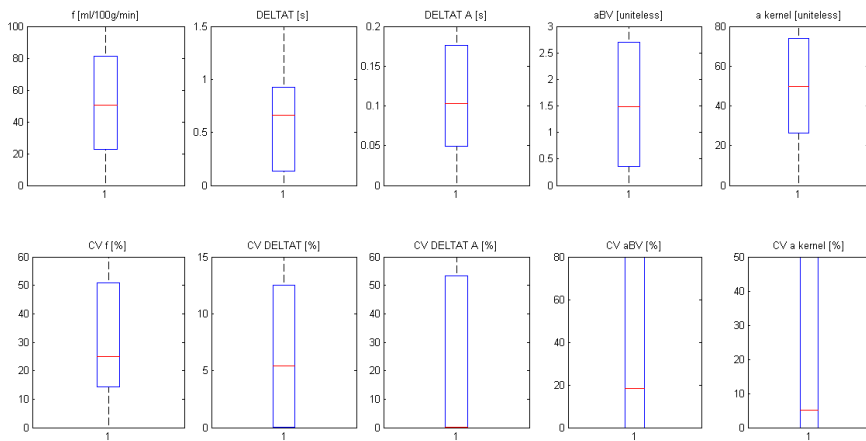


FIG. 4.68. Stima dei parametri e CV [%] per componenti macrovascolare e tessutale – soluzione analitica con *exp kernel* (Soggetto 1).

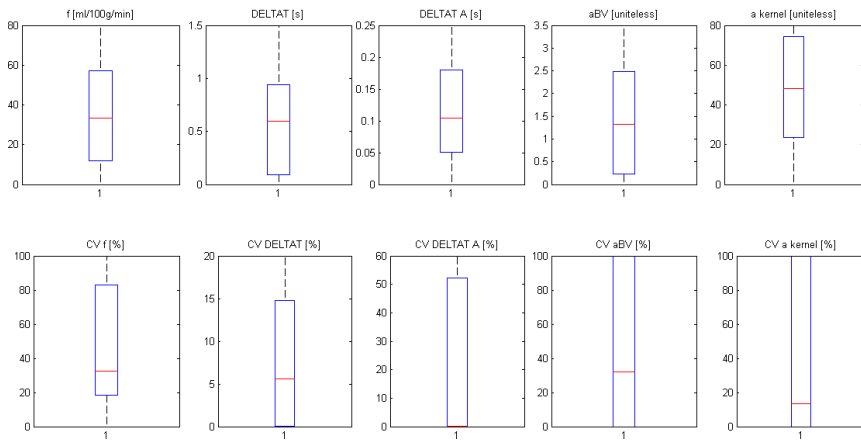


FIG. 4.69. Stima dei parametri e CV [%] per componenti macrovascolare e tessutale – soluzione analitica con *exp kernel* (Soggetto 2).

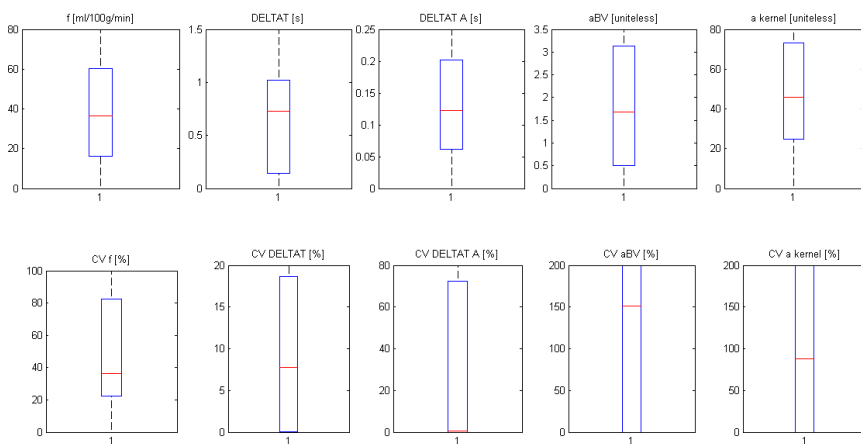


FIG. 4.70. Stima dei parametri e CV [%] per componenti macrovascolare e tessutale – soluzione analitica con *exp kernel* (Soggetto 3).

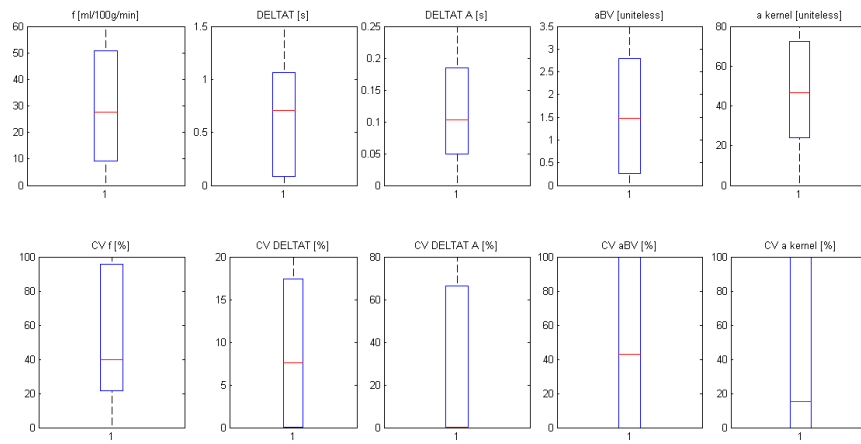


FIG. 4.71. Stima dei parametri e CV [%] per componenti macrovascolare e tessutale – soluzione analitica con *exp kernel* (Soggetto 4).

5 Analisi successive

Il seguente capitolo riassume brevemente la sequenza Time-Encoded implementata, esaminandone i punti critici causa di possibili sorgenti di errore e di sovrastima/sottostima dei parametri finali cercati. Nel caso specifico, viene presentata una possibile variante in grado di ridurre significativamente gli effetti indesiderati in fase di decodifica dei dati. L'idea fondamentale su cui si basa l'approccio mostrato prevede di modellare esplicitamente le immagini codificate e non più quelle registrate in risonanza magnetica evitando così il decoding delle stesse. Così facendo risulta possibile ottenere mappe cerebrali per la perfusione (CBF) e per il tempo di transito arteriale (Δt) anche nel caso di dataset incompleti/corrotti.

Analizzando un esempio di riferimento molto significativo dal punto di vista pratico, si vuole quindi spiegare come sia possibile applicare tale nuova metodologia ai dati utilizzati nei capitoli precedenti. Sarebbe interessante in ultimo capire come cambino i risultati finali implementando tale soluzione rispetto a quelli ottenuti in precedenza, nonché l'effettiva applicabilità a seconda del dataset a disposizione.

5.1 Obiettivo

Hadamard Time-Encoded pCASL (TE-pCASL) è stata recentemente introdotta come un'estensione di Arterial Spin Labeling in cui si utilizza un particolare encoding del label prodotto per ottenere le cinetiche relative alla perfusione in modo molto efficiente dal punto di vista temporale.

In generale, la fase di encoding permette di acquisire immagini utilizzando opportune sequenze di sub-boli: con N step di encoding possono essere registrati segnali di perfusione in $N-1$ punti diversi. La fase di decoding consiste in N combinazioni di addizioni/sottrazioni di tutte e N le immagini codificate in base allo schema implementato, generando immagini legate alla perfusione cerebrale relative a PLD differenti. In questo modo, per un corretto decoding dei dati sono necessarie tutte le immagini acquisite (immagini codificate mancanti/corrotte possono rendere l'intero

dataset del tutto inutilizzabile). Possibili artefatti ed errori vengono progressivamente propagati a tutti i dati decodificati; per quanto detto sopra, scartare le immagini più critiche non rappresenta pertanto una valida soluzione al problema (FIG. 5.1).

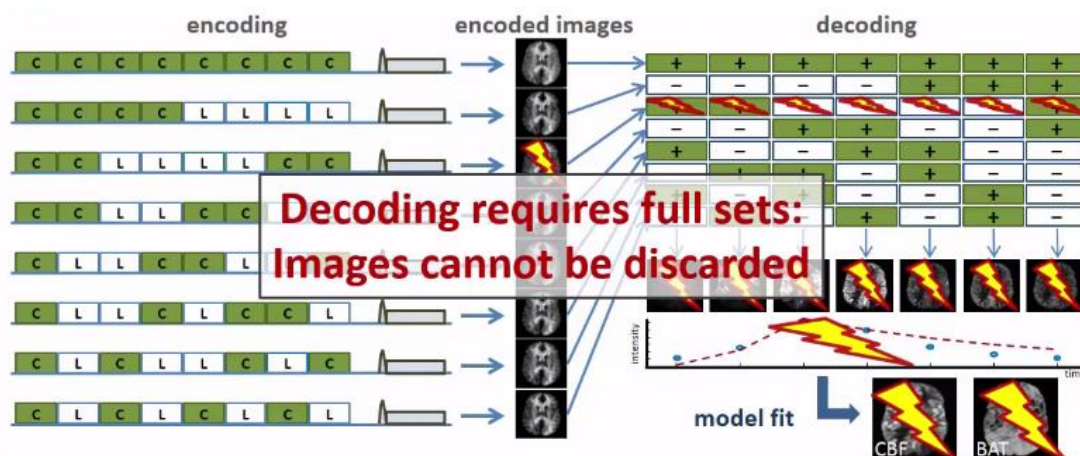


FIG. 5.1. Fase di encoding e fase di decoding utilizzando l'approccio TE-pCASL standard.
 Per la corretta decodifica dei dati sono indispensabili tutte le immagini acquisite: nell'esempio, l'eliminazione della terza immagine porta al fallimento dell'intero processo di quantificazione.

Per migliorare la robustezza della TE-pCASL è stato proposto un nuovo modello per analizzare il segnale codificato in combinazione con un approccio di tipo bayesiano. L'idea di base consiste nel modellare direttamente le immagini codificate e non più quelle decodificate, evitando totalmente la fase di decoding. Risolvendo il modello proposto in base ai dati sperimentali a disposizione sarà così possibile ottenere le mappe dei parametri cercate ⁽¹⁴⁾.

La presente metodologia permette di quantificare parametri emodinamici CBF e Δt anche nel caso di dataset incompleti/corrotti. Senza dubbio, la possibilità di eliminare immagini eccessivamente rumorose costituenti un elemento di disturbo rende lo studio molto attraente, fornendo risultati più aderenti alla fisiologia propria del soggetto analizzato. I dati utili possono essere ottenuti senza applicare nessun tipo di operazione matematica riducendo così la sensibilità agli errori commessi (FIG. 5.2).

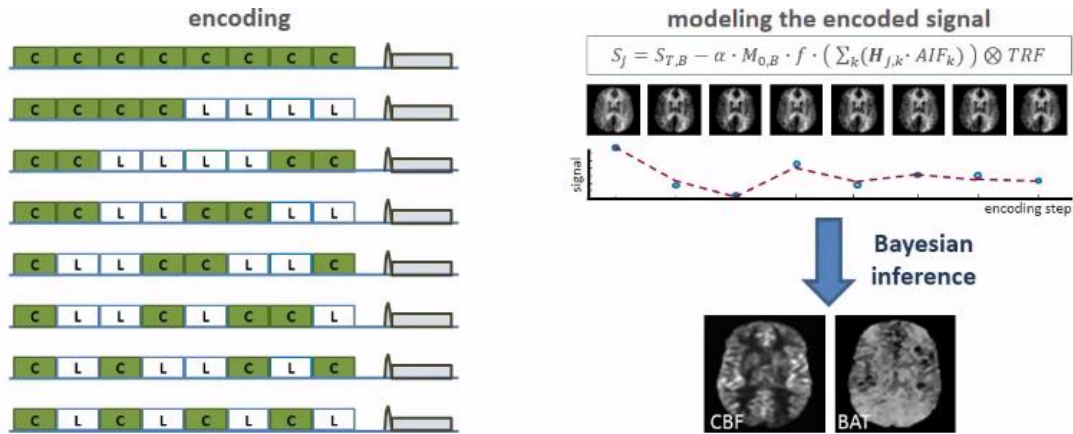


FIG. 5.2. Implementazione di Subtraction Free ASL. Sfruttando un approccio bayesiano si ottengono mappe di *CBF* e Δt molto realistiche e accurate in risoluzione spaziale.

5.2 Il nuovo modello

Il passo critico è costituito dalla costruzione teorica di quanto spiegato finora, cercando al tempo stesso di rendere la fase implementativa il meno pesante possibile. Il nuovo modello di riferimento descrive il segnale misurato come il risultato di una convoluzione tra una Arterial Input Function (AIF), rappresentativa del bolo codificato, e una Tissue Response Function (TRF). Nello studio considerato è stata scelta una forma del bolo ideale box-car e uno schema di encoding di tipo Hadamard, anche se nulla vieta scelte progettuali alternative.

Per considerare inoltre il contributo del segnale derivante dal sangue non magnetizzato è stato aggiunto un termine costante $S_{T,B}$, a cui verrà sottratto il contributo del sangue magnetizzato vero e proprio [Eq. 5.1].

$$S_j = S_{T,B} - \sum_k H_{jk} * M_0 * f * (AIF(\tau) \otimes TRF)|_{TI_k} \quad [5.1]$$

con *AIF* Arterial Input Function (con forma del bolo box-car), *TRF* funzione di risposta del tessuto, TI_k = lunghezza del sub-bolo + PLD del k-esimo sub-bolo, $S_{T,B}$ termine costante per il contributo statico del tessuto e del sangue non magnetizzato.

Il modello descritto è stato risolto in FSL tramite un approccio bayesiano con un schema di encoding $N=8$, utilizzando una matrice 8×7 Walsh-ordered Hadamard-matrix. La lunghezza dei singoli blocchi è stata fissata a 350 ms, mentre il valore di PLD scelto a 200 ms. Dal punto di vista teorico, l'approccio presentato può essere sviluppato nel modo seguente:

- Ogni step di encoding è costituito da una Arterial Input Function AIF_{TOT} caratterizzata dalla somma cumulativa di AIF_{SB} relativa ai singoli sub-boli [Eq. 5.2], a seconda della fase di control o della fase di labeling in cui si trova il blocco analizzato (FIG. 5.3);

$$AIF_{TOT} = \sum_k (H_{jk} * AIF_k) \quad [5.2]$$

- La convoluzione di AIF_{TOT} con TRF fornisce la concentrazione del label [Eq. 5.3]. Includendo nel modello il termine $S_{T,B}$ non risultano più necessarie le sottrazioni di control e labeling previste nell'approccio standard (FIG. 5.4);

$$C_{label}(t) = \sum_k (H_{jk} * AIF_k) \circledast TRF \quad [5.3]$$

- In questo modo è possibile ricavare il segnale S_j , equivalente alla somma dei contributi dei segnali dei singoli sub-boli [Eq. 5.4] [Eq. 5.5];

$$\begin{aligned} S_j &= S_{T,B} - \alpha * M_{0,B} * f * C(t) \\ &= S_{T,B} - \alpha * M_{0,B} * f * \left(\sum_k (H_{jk} * AIF_k) \right) \circledast TRF \end{aligned} \quad [5.4]$$

$$S_j = S_{T,B} - \sum_k s(\tau_k, PLD_k) \quad [5.5]$$

con α efficienza di labeling, $M_{0,B}$ magnetizzazione all'equilibrio del sangue, f perfusione cerebrale, $s(\tau_k, PLD_k)$ segnale del k-esimo sub-bolo caratterizzato da lunghezza τ_k e ritardo PLD_k .

- Fissato il valore di TI , ogni step di encoding produce un differente segnale S_j (FIG. 5.5);
- Campionando opportunamente tutti i segnali costruiti e fittando la curva del modello con i dati a disposizione si ottengono così le mappe dei parametri incogniti (FIG. 5.6).

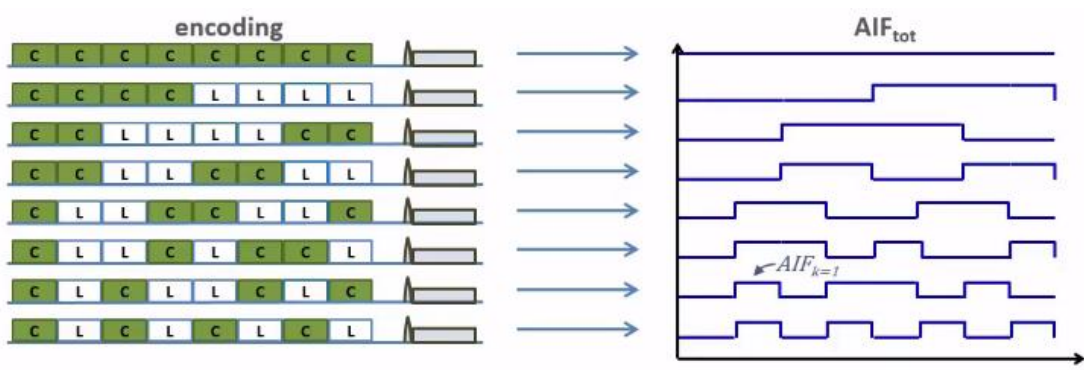


FIG. 5.3. Costruzione di una Arterial Input Function totale a partire dallo schema di encoding Walsh-ordered Hadamard-matrix. A seconda della fase di control (C) oppure della fase di labeling (L) la funzione di ingresso assumerà una forma differente.

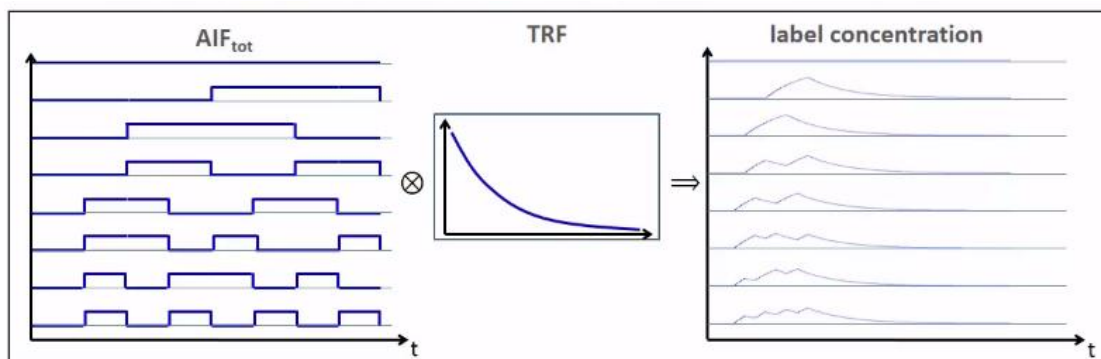


FIG. 5.4. L'operazione di convoluzione di AIF_{TOT} con TRF fornisce l'andamento della concentrazione del bolo magnetizzato al variare dell'ingresso (per ogni step di encoding).

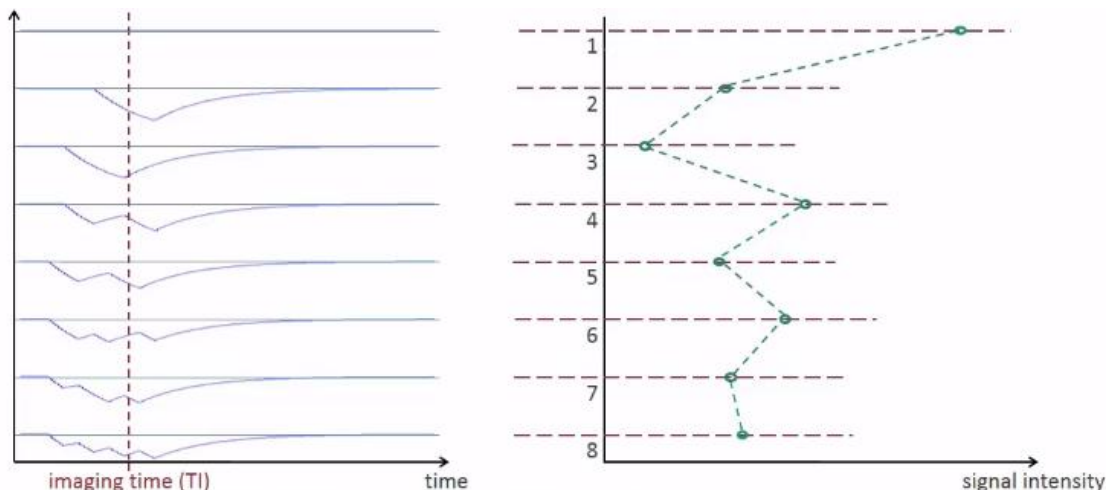


FIG. 5.5. Costruzione del segnale di riferimento in base al nuovo modello. Campionando le concentrazioni ottenute in precedenza allo stesso tempo di imaging (T_I) si ritrovano i punti da utilizzare per il fit dei dati.

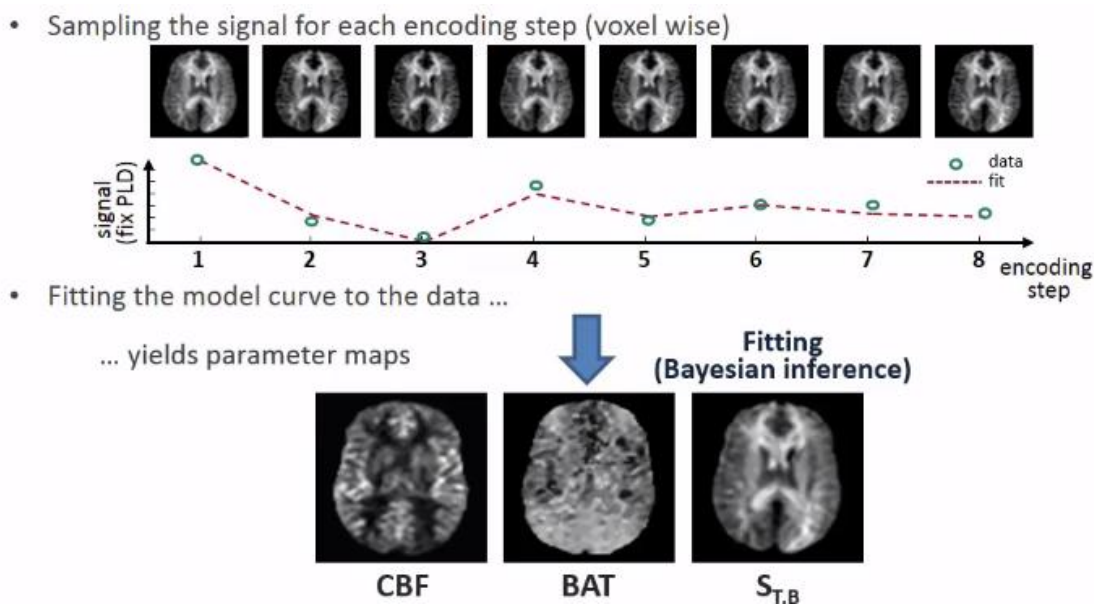


FIG. 5.6. Identificazione non lineare del modello attraverso un approccio bayesiano e realizzazione delle mappe cerebrali di CBF , Δt e $S_{T,B}$.

Per testare l'applicabilità del nuovo modello sono state generate delle mappe di riferimento di CBF e Δt utilizzando un classico fit Multi-TI per 7 differenti PLD (200 ms + 6x350 ms). Per valutare inoltre le performance nel caso di dataset incompleto, sono state realizzate in aggiunta le mappe dei parametri rimuovendo dal dataset le ultime 2 immagini.

Le mappe ottenute dai dataset completo e incompleto sono state alla fine confrontate tra loro e con il riferimento classico costruito. Nelle pagine seguenti saranno presentate, per completezza, le immagini finali ottenute dalla procedura senza analizzarne gli specifici risultati numerici. Questo perché si è preferito mettere a confronto i parametri emodinamici a livello puramente qualitativo cercando di distinguere le differenze riscontrate operando in contesti così diversi.

5.3 Risultati e discussione

Le mappe di CBF e Δt utilizzando i dati codificati possono essere ricavate con successo senza applicare nessun tipo di operazione matematica, in accordo con le mappe ottenute dal classico dataset Multi-TI. Come si può notare in FIG. 5.7, gli esiti prodotti nei due differenti casi risultano qualitativamente molto simili. In generale si può affermare che i valori di perfusione cerebrale trovati sono molto coerenti tra loro sia nel caso Multi-TI che nel caso Bayes-Hadamard, mentre i valori di tempo di arrivo del bolo presentano qualche piccola differenza in regioni ben localizzate (FIG. 5.8).

Gli effetti prodotti nel caso di dataset corrotto da movimento, elemento talvolta cruciale nel definire la risoluzione di un'immagine, sono mostrati in FIG. 5.9. L'approccio Bayes-Hadamard, consentendo l'eliminazione di dati non ritenuti affidabili, rende le mappe di CBF e di Δt decisamente confrontabili con la procedura standard solitamente impiegata. Anche il dataset incompleto fornisce buoni risultati, mostrando differenze molto piccole sia con il metodo di riferimento che con il dataset completo. In questo caso, però, l'accuratezza di Δt tende a diminuire drasticamente al diminuire delle immagini incluse nel modello (FIG. 5.10).

Le mappe di $S_{T,B}$ sono state infine confrontate con la prima immagine codificata (immagine puramente di controllo, per come è stata costruita la matrice di Hadamard) contenente solamente segnale tessutale + fully relaxed blood: anche in questo caso la concordanza riscontrata risulta molto buona.

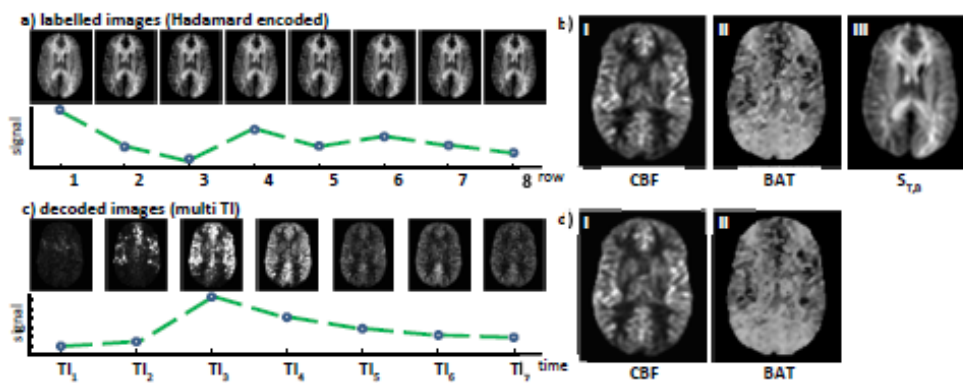
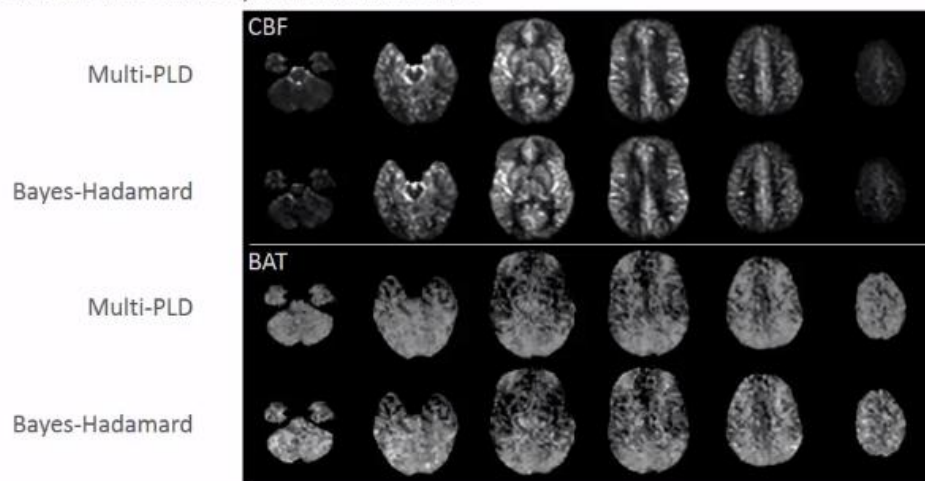


FIG. 5.7. a) Immagini Hadamard encoded e segnale prelevato in un voxel nei vari step di encoding;
 b) Mappe di CBF , Δt e $S_{T,B}$ generate a partire dalle immagini in a) e utilizzando il nuovo modello di riferimento;
 c) Immagini decodificate per 7 differenti TI e segnale prelevato in un voxel nel tempo;
 d) Mappe di CBF e Δt generate a partire dalle immagini in c) e utilizzando il classico approccio Multi-TI.

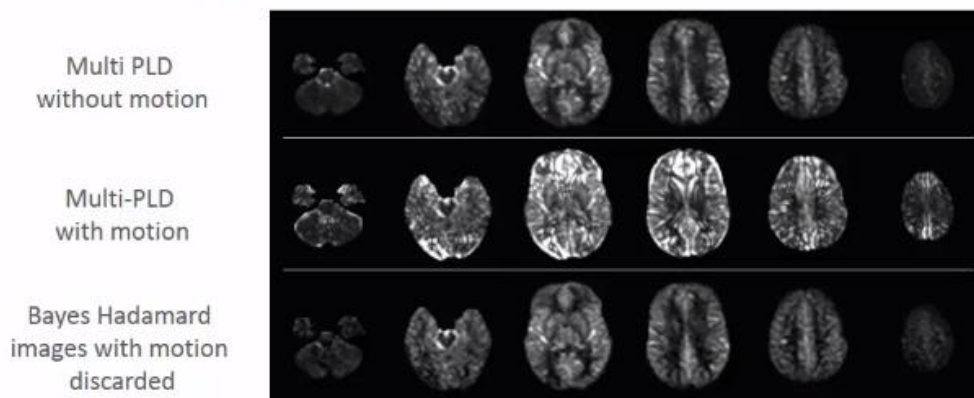
Comparison of Multi-PLD and Bayes-Hadamard data



- Good agreement
- Small local differences in BAT maps (possibly vessels and CSF)

FIG. 5.8. Confronto delle mappe di CBF e Δt utilizzando il modello Multi-PLD (in alto) e implementando il nuovo modello Bayes-Hadamard (in basso) in differenti slice.

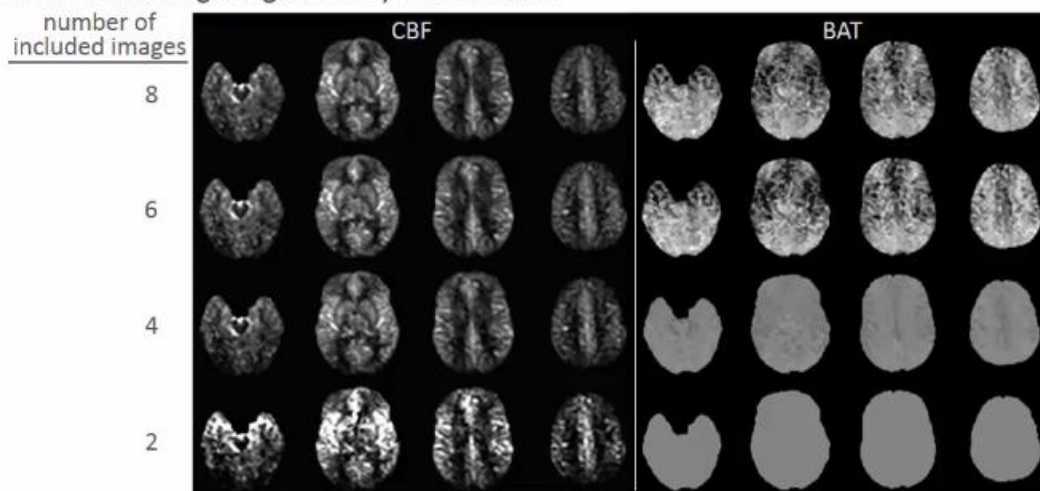
The effect of data corruption (motion in 2 encoded images)



- Motion can strongly affect Multi-PLD data
- Discarding corrupted images
 - Multi-PLD: decoding not possible (or only partly for Walsh-Hadamard²)
 - Bayes-Hadamard: **CBF/BAT maps despite missing/discarded images**

FIG. 5.9. Confronto delle mappe di *CBF* utilizzando il modello Multi-PLD corretto per il movimento (in alto), il modello Multi-PLD non corretto per il movimento (al centro) e implementando il nuovo modello Bayes-Hadamard eliminando le immagini corrotte dal movimento (in basso) in differenti slice.

The effect of missing images on Bayes-Hadamard



- Good quality CBF maps despite missing images
- Decreasing accuracy of BAT maps

FIG. 5.10. Confronto delle mappe di *CBF* e Δt implementando il nuovo modello Bayes-Hadamard a seconda del numero di immagini incluse nel processo di quantificazione (rispettivamente 8, 6, 4 e 2) in differenti slice.

5.4 Considerazioni finali

La soluzione proposta mostra un comportamento molto dinamico, in grado di adattarsi continuamente ai dati di risonanza magnetica raggiungendo la soluzione più prossima alla fisiologia reale nella procedura di stima. Riassumendo, la Subtraction Free ASL consente di modellare il segnale codificato acquisito senza utilizzare lo step di decoding indispensabile nella TE-pCASL standard. In questo modo le immagini corrotte possono essere scartate dall'analisi utilizzando i dati rimanenti a disposizione; in aggiunta, è possibile ricavare una mappa cerebrale ulteriore relativa al contributo tissue + relaxed blood rappresentativa del solo segnale tessutale.

L'approccio presentato permette di ottenere informazioni emodinamiche come CBF e Δt anche a partire da dataset incompleti/corrotti. Questo risulta particolarmente utile nel caso di setup clinico, dove il movimento costituisce l'elemento più critico per una corretta analisi dei dati sperimentali.

A livello implementativo, rispetto alla TE-pCASL, il carico computazionale non subisce modifiche significative; la costruzione del modello di riferimento rimane in ogni caso l'aspetto a cui prestare maggiore attenzione. Oltre a questo, partendo dalla definizione di Walsh-ordered Hadamard-matrix, per ogni passo di encoding è necessario inoltre definire in modo chiaro e preciso AIF_{TOT} riferita a precise AIF_{SB} , a seconda della fasi control e labeling dei singoli sub-boli. Non essendo più necessarie addizioni/sottrazioni ulteriori, la procedura di post-processing risulta ad ogni modo nettamente più corta e semplificata nonché meno propensa ad errori.

6 Conclusioni

L'analisi presentata costituisce una linea guida molto importante per l'elaborazione di dati TE-pCASL. Come sottolineato più volte nello svolgimento della presente Tesi, considerare all'interno della formulazione dei differenti modelli la dispersione dell'ingresso AIF e la componente macrovascolare permette una descrizione fisiologica più precisa e corretta dei fenomeni che avvengono all'interno del cervello. Per quanto riguarda la componente tessutale, il modello di Buxton con soluzione analitica è da preferirsi alla tradizionale soluzione con convoluzione in termini di stime finali e di velocità computazionale. Analizzando la componente macrovascolare, invece, l'utilizzo di *exp kernel* piuttosto che di *gamma kernel* garantisce comunque risultati significativamente confrontabili tra loro.

Sembra dunque evidente che per ricavare tutte le informazioni utili a descrivere in modo sufficientemente preciso la perfusione cerebrale sia indispensabile acquisire entrambe le informazioni e i relativi dataset tessutale e macrovascolare. Mentre il modello presentato in questa Tesi per la descrizione della parte tessutale dà prestazioni già molto buone, per quanto riguarda la descrizione della componente macrovascolare il modello presenta margini per un ulteriore miglioramento. Bisogna inoltre considerare che la complessità del modello finale, dato dall'unione dei due modelli (tessutale e macrovascolare), è molto elevata. Per migliorare le stime del modello finale è auspicabile l'utilizzo di un approccio di stima di tipo bayesiano: data la forte dipendenza delle stime tramite minimi quadrati dai punti iniziali scelti, l'utilizzo di prior consentirebbe una regolarizzazione dei risultati ultimi a livello di voxel.

Riassumendo, il lavoro svolto costituisce un punto di partenza molto importante per migliorare la quantificazione di dati di tipo Time-Encoded. Dal momento che nella letteratura corrente non sono presenti approcci modellistici come quelli sviluppati, una possibile strada futura da intraprendere consiste nell'applicare i modelli sopra elencati anche ad immagini ASL ottenute con sequenze diverse al fine di valutare il loro impatto nello studio della perfusione nei differenti distretti cerebrali.

Bibliografia

1. Alessandra Bertoldo (Università degli Studi di Padova, Corso di Laurea Magistrale in Bioingegneria). Neuroingegneria – Arterial Spin Labelling (ASL). Slide di riferimento e supporto didattico.
2. Van de Ven, Kim, Ph.D. (Philips Healthcare, Netherlands). pCASL for highly sensitive non-contrast brain perfusion. White Paper 2013.
3. David C. Alsop (Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston USA). ASL Perfusion Imaging: Concepts and Applications.
4. Marco Castellaro (Università degli Studi di Padova, Corso di Laurea Magistrale in Bioingegneria). Quantitative neuroimaging of perfusion with arterial spin labeling: deconvolution and physiology-based models. PhD Thesis 2014.
5. Micheal A. Chappell, Mark W. Woolrich, Samira Kazan, Peter Jezzard, Stephen J. Payne, and Bradley J. MacIntosh. Modeling Dispersion in Arterial Spin Labeling: Validation Using Dynamic Angiographic Measurements. *Magnetic Resonance in Medicine* 2013;69:563-570.
6. Micheal A. Chappell, Bradley J. MacIntosh, Manus J. Donahue, Matthias Günther, Peter Jezzard, and Mark W. Woolrich. Separation of Macrovascular Signal in Multi-inversion Time Arterial Spin Labelling MRI. *Magnetic Resonance in Medicine* 2010;63:1357-1365.
7. Federico von Samson-Himmelstjerna. BMBS COST Action BM1103 Arterial Spin Labelling Initiative in Dementia (AID).

8. Jack A. Wells, Mark F. Lythgoe, David G. Gadian, Roger J. Ordidge, and David L. Thomas. In Vivo Hadamard Encoded Continuous Arterial Spin Labeling (H-CASL). *Magnetic Resonance in Medicine* 2010;63:1111-1118.
9. Esben Thade Petersen (Department of Radiology and Department of Radiotherapy, University Medical Center Utrecht, The Netherlands). Multi Time-point Arterial Spin Labeling: Arterial Transit Time, Arterial Blood Volume, Slide di riferimento e supporto didattico.
10. Wouter M. Teeuwisse, Sophie Schmid, Eidrees Ghariq, Ilya M. Veer, and Matthias J.P. van Osch. Time-Encoded pseudoContinuous Arterial Spin Labeling: Basic Properties and Timing Strategies for Human Applications. *Magnetic Resonance in Medicine* 2014;72:1712-1722.
11. Giovanni Sparacino (Università degli Studi di Padova, Corso di Laurea Magistrale in Bioingegneria). Analisi di Dati Biologici – Parte 3A. Slide di riferimento e supporto didattico.
12. Marco Castellaro (Università degli Studi di Padova, Corso di Laurea Magistrale in Bioingegneria). Laboratorio di Neuroingegneria – Arterial Spin Labelling (ASL). Slide di riferimento e supporto didattico.
13. Alessandra Bertoldo (Università degli Studi di Padova, Corso di Laurea Magistrale in Bioingegneria). Neuroingegneria – Cluster Analysis. Slide di riferimento e supporto didattico.
14. Federico C A von Samson-Himmelstjerna, Micheal A Chappell, Jan Sobesky, and Matthias Günther. Subtraction free arterial spin labeling: a new Bayesian-inference based approach for gaining perfusion data from time encoded data. *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.* 2015;23:275.