

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
SCUOLA DI INGEGNERIA



Finito di scrivere il giorno 16 aprile 2015 utilizzando L^AT_EX 2_ε

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
SCUOLA DI INGEGNERIA

—
DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

—
TESI DI LAUREA IN BIOINGEGNERIA

ANALISI QUANTITATIVA DELLA
PERFUSIONE CEREBRALE DA
IMMAGINI DI RISONANZA
MAGNETICA ACQUISITE CON
SEQUENZA ASL 3D GRASE

RELATORE: CH.MA PROF.SSA ALESSANDRA BERTOLDO
CORRELATORE: DOTT. MARCO CASTELLARO

LAUREANDO: ALBERTO MIGLIORANZA

ANNO ACCADEMICO 2014-2015

alla mia famiglia...

“ L’immaginazione è più importante del sapere... ”

ALBERT EINSTEIN

Indice

Abstract	XIII
1 Introduzione	1
1.1 La perfusione cerebrale	1
1.2 Obiettivi della tesi	4
2 Arterial Spin Labeling	5
2.1 Introduzione all'Arterial Spin Labeling	5
2.2 Principali problematiche	7
2.3 Struttura di un tipico esperimento di ASL	10
3 ASL soluzioni implementative	13
3.1 Labeling	13
3.1.1 Pulsed ASL	14
3.1.1.1 STAR	15
3.1.1.2 FAIR	18
3.1.2 Labeling efficiency	20
3.2 Post-Labeling	21
3.2.1 Background Suppression	22
3.2.2 QUIPSS e Q2TIPS	24
3.3 Read-out	26
3.3.1 2D Echo Planar Imaging (EPI)	31
3.3.2 3D Gradient e Spin Echo (GRASE)	33

4	Quantificazione dati ASL: modello di Buxton	37
4.1	Il segnale di Arterial Spin Labeling	37
4.1.1	Tempo di arrivo e campionamento: singolo verso multiplo TI	40
4.2	Quantificazione della perfusione	43
4.3	Standard in ASL: modello di Buxton	45
4.3.1	Equazioni del modello	48
4.3.1.1	Pulsed ASL	49
4.3.2	Limitazioni del modello	50
5	Materiali e metodi	55
5.1	Data-set sperimentali	55
5.2	Sequenze e protocolli	59
5.2.1	Single-TI e protocollo demenze	61
5.2.2	Multi-TI	64
5.2.3	Protocollo test-retest	64
5.3	Pipeline di elaborazione ed analisi	67
5.3.1	Ambienti di lavoro	69
5.4	Metodi di elaborazione delle immagini ASL	70
5.4.1	Elaborazione dati ASL multi-TI	70
5.4.1.1	Variational Bayesian Inference	71
5.4.1.2	Separazione del segnale macrovascolare	73
5.4.2	Indici di precisione delle stime e calibrazione	76
5.4.3	Elaborazione dati ASL single-TI	79
5.4.3.1	Correzione del movimento	80
5.5	Metodi di elaborazione immagini strutturali	81
5.5.1	Coregistrazione	84
5.6	Metodi di analisi della perfusione	85
5.6.1	Multi-TI: selezione dei voxel	86
5.6.2	Analisi protocollo test-retest	87

6	Risultati	89
6.1	Prodotti principali della pipeline	89
6.1.1	Elaborazione immagini strutturali	89
6.1.2	Elaborazione immagini ASL	95
6.1.3	Coregistrazione	98
6.1.4	Analisi a livello di ROI	99
6.2	Risultati protocolli di acquisizione	101
6.2.1	Studio di riproducibilità	103
6.2.2	Protocollo demenze	106
7	Discussioni	111
7.1	Sequenze ASL: originale Siemens versus ottimizzate	111
7.2	Prodotti principali della pipeline	114
7.2.1	Elaborazioni immagini ASL	115
7.2.2	Elaborazione immagini ASL	117
7.2.3	Analisi a livello di ROI	119
7.3	Risultati protocolli di acquisizione	122
7.3.1	Studio di riproducibilità	122
7.3.2	Protocollo demenze	123
	Conclusioni	125
A	Strategia randomizzazione protocollo test-retest	129
	Bibliografia	131

Abstract

Lo studio della perfusione cerebrale permette di accedere ad importanti informazioni funzionali sui meccanismi che regolano il metabolismo cerebrale. La tecnica Arterial Spin Labeling (ASL) permette di misurare questo processo fisiologico in modo assolutamente non invasivo sfruttando l'acqua contenuta nel sangue come tracciante endogeno. I vantaggi di questo approccio sono molteplici e vanno dal maggior confort per il paziente, al minor impatto del tracciante a livello di costo-beneficio, alla possibilità di eseguire la misura anche su soggetti in cui non può essere utilizzato il contrasto, o ancora alla possibilità di realizzare studi longitudinali e, soprattutto, alla possibilità di avere dati in unità di misura assoluti. L'implementazione di questa metodica ed il processing delle immagini che lo scanner restituisce sono, tuttavia, ben più complicati dell'idea su cui si basa. In questa tesi, dopo aver introdotto dettagliatamente la tecnica, si descrive lo sviluppo di una pipeline semi automatica per sequenze ASL con labeling pulsato, read-out 3D GRASE e campionamento single e multi-TI. Il risultato è un'insieme di script che permettono di ottenere il valore medio di CBF di 26 ROI di materia grigia. Inoltre l'intero processo di misura è stato validato attraverso uno studio di riproducibilità e la pipeline della sequenza single-TI è stata applicata ai soggetti acquisiti con un protocollo di ricerca per lo studio delle patologie neurodegenerative per una prima valutazione.

Capitolo 1

Introduzione

1.1 La perfusione cerebrale

Il termine perfusione si riferisce al trasporto di ossigeno e nutrienti dal letto capillare ai tessuti per mezzo del flusso sanguigno e rappresenta uno dei più importanti processi fisiologici. Considerando un organo generico, un livello adeguato di perfusione garantisce il corretto funzionamento di quest'ultimo ed anomalie o malfunzionamenti del processo possono portare a pesanti effetti sulla salute dello stesso e non solo. Essendo il cervello un organo particolarmente perfuso, riceve una grande porzione di gittata cardiaca, una misura di perfusione può rappresentare un importante strumento nella valutazione dello stato di salute dei suoi tessuti. Infatti, molte condizioni patologiche, come stroke, tumori, patologie neurodegenerative, sono associate con disordini della perfusione che, se valutati accuratamente, possono restituire importanti informazioni diagnostiche. Inoltre, la perfusione può essere utilizzata anche come biomarcatore per diverse funzioni fisiologiche dal momento che è strettamente legata al metabolismo del glucosio.

La perfusione è un fenomeno complicato che può essere descritto attraverso un certo numero di parametri, ognuno dei quali caratterizzante un aspetto differente dello stato di perfusione del tessuto. Il parametro di maggior interesse per questo lavoro è il *Cerebral Blood Flow*, CBF, che rappresenta la misura più comune di

perfusione cerebrale. Utilizzando una notazione generica, il CBF è dato da:

$$P = \frac{F}{W} = CBF$$

dove F è la velocità del flusso sanguigno espressa in millilitri di sangue per minuto $[\frac{ml}{min}]$, W è la massa tessutale espressa in $10^2 g$ [100 g] e P è la quantità di "perfusione", chiamata CBF nel contesto cerebrale. Allora, il CBF è il volume di sangue arteriale trasportato in 100 g di tessuto per minuto e la sua unità di misura è $[\frac{ml}{100g min}]$. Valori tipici sono: $CBF = 60 [\frac{ml}{100g min}]$ per la materia grigia e $CBF = 20 [\frac{ml}{100g min}]$ per la materia bianca.

Nell'ambito dell'imaging, tuttavia, risulta più conveniente esprimere il CBF come flusso trasportato ad una unità di volume di tessuto piuttosto che ad una unità di massa. Infatti, prendendo come riferimento i voxel delle immagini, dal momento che non si conosce la massa di tessuto racchiusa all'interno di essi, è più semplice definire il CBF in termini di volume di tessuto. Sempre in termini generici, allora, si ha:

$$f = \rho P = \rho \frac{F}{W}$$

dove ρ è la densità tissutale in $[\frac{10^2 g}{ml}]$ e f , a volte chiamata velocità di perfusione, è espressa in millilitri di sangue per millilitri di tessuto per secondo, $[\frac{ml}{ml s}]$. Questa definizione voxel-based di CBF evidenzia il fondamentale ruolo giocato dal CBF nel trasporto di nutrienti ai tessuti e di pulizia dei prodotti metabolici: la velocità di trasporto di qualsiasi elemento ai tessuti è pari a $f C_b$, dove C_b è la concentrazione all'interno del sangue arteriale di quel elemento. Comunque f può essere definito secondo i termini standard semplicemente scalando tale misura per la densità locale dei voxel. Dal momento che nei tessuti del cervello la densità è prossima a $[1 \frac{g}{ml}]$ si ha :

$$\frac{ml}{ml s} = 1 \frac{g}{ml} \frac{ml}{100g min} = 1 \frac{g}{ml} \frac{ml}{100g 60s} = \frac{1}{6000} \frac{ml}{ml s} \Rightarrow f = \frac{1}{6000} CBF$$

dove è esplicitato il fattore correttivo. In realtà, dietro a questo fatto di scala, si nasconde un vero e proprio cambiamento del processo di misura. Rispetto al metodo usuale, questo risulta leggermente diverso, dal momento che la quantità che ora viene misurata è il flusso medio sul volume del voxel, il quale è afflitto dal problema del volume parziale. Nello specifico, la perfusione media è misurata con accuratezza, ma il vero flusso per grammo di tessuto è ignoto e dipende da che tipo di tessuto è incluso nel voxel. In questa tesi sia CBF che f si riferiscono alla stessa quantità di perfusione, tenuta presente la differente unità e la conseguente equazione di conversione.

Questa quantità, tuttavia, non è misurabile direttamente. Riuscire ad avere una misura affidabile di CBF osservando il sangue all'interno di un elemento tessutale, infatti, è molto difficile se non impossibile: l'elemento tessutale potrebbe contenere, ad esempio, porzioni di grandi arterie o vene che contengono sangue destinato a porzioni più distali o sangue in fase di drenaggio. Altrettanto difficile è la misura di CBF attraverso il movimento del sangue. Ad esempio, un elemento tessutale potrebbe non avere un cambio nel livello di perfusione, ma potrebbe presentare una velocità aumentata del sangue perché il CBF sta aumentando in una zona più distante del cervello. Lo stesso vale per il sangue drenato. Ciò che caratterizza la perfusione, infatti, non è il movimento del sangue, bensì il trasporto di sangue arteriale dalle arterie al letto capillare. Il metodo più robusto per tracciare questo processo, per quantificare il CBF, è di misurare la velocità di trasporto dalle arterie al tessuto di un agente specifico. Questo è il caso dell'Arterial Spin Labeling (ASL) tecnica che ha l'affascinante proprietà di misurare la perfusione in modo completamente non invasivo.

1.2 Obiettivi della tesi

In questa tesi è stato studiato l'intero processo di misura e quantificazione della perfusione da dati di risonanza magnetica acquisiti con sequenza ASL. Il lavoro ha coinvolto lo studio e l'ottimizzazione delle sequenze, lo studio del modello standard dei dati ASL, conosciuto come modello di Buxton, l'elaborazione di immagini di Arterial Spin Labeling e strutturali e la validazione di una misura più completa e più facilmente fruibile dal medico. In particolare gli obiettivi di questa tesi sono stati:

1. L'implementazione di una pipeline di elaborazione ed analisi per dati ASL in grado di restituire valori quantitativi di CBF di immediata comprensione;
2. La valutazione e validazione sia della processo di misura, quindi delle sequenze a disposizione, sia della pipeline di quantificazione.

In questa tesi, il lavoro svolto per il raggiungimento di tali obiettivi è presentato secondo la struttura che segue. Nel Capitolo 2 si introduce la metodica dell'Arterial Spin Labeling, esponendone i principi base e le principali problematiche. Il Capitolo 3 presenta le soluzioni implementative più valide presenti in letteratura per il tipo di approccio che ha generato i dati a disposizione. Nel Capitolo 4 viene introdotto e dettagliatamente esposto il modello di Buxton, modello descrittivo del segnale ASL. Nel Capitolo 5 i data set utilizzati sono stati brevemente presentati ed i metodi applicati ai dati sono stati dettagliatamente esposti. Il Capitolo 6 illustra i risultati ottenuti con i metodi presentati nel capitolo precedente. Infine, il Capitolo 7 è dedicato alla discussione di alcuni dei risultati riportati e delle metodiche testate.

Capitolo 2

Arterial Spin Labeling

In questo capitolo si presenta l'Arterial Spin Labeling, tecnica che permette di misurare la perfusione all'interno di diversi organi tra cui il cervello. Facendo riferimento a quest'ultimo, si espongono i principi base del metodo, gli aspetti generali e si presenta la struttura di un suo tipico esperimento.

2.1 Introduzione all'Arterial Spin Labeling

L'Arterial Spin Labeling (ASL) è una tecnica non invasiva che fornisce una misura quantitativa del flusso sanguigno cerebrale (CBF, *Cerebral Blood Flow*). A differenza delle altre tecniche di risonanza magnetica per la quantificazione della perfusione (DSC o DCE) l'ASL fa uso di un tracciante endogeno eliminando il rischio tossico per l'organismo. L'idea generale alla base di questa tecnica consiste nell'utilizzare i protoni delle molecole d'acqua presenti nel flusso sanguigno, opportunamente marcati, per la misura dell'afflusso di sangue ai tessuti. La marcatura avviene attraverso una manipolazione della magnetizzazione di queste molecole, in particolare essa viene invertita all'interno delle grandi arterie che irrorano il cervello. I protoni così marcati costituiscono un tracciante per la perfusione, dal momento che il processo di trasporto dell'acqua attraverso la barriera ematoencefalica si può considerare relativamente illimitato e quindi essi diffondono dai capillari ai tessuti permettendo la misura del CBF.

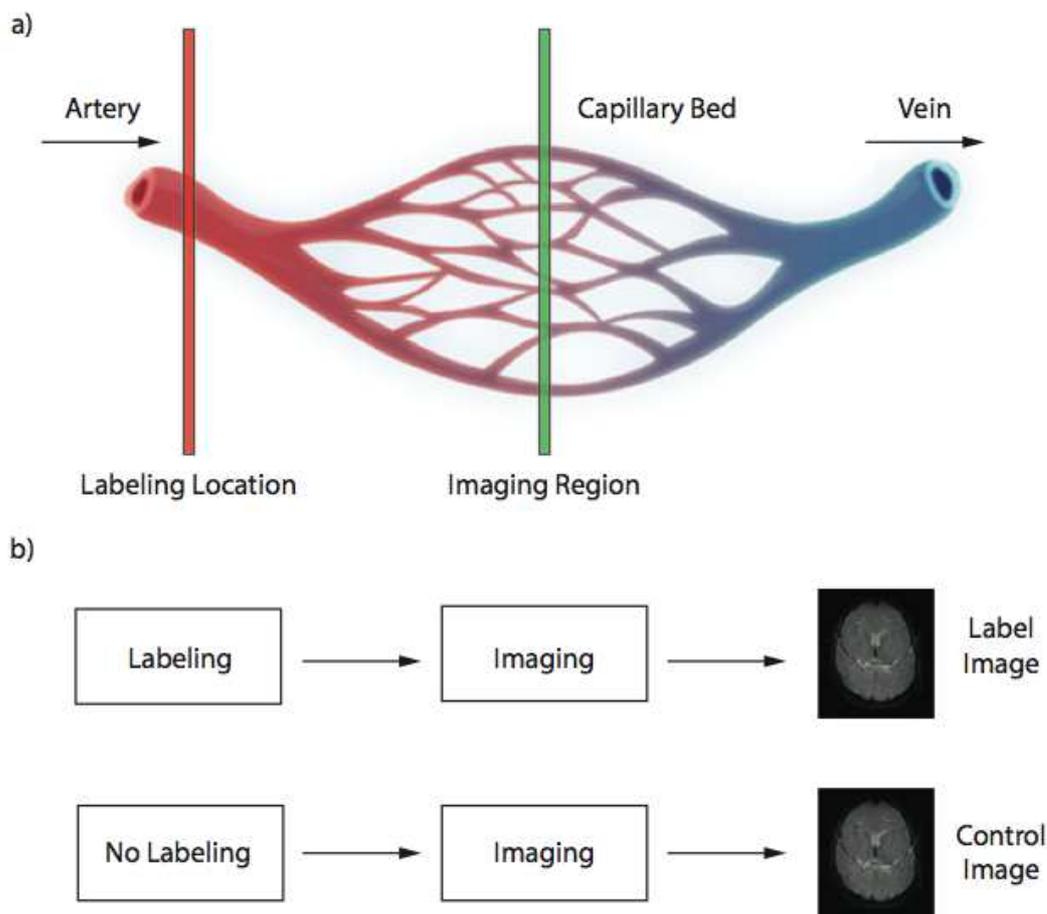


Figura 2.1: Nel pannello a) è mostrata una rappresentazione schematica del fenomeno misurato dall'ASL. L'acqua nel sangue arteriale è trasportata fino al letto capillare dei tessuti dove si scambia con l'acqua presente in essi e infine viene drenata dal flusso venoso. Questo processo viene magneticamente tracciato dai protoni marcati ed isolato da un'appropriata sottrazione di immagini. Nel pannello b) si vede lo schema concettuale del protocollo ASL. Immagine presa da [9]

In un tipico esperimento di Arterial Spin Labeling, si applica un impulso di inversione a radiofrequenze (RF) per capovolgere la magnetizzazione dei protoni delle molecole d'acqua nel sangue arteriale prima che questo raggiunga la regione da acquisire (*imaging region*). Una volta raggiunta quest'ultima, le molecole marcate fluiscono all'interno di ogni elemento tessutale in proporzione alla perfusione locale. Dunque, dopo un'attesa sufficiente da permettere al sangue marcato di raggiungere la regione di interesse (tipicamente definita tempo di inversio-

ne o inversion time, TI), si realizza l'acquisizione di quella che viene chiamata immagine label. Successivamente l'esperimento si ripete senza che i protoni delle molecole d'acqua vengano marcati, in modo da generare l'immagine control, nella quale non è presente nessuna informazione dell'afflusso di sangue. Se le due immagini, label e control, vengono acquisite in modo tale che il segnale proveniente dagli spin statici sia uguale nelle due acquisizioni, allora la differenza delle due da origine ad un segnale (segnale differenza di magnetizzazione ΔM) proporzionale alla quantità di sangue giunto ad ogni voxel.

Il grande vantaggio dell'ASL rispetto alle altre tecniche che permettono di misurare la perfusione risiede nella sua natura completamente non invasiva. La non invasività rende questo metodo estremamente versatile permettendo studi senza restrizioni di età (anche soggetti pediatrici) o condizioni patologiche (insufficienze renali impediscono l'utilizzo di traccianti esogeni), senza assunzioni sullo stato della barriera ematoencefalica e anche in tessuti diversi da quelli cerebrali. Inoltre, l'ASL dà la possibilità di ripetere nel tempo l'indagine sulla perfusione, eliminando i problemi legati alla possibile tossicità ed al costo dei traccianti delle tradizionali metodiche. Questa novità permette, ad esempio, di monitorare il variare della perfusione in seguito ad ictus o assunzione di farmaci, oppure di realizzare una risonanza funzionale basata sulla perfusione.

2.2 Principali problematiche

L'idea che sta alla base dell'ASL porta con sé una serie di complicazioni che richiedono una grande attenzione. Il principale problema dell'ASL è intrinsecamente connesso allo stesso processo che vuole misurare ed al modo in cui si propone di farlo. Se f definisce il CBF locale in $[s^{-1}]$ (f è il CBF misurato in mL di sangue su mL di tessuto per secondi, si veda Capitolo 1) e il volume di un voxel è V ($[mL]$), allora la velocità totale del flusso arteriale in un voxel è fV ($[mL]$) e il volume trasportato durante tutto l'intervallo TI è $fVTI$. Di conseguenza, la porzione di volume di un voxel rimpiazzata dal sangue arteriale è $\frac{fVTI}{V} = fTI$.

Poichè tipici valori di f e TI sono rispettivamente $0.01 [s^{-1}]$ e $1 [s]$, risulta che la percentuale di volume del voxel occupata da acqua marcata è solo dell'1-2 % [7]. A questo si aggiunge il decadimento della magnetizzazione, rendendo l'acquisizione dell'informazione possibile solamente in una limitata finestra temporale. Il tempo di rilassamento longitudinale nel sangue di un soggetto adulto sano a 3T è stato stimato essere circa $1.65 [s]$ [24], ciò significa che dopo $3 [s]$ di decadimento il segnale rimanente ammonta solo al 16 % della magnetizzazione di partenza.

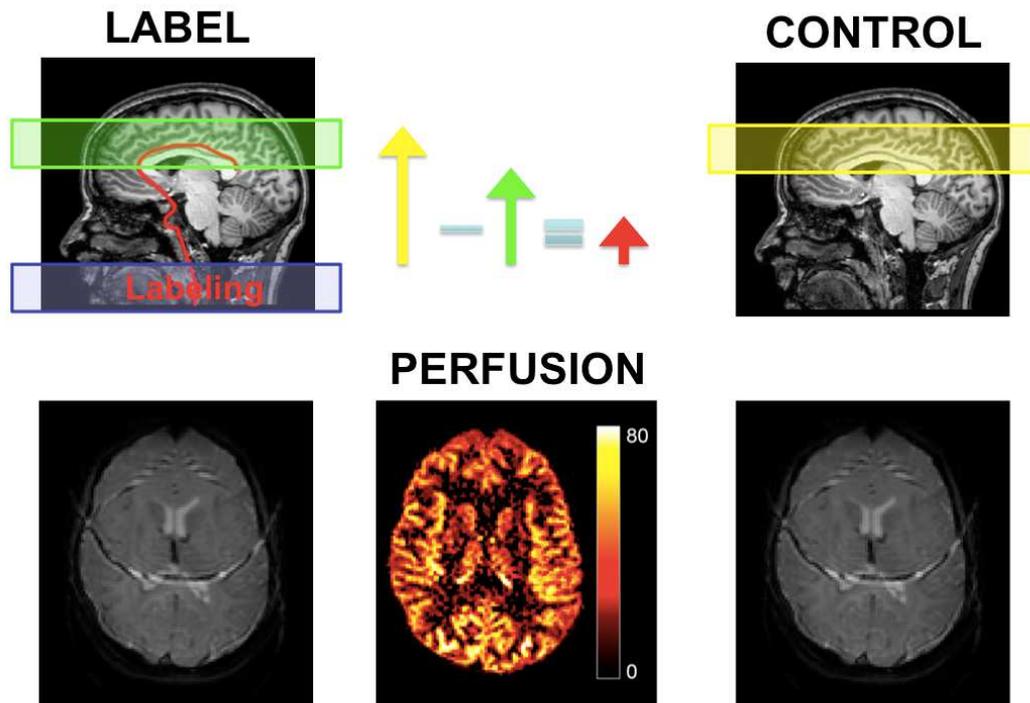


Figura 2.2: Estrazione dell'immagine pesata in perfusione secondo il principio base dell'Arterial Spin Labeling. L'esperimento tipico della tecnica prevede di acquisire le stesse immagini in due condizioni diverse. Una chiamata label e contenente sia il contributo dei tessuti statici sia del sangue, l'altra chiamata control e contenente il solo contributo dei tessuti statici. La differenza nello stato di magnetizzazione, dovuta al sangue arteriale marcato che ha raggiunto il letto capillare dei tessuti, viene isolata attraverso la sottrazione delle due immagini. In condizioni ideali, cioè se la magnetizzazione dei tessuti (spesso chiamata magnetizzazione degli spin statici) rimane la stessa in entrambe le acquisizioni, il segnale differenza è proporzionale alla perfusione cerebrale o CBF.

A causa della debole natura del segnale di ASL, allora, ogni altro fattore, potenzialmente in grado di introdurre variazioni sensibili del segnale, deve essere evitato o compensato. Una comune fonte di errore è data dall'effetto di trasferimento della magnetizzazione (*magnetization transfer*, MT) (Figura 2.3). A causa di questo effetto si origina una perdita di segnale paragonabile alla variazione di segnale indotta dalla perfusione che, se non gestita, rende impossibile la misura. La presenza di MT rende perciò necessario adottare delle metodiche che eguagliano tale effetto sia nell'immagine label che nell'immagine control in modo tale che esso scompaia dopo l'operazione di sottrazione.

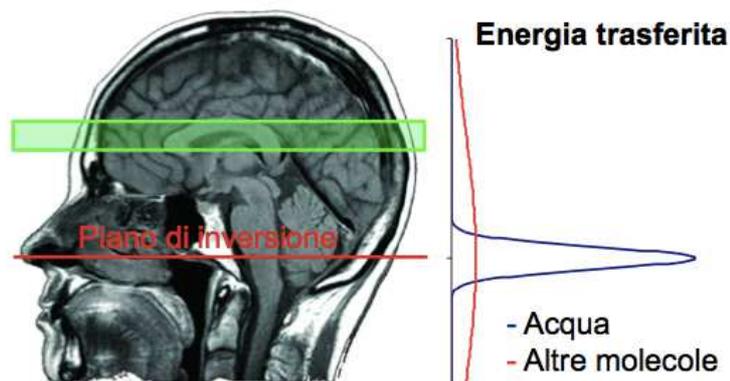


Figura 2.3: Come si può vedere i protoni dell'acqua nel sangue hanno uno stretto spettro in frequenza (curva blu), mentre le macromolecole dei tessuti del cervello hanno uno spettro più ampio (curva rossa). Gli impulsi di labeling, allora, modificano la magnetizzazione degli spin di macromolecole situate in posizioni diverse dal piano di inversione. Questa magnetizzazione si può poi trasferire alle molecole d'acqua libere e, se la potenza totale degli impulsi RF differisce tra le acquisizioni di label e control, diventare una differenza netta che si trasforma in errore dopo sottrazione.

ASL è una tecnica a basso SNR (*Signal-to-Noise Ratio*), a causa della natura stessa del segnale. Per aumentare il rapporto segnale disturbo dei dati è necessario acquisire molteplici ripetizioni dello stesso esame per ottenere un'immagine media. Per ottenere un buon SNR, si dovrebbero acquisire un numero elevato

di coppie label control. Inevitabilmente il tempo totale per la realizzazione dell'esame si dilata e bisogna dunque trovare un compromesso tra SNR e durata dell'esperimento.

La durata totale dell'esperimento è un altro importante dato da non tralasciare. Infatti, più lungo è il tempo richiesto per l'acquisizione delle due immagini e più aumenta la probabilità di introdurre artefatti da movimento. Dal momento che la generazione dell'immagine pesata in perfusione si basa su di una semplice sottrazione, il verificarsi di uno spostamento della regione in esame tra le due acquisizioni produrrebbe un segnale differenza relativo a due punti diversi dell'encefalo e quindi privo di significato. Ogni spostamento della testa da parte del soggetto sottoposto all'esame può, allora, causare errori nelle mappe di perfusione e il parametro temporale diventa ancora più importante quando, invece di soggetti sani, si pensa di studiare soggetti patologici poco collaboranti.

2.3 Struttura di un tipico esperimento di ASL

L'implementazione dell'ASL può essere schematizzata tramite una struttura a tre blocchi:

1. **labeling:** nella quale viene creato il bolo di tracciante che deve essere trasportato nei tessuti, attraverso l'inversione della magnetizzazione degli spin dei protoni dell'acqua contenuta nel sangue
2. **post-labeling:** nella quale si applicano una serie di impulsi atti a migliorare il SNR o a semplificare il processo di quantificazione oppure semplicemente si attende che trascorra il TI
3. **read-out:** nella quale si acquisisce l'immagine prodotta (control e label)

Esistono diverse soluzioni tecniche sia per fase di labeling, sia per l'acquisizione delle immagini. La caratteristica fondamentale di questo tipo di struttura è che ognuno dei tre blocchi è, in linea generale, indipendente dagli altri due. Questo

aspetto permette di settare e combinare al meglio le soluzioni implementative più appropriate per l'applicazione di lavoro specifica.

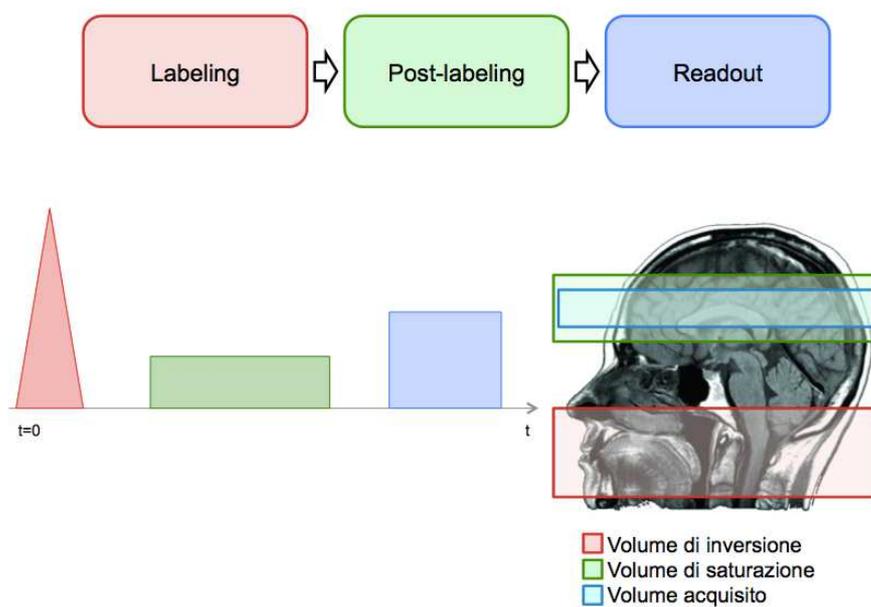


Figura 2.4: Generico esempio di una sequenza di ASL completa delle tre fasi. Sono evidenziate posizione e tempo di ogni fase, riconoscibili dai diversi colori. Le soluzioni implementative attuabili nelle varie fasi sono dettagliatamente descritte nel Capitolo 3.

Capitolo 3

ASL soluzioni implementative

In questa tesi vengono presentate le soluzioni più valide presenti in letteratura per il set di lavoro che ha generato i dati a disposizione. Per affrontare l'argomento nel modo più chiaro possibile si affronteranno tre paragrafi, uno per ogni blocco dello schema generale (Figura 2.4).

3.1 Labeling

Il primo blocco dello schema è quello in cui si devono invertire gli spin dei protoni delle molecole d'acqua contenute nel sangue. Concettualmente esistono due grandi approcci per ottenere questo risultato: ASL pulsata (*pulsed arterial spin labeling*, PASL) e ASL continua (*continuous arterial spin labeling*, CASL). Nella CASL gli spin del sangue arteriale vengono invertiti nel momento in cui attraversano un piano detto di inversione. Per l'inversione l'approccio impiega un impulso RF di inversione adiabatico flusso-guidato di durata compresa nell'intervallo 2 - 4 [s]. Nella PASL, invece di un lungo impulso RF, viene utilizzato un impulso (di durata di 10 - 50 [ms]) che realizza un marcatura definita nello spazio su una larga regione, generando quindi un largo volume di spin invertiti quasi contemporaneamente. In questo approccio, allora, il labeling è operato nello spazio invece che nel tempo e questo ha un effetto diretto sul processo di quantificazione: la durata del bolo di tracciante (*bolus duration*, τ) è sconosciuta. Nella

CASL, oltre alla possibilità di settare la durata del bolo, si ha anche un maggior SNR (dato molto sensibile in questa tecnica). Tuttavia, rispetto a quest'ultima, la PASL ha il vantaggio di soffrire meno di effetti MT e di avere una superiore efficienza di labeling (frazione di magnetizzazione longitudinale invertita), oltre and un SAR (*specific absorption rate*) inferiore grazie all'uso di impulsi RF corti. Il principale problema della CASL, però, risiede nell'inadeguatezza delle componenti hardware delle macchine nel realizzare gli impulsi richiesti. Così, nel 2008, Dai e colleghi hanno sviluppato un approccio ibrido che permette di superare i problemi pratici della CASL [13]. Esso consiste in un protocollo CASL realizzato con un treno di impulsi RF e delle forme d'onda per i gradienti adeguatamente sagomate per oltrepassare i limiti dell'approccio originale e prende il nome di ASL pseudo continua (*pseudo continuous arterial spin labeling*, pCASL).

Dal momento che l'approccio utilizzato per produrre il dataset a disposizione è la PASL, la trattazione proseguirà esponendo le migliori metodiche per tale scelta.

3.1.1 Pulsed ASL

Le principali differenze tra le varie implementazioni PASL consistono nella posizione della regione di labeling e nello stato magnetico degli spin marcati nelle immagini label e control. Tutte le strategie realizzano l'inversione degli spin utilizzando un impulso RF di inversione iperbolico secante adiabatico. Dovendo marcare contemporaneamente una larga regione di interesse è necessario che l'inversione sia il più uniforme possibile e la caratteristica principale degli impulsi adiabatici risiede proprio nella non dipendenza da come varia B_1 lungo il campo di magnetizzazione. In particolare gli impulsi adiabatici non obbediscono alla relazione tipica tra flip angle θ e campo B_1

$$\theta = \gamma \int_0^T B_1(t) dt \quad (3.1)$$

dove T è la lunghezza dell'impulso, $B_1(t)$ è la modulazione RF e γ il rapporto giromagnetico, ma bensì hanno θ dipendente da come variano ampiezza e modulazione del campo B_1 [5, cap. 6].

3.1.1.1 STAR

Nel 1994, Edelman e colleghi, presentarono la tecnica STAR (*Signal Targeting with Alternating Radiofrequency*) [15]. Come si può vedere in Figura 3.1 la sequenza inizia, sia per l'immagine marcata che per quella di control, con l'applicazione di un impulso slice-selettivo di 90° sulla regione di imaging (area verde in Figura 3.1). La saturazione serve a proteggere il volume da acquisire da possibili perturbazioni causate dal successivo passo di inversione. Lo step successivo inverte gli spin contenuti all'interno di una fetta piuttosto spessa, 10 - 15 [cm], posizionata vicino alla regione di imaging, ma distanziata da essa di circa 1 [cm] per la necessità di eliminare gli effetti indesiderati prodotti dal profilo non ideale dell'impulso di inversione. La banda gialla di Figura 3.1-b) è la regione di labeling appena descritta per le immagini label. Per acquisire l'immagine control, invece, a livello teorico sarebbe sufficiente acquisire il volume di interesse ripetendo la sequenza di labeling senza l'impulso di inversione. In tal modo, per quanto presentato nel Paragrafo 2.2, dove si spiegava come l'impulso di inversione causasse degli artefatti dovuto all'effetto di MT, solo l'immagine label soffrirebbe di contributi derivanti dall'effetto di MT e questo ne impedirebbe l'eliminazione. Al contrario, se si applicasse un identico impulso con stessa funzione di modulazione ma frequenza portante opposta rispetto all'immagine label (questo si ottiene selezionando un posizionamento opposto della regione di labeling rispetto a quella di imaging, banda blu Figura 3.1-d)) si produrrebbe un contributo simmetrico nelle due immagini che ne garantirebbe la cancellazione al momento del calcolo dell'immagine differenza. La prima versione della STAR sfrutta questo principio, ma può essere applicata solamente per effettuare l'acquisizione di un singola fetta (*slice*) [15].

Per realizzare acquisizioni multi-slice, nel 1998, Edelman e Chen proposero una nuova versione della STAR [14]. Come mostra il pannello e) di Figura 3.1,

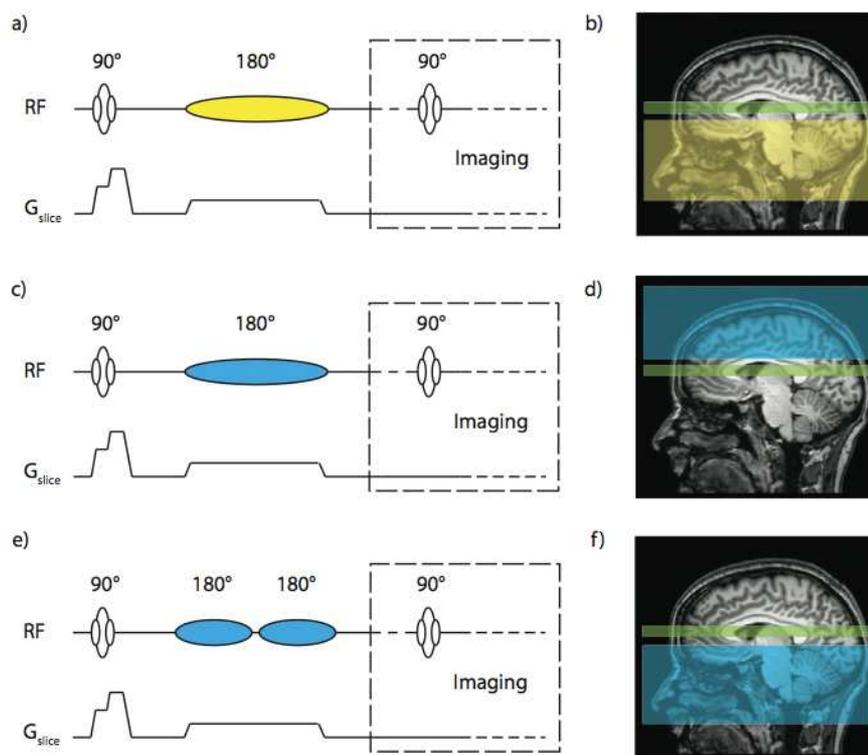


Figura 3.1: Schema STAR per immagini label e control [9]. In tutti i casi è applicato un impulso di saturazione (90°) sulla regione di imaging, banda verde, prima dell'inizio del processo di labeling. I pannelli a) e b) mostrano posizione di applicazione e sequenza per l'immagine label, mettendo in evidenza impulso e zona di inversione (banda gialla). I pannelli c) e d), invece, mostrano posizione e sequenza, nella versione originale della STAR [15], per l'immagine control. Questa versione permette la sola acquisizione single-slice e, come si vede dal pannello d), applica l'impulso di inversione in un'area opposta (banda blu), rispetto alla regione di imaging, all'area di applicazione dell'immagine label. In tal modo si riescono a cancellare gli artefatti da MT. Negli ultimi due pannelli è mostrata la versione più recente della STAR [14] che permette l'acquisizione multi-slice pur cancellando gli effetti da MT. Come si può notare (pannello f) banda blu) la regione di applicazione coincide con la regione di inversione dell'immagine di label, ma varia la sequenza degli impulsi. Il pannello e) mostra che ora sono due impulsi di inversione, ma di potenza pari alla metà di quella utilizzata in fase di labeling; in questo modo si producono gli stessi effetti di MT che in fase di post elaborazione si eliminano semplicemente calcolando l'immagine differenza.

in questa versione la potenza dell'impulso RF di inversione è controbilanciata da due impulsi adiabatici consecutivi con potenza pari a metà della potenza dell'impulso usato in fase di labeling. L'utilizzo di due impulsi consecutivi di inversione permette, senza realizzare nessuna marcatura, di non modificare la posizione di applicazione (Figura 3.1-f)) e quindi di fare in modo che gli effetti causati dal fenomeno di MT siano identici nei due casi. Questo accorgimento rende possibile l'acquisizione multi-slice con una buona compensazione degli effetti di MT [14].

In generale, utilizzando la una tecnica STAR per la fase di labeling, si marcherà il sangue arteriale che deve fluire nella regione di imaging con una magnetizzazione inversa e di conseguenza il segnale registrato nei voxel dell'immagine label, M_l , risulterà più piccolo di quello misurato nell'immagini control, M_c (ovviamente se una consistente quantità di sangue è entrata nel voxel). Questo significa che, per ottenere un'immagine differenza a valori positivi, il segnale differenza dovrà essere definito come:

$$\Delta M = M_c - M_l \quad (3.2)$$

STAR: variazioni alla tecnica base

La prima variazione alla STAR prende il nome di PICORE, *Proximal Inversion with a Control for Off-Resonance Effects* [34]. Questa tecnica modifica la prima implementazione STAR perchè nell'immagine control non vi è nessun gradiente per la selezione di volumi. In altre parole, l'impulso di inversione viene applicato all'intero volume. In questa maniera la frequenza portante è la stessa nelle due immagini e gli effetti del fenomeno di MT possono essere eliminati. Inoltre, la PICORE può compensare effetti asimetrici di MT e non è sensibile al flusso dalle zone distali delle regione di imaging. Comunque, questa versione è più sensibile ad artefatti di tipo eddy currents poichè le forme d'onda nelle due acquisizioni sono differenti.

Un'altra alternativa alla STAR originale è la *Transfer Insensitive Labeling Technique*, TILT [17]. Wong e colleghi hanno sostituito l'impulso di inversione, nell'immagine label, con due impulsi di saturazione successivi. Per ottenere una magnetizzazione netta di 180° i due impulsi devono avere la stessa fase. Nell'immagine control, al contrario, i due impulsi hanno fase opposta e di conseguenza non realizzano nessuna magnetizzazione, ma producono gli stessi contributi dovuti all'effetto di MT che si hanno nell'immagine label.

3.1.1.2 FAIR

La tecnica FAIR (*Flow-Insensitive Alternating Inversion Recovery*, [22] [23]) impiega un impulso di inversione frequenza-selettivo accoppiato o meno con un gradiente slice-selettivo che ne determina la localizzazione. L'impulso utilizzato, come per la STAR, è tipicamente adiabatico, ma, al contrario di essa, l'impulso nelle due immagini ha la stessa frequenza portante.

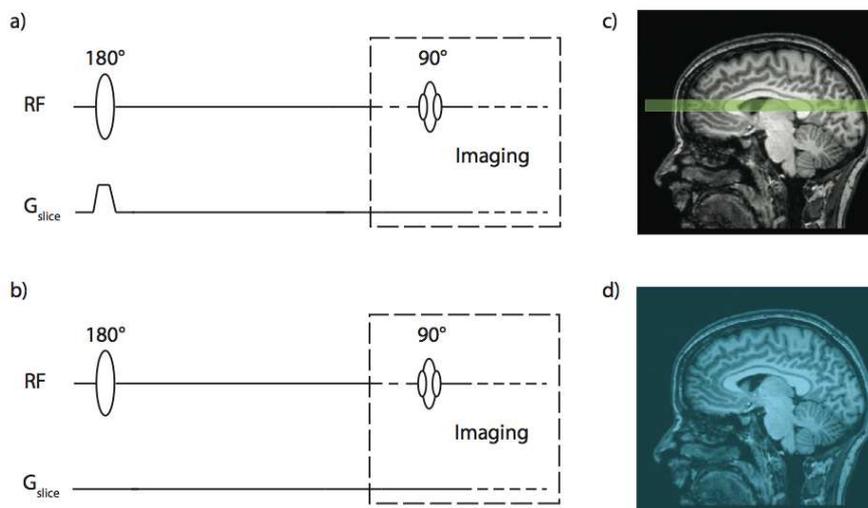


Figura 3.2: Schema FAIR per immagini label e control [9]. In questa tecnica di labeling nessun impulso di saturazione è applicato prima della sequenza di inversione. Nei pannelli a) e c) è descritta la generazione del bolo di tracciante. Come si vede impulso e gradiente di selezione sono combinati insieme e invertono la regione di imaging. Nei pannelli b) e d) è invece descritta la sequenza per l'immagine control: lo stesso impulso viene applicato questa volta all'intero volume (no gradiente) permettendo l'eliminazione degli effetti MT.

Per produrre l'immagine label l'impulso di inversione è accoppiato al gradiente selettivo che, diversamente dalla STAR, localizza l'impulso entro la regione di imaging (banda verde Figura 3.2-c)) lasciando invariati tutti gli spin del resto del campo. Il gradiente selettivo è scelto in modo che il profilo spaziale dell'impulso di inversione sia leggermente più largo della regione di imaging al fine di minimizzare l'impatto dei lobi laterali e della regione di transizione e di garantire un'inversione uniforme delle slice da acquisire [5].

L'immagine control può essere semplicemente generata applicando l'impulso di inversione da solo (pannello b) Figura 3.2), ma un approccio migliore, presentato da Kwong e colleghi [23], prevede di applicare il gradiente di selezione come gradiente di spoiler (quindi subito dopo l'impulso). Mantendendo la stessa forma d'onda per i gradienti in entrambe le condizioni, questo schema permette una migliore cancellazione degli effetti di eddy-current. Inoltre, dal momento che sia sangue arteriale che tessuti sperimentano un simile recupero dell'inversione e il tempo T_1 del sangue è solo leggermente più lungo di quello della materia grigia, virtualmente l'immagine control è insensibile al flusso arteriale [5].

Diversamente da quanto accade nello schema STAR, nella FAIR il sangue arteriale risulta marcato positivamente, poichè non si inverte il sangue che deve entrare nella regione di interesse, ma quello che vi è contenuto. Dall'altro lato, invece, la magnetizzazione dell'immagine control è negativa. Questo significa che per avere un'immagine differenza con valori positivi, il segnale ΔM è definito come:

$$\Delta M = M_l - M_c \quad (3.3)$$

In generale, la tecnica FAIR risulta essere più robusta agli effetti da MT rispetto alla STAR e, inoltre, dato che segnale di perfusione si origina dal sangue arteriale che giunge alla regione di imaging sia dalla zona prossimale che da quella distale, in caso di patologie o rete capillare ignota, la FAIR potrebbe essere meno sensibile a fenomeni di sottostima.

FAIR: variazioni alla tecnica base

Le variazioni alla tecnica FAIR sono fondamentalmente due: UNFAIR e FAIRER.

Nel 1997 Helpert e colleghi hanno presentato lo schema UNFAIR [19] (*Uninverted Flow-insensitive Alternating Inversion Recovery*) nel quale gli impulsi di inversione, sia nell'immagine label che in quella control, vengono raddoppiati senza modificare l'associazione tra impulso e gradiente. In particolare, l'immagine control viene generata dall'applicazione di due impulsi di inversione senza l'accoppiamento di nessun gradiente di selezione. Per l'immagine label, invece, uno degli impulsi è applicato insieme al gradiente per invertire la sola regione di imaging, mentre l'altro va ad invertire gli spin dell'intero volume. Come conseguenza di queste sequenze, si ottengono delle immagini nelle quali la magnetizzazione è ruotata a 360° e, quindi, con contenuto informativo a valori opposti rispetto alla tradizionale FAIR. In questa tecnica, allora, il segnale ΔM è definito come nella STAR (Eq. 3.2).

La seconda variazione rispetto alla tecnica base è la FAIRER [26] (*Flow-Insensitive Alternating Inversion Recovery with an Extra Radiofrequency pulse*). In questo schema gli studiosi hanno aggiunto un impulso di saturazione slice-selettivo (regione di imaging) subito dopo l'impulso di inversione della sequenza FAIR. La variazione è stata sviluppata per ridurre la sensibilità dell'immagine differenza dal valore di T_1 e renderla più robusta contro i T_1 molto vicini al valore nullo nello specifico tessuto.

3.1.2 Labeling efficiency

La *labeling efficiency*, o efficienza di labeling, è uno degli aspetti critici per la qualità dell'immagine di ASL. Questa particolare caratteristica delle strategie di labeling, infatti, influisce direttamente sul SNR.

In generale, l'efficienza di labeling può essere definita come la frazione iniziale di sangue con magnetizzazione longitudinale invertita dallo schema di tagging

(indicato con la lettera α):

$$\alpha = \frac{M_0 - M_0^L}{2M_0} \quad (3.4)$$

Per l'approccio PASL una tale definizione sta a significare che, potenzialmente, gli spin di tutte le molecole d'acqua potrebbero essere invertite e per questa tecnica non rappresenta un grande problema. Infatti, nel 2006 è stato dimostrato che per le tecniche PASL la labeling efficiency supera il 90% [9]. Il *consensus paper* dell'ASL, pubblicato nel 2014 e contenente le prime linee guida per uno standard in questo campo, raccomanda di fissare α ad un valore di 0.98 in caso approccio PASL [2].

L'efficienza di labeling nella pCASL è funzione di diversi fattori, come la velocità di flusso, l'ampiezza del gradiente e le caratteristiche del treno di impulsi ad esso accoppiato. A differenza della PASL, una corretta stima è qui fondamentale. Per la pCASL α è calcolato come la frazione di spin correttamente invertiti rispetto al numero totale che passa attraverso il piano di inversione durante la fase di marcatura. Tuttavia, dal momento che α nella pCASL è molto sensibile a diverse sorgenti di variazioni, come ad esempio uno stato patologico del paziente piuttosto che la specifica inomogeneità dei campi B_0 e B_1 dello scanner in uso, un'approccio più completo ed accurato può essere quello di stimare il valore dell'efficienza di labeling direttamente dai dati [9].

3.2 Post-Labeling

La fase di Post-Labeling è il periodo compreso tra la fine della sequenza di labeling e l'inizio del blocco di acquisizione. In linea generale, per protocolli PASL l'intervallo di tempo del post-labeling viene chiamato tempo di inversione (*inversion time*, TI), mentre per protocolli CASL o pCASL ritardo di post-labeling (*post labeling delay*, PLD). In entrambi i casi, in questo blocco si può semplicemente

attendere che trascorra il tempo stabilito oppure si può sfruttare tale intervallo con sequenze utili al miglioramento del SNR o alla semplificazione del processo di quantificazione.

3.2.1 Background Suppression

Idealmente le immagini control e label differiscono per il solo contenuto di sangue marcato e la quantità di segnale misurabile dipende dal livello di perfusione. Infatti, se nella teoria il segnale derivante dagli spin statici nelle due acquisizioni è il medesimo, nella pratica fluttuazioni fisiologiche fanno sì che il segnale misurato differisca da una condizione all'altra e che tale differenza venga confusa con il segnale ASL. La tecnica della soppressione dello sfondo (*background suppression*, BS) ha proprio l'obiettivo di eliminare questa problematica. L'idea di base è quella di tentare di annullare qualsiasi contributo derivante dai tessuti senza modificare il segnale ASL, ottenibile applicando impulsi di inversione multipli. Il tempo a disposizione per realizzare questo obiettivo è rappresentato dal TI.

Originariamente la BS fu sviluppata per le tecniche angiografiche (1997), ma in poco tempo venne adattata all'ASL da Ye e colleghi [36]. In una sequenza ASL senza BS, con un impulso di pre-saturazione nella fase di labeling, il naturale andamento della magnetizzazione dei tessuti è di tipo T_1 recovery e nell'istante di acquisizione questa è, se non completamente recuperata, solo leggermente pesata in T_1 . L'introduzione di impulsi di BS per l'eliminazione, ad esempio, di materia bianca (*white matter*, WM) e grigia (*grey matter*, GM) causa i cambiamenti visibili in Figura 3.3: ad ogni impulso il segno dell'evoluzione del segnale viene mutato. Questo specifico schema di BS ha un tempismo rispetto alla fase di read-out tale per cui il contributo derivante da WM e GM è quasi nullo e quello dovuto dal CSF è comunque più basso rispetto al caso in cui non si applichi soppressione dei tessuti. Se gli impulsi di inversione fossero ideali, l'attenuazione dei tessuti avverrebbe lasciando inalterato il segnale del sangue marcato. Dal momento che gli impulsi sono sempre imperfetti, è necessario tener conto che vi è comunque una piccola attenuazione anche di segnale ASL. Per uno schema simile a quello

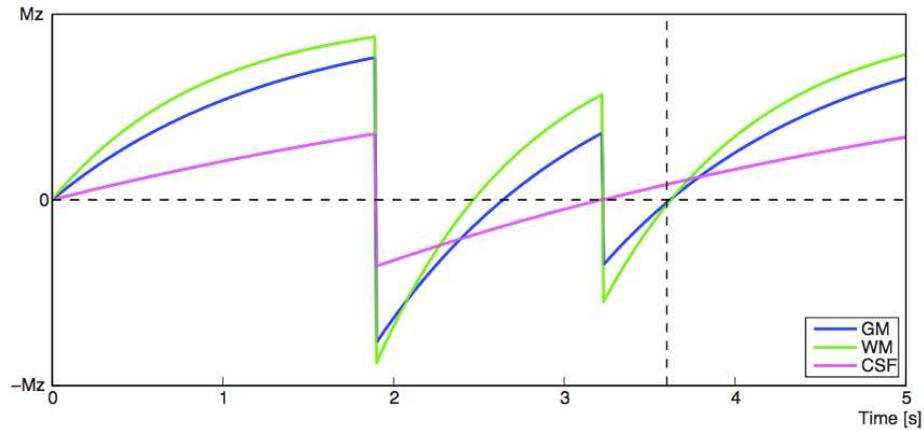


Figura 3.3: Esempio di background suppression preso da [9]. La sequenza prevede un impulso di saturazione all'inizio della fase di labeling e poi due impulsi di inversione per annullare materia grigia (curva blue) e materia bianca (curva verde). L'istante di acquisizione è rappresentato dalla linea tratteggiata verticale. Il segnale del CSF (curva viola) con questa sequenza di BS non risulta completamente soppresso.

appena esposto, con impulsi di inversione con efficienza pari al 91%, si ha un'attenuazione del 17% [36]. L'utilizzo di questa tecnica per aumentare il rapporto segnale disturbo, allora, richiede un'accurata ottimizzazione che trovi il giusto compromesso tra tempo a disposizione, numero di impulsi e attenuazione del segnale ASL che si introduce. Nel 2005 Garcia, Duhamel e Alsop ottimizzarono una sequenza di BS con quattro impulsi in grado di abbattere il segnale dei tessuti di quasi tutto l'encefalo, ma che comunque introduce un'attenuazione del segnale utile del 25% [16]. In ogni caso, quando implementabile, l'utilizzo della tecnica di soppressione dello sfondo è fortemente consigliabile [2].

Un aspetto importante su cui porre l'attenzione riguarda l'accoppiamento tra questo metodo e la tecnica di read-out scelta. Nonostante l'organizzazione a blocchi dell'esperimento, non è pensabile esista una totale indipendenza tra le varie fasi. Soprattutto la possibilità di utilizzare BS o meno risente della tecnica di read-out che si ha intenzione di utilizzare. In caso di metodiche 2D, infatti, dove l'acquisizione di ogni fetta è realizzata separatamente, i tessuti sperimentano un recupero della magnetizzazione sempre diversa lungo l'asse z e di conseguenza

non è possibile realizzare una soppressione ottima. Diversamente, in schemi di acquisizioni 3D, dove tutte le slice sono acquisite nello stesso istante di tempo e quindi non c'è recupero di magnetizzazione lungo l'asse z , la BS lavora al meglio.

A fronte di quanto detto sulla necessità di annullare il segnale degli spin statici per ridurre gli errori dovuti alle fluttuazioni fisiologiche, la reale implementazione della BS è tarata in modo da lasciare un 10% di segnale relativo ai tessuti per venire incontro alle esigenze di post-processing. Infatti, il completo annullamento di questa informazione renderebbe impossibile la correzione di un eventuale movimento del soggetto e comunque non permetterebbe di realizzare in alcun modo lo step di co-registrazione con le immagini anatomiche.

3.2.2 QUIPSS e Q2TIPS

Utilizzare un approccio pulsato piuttosto che continuo per lo step di labeling, come visto nel Paragrafo 3.1, ha un effetto diretto sul processo di quantificazione della perfusione. A differenza di quanto succede in un labeling continuo, infatti, nella PASL la lunghezza del bolo di tracciante (τ) è sconosciuta: essa dipende dalla geometria dei vasi presenti nella regione di labeling e dal profilo di velocità del flusso sanguigno all'interno di essi. Dal momento che il modello utilizzato per la quantificazione (Capitolo 4) è dipendente da τ , questo si traduce nella necessità di stimare tale parametro dai dati, che nella pratica significa acquisire forzatamente le coppie label/control a più TI. Nel 1998 Eric Wong e colleghi ha presentato una metodica per la quantificazione indipendente dalla lunghezza di bolo: *Quantitative Imaging of Perfusion Using a Single Subtraction (QUIPSS and QUIPSS II)* [35]. L'idea generale è di sfruttare il tempo compreso tra la fine del primo blocco e l'inizio del terzo per definire temporalmente il bolo e mettersi in una situazione più simile ad un approccio continuo. Le tecniche sviluppate sono due: QUIPSS e QUIPSS II.

Nella QUIPSS si applica un impulso di saturazione a tutte le fette della regione di imaging, dopo che la fase di labeling è terminata, al tempo TI_1 . Dal momento che lo stesso impulso viene applicato sia nell'immagine label che control, ogni

contributo al segnale differenza da parte del sangue marcato che arriva prima di TI_1 è certamente rimosso. Le immagini sono poi acquisite al tempo TI_2 , cioè dopo un attesa di $\Delta T = TI_2 - TI_1$ dall'impulso di saturazione, e solo il sangue marcato che entra nei tessuti in questo lasso di tempo contribuisce alla generazione del segnale differenza (pannelli a) e c) di Figura 3.4).

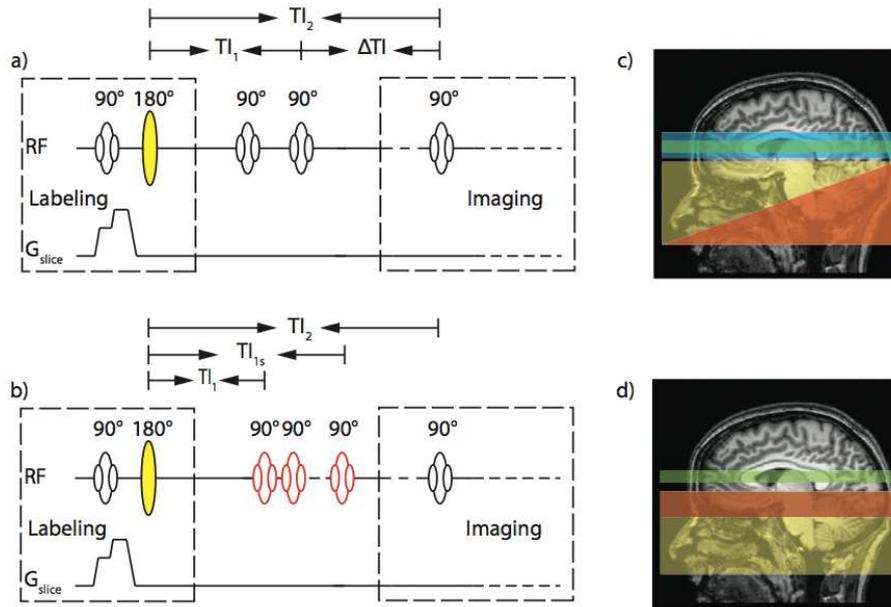


Figura 3.4: Schema QUIPSS e QUIPSS II pannelli a) e c); la banda blu rappresenta la regione di applicazione degli impulsi nella QUIPSS, mentre la banda rossa la regione nella QUIPSS II. I pannelli b) e c) mostrano lo schema della Q2TIPS dove gli impulsi di saturazione sono sostituiti da treni di impulsi periodici. Immagini presa da [9].

Perchè il sangue marcato entri nella regione di imaging durante tutto l'intervallo e la perfusione risulti indipendente da τ , TI_1 e TI_2 devono rispettare le seguenti condizioni:

$$\begin{aligned} TI_1 &> \delta t \\ TI_2 &< \delta t + \tau \end{aligned} \tag{3.5}$$

La tecnica QUIPSS II è una variante della QUIPSS. A differenza di quest'ultima

essa prevede di applicare l'impulso di saturazione alle fette della regione di labeling invece che di imaging. Di conseguenza le condizioni da rispettare perchè la quantificazione della perfusione sia indipendente dalla durata del bolo diventano:

$$\begin{aligned} TI_1 &< \tau \\ TI_2 &> TI_1 + \delta t \end{aligned} \tag{3.6}$$

Mettendo a confronto le due varianti, emerge che la QUIPSS II mette a disposizione dell'acqua marcata all'interno del sangue arteriale più tempo per distribuirsi all'interno della regione di imaging e quindi restituisce un segnale legato alla perfusione più robusto ed omogeneo. Tuttavia, le acquisizioni effettuate con l'implementazione di questa metodica sono comunque affette da errori dovuti dall'incompleta saturazione degli spin della regione di labeling e dalla definizione imperfetta delle regioni di applicazione di tutti gli impulsi. In particolare quest'ultima caratteristica fa sì che venga meno la precisione nella definizione della durata del bolo di tracciante a causa di un mancato allineamento tra i confini del volume di labeling e della regione su cui si applicano gli impulsi di saturazione.

Una tecnica chiamata Q2TIPS [25], pubblicata l'anno successivo rispetto alle due sopra esposte, permette di migliorare l'accuratezza con cui la lunghezza del bolo viene definita. In questo approccio l'originale impulso di saturazione della QUIPSS II viene sostituito da un treno di impulsi periodici applicati a sottili fette posizionate alla fine della regione di imaging (*QUIPSS II With Thin-Slice* TI_1). Lavorando in modo più fine sull'area sensibile della regione di labeling, la Q2TIPS permette di migliorare l'accuratezza con cui è definito τ e di conseguenza della misura di perfusione.

3.3 Read-out

Il terzo ed ultimo blocco di un esperimento di Arterial Spin Labeling è la fase in cui si realizza l'effettiva acquisizione delle immagini. Se i due precedenti blocchi si possono pensare come step preparatori della magnetizzazione da re-

gustare, quest'ultimo blocco trasforma il segnale in immagine e prende il nome di *read-out*. Ognuna delle metodiche utilizzabile per realizzare l'acquisizione dei volumi di interesse (*imaging region*) caratterizza sia l'esperimento stesso, variandone la durata, sia le immagini, introducendo artefatti diversi. Queste tecniche sono descritte comunemente attraverso un diagramma che fa riferimento ad un particolare spazio, k-space (*k-space*), che permette di semplificare la comprensione delle sequenze di impulsi. Si ritiene opportuno dunque, prima di presentare le tecniche più significative, recuperare i concetti chiave riguardanti la generazione dell'immagine di risonanza magnetica e la ricostruzione di questa attraverso k-space.

Generazione e ricostruzione di immagini MRI

L'applicazione del solo campo magnetico B_0 , che consente l'ordinamento degli spin dei protoni delle molecole d'acqua presenti in tutti i tessuti, non permette la ricostruzione delle immagini poichè non restituisce nessuna informazione spaziale delle molecole. Per includere nel segnale anche l'informazione spaziale è necessario utilizzare dei gradienti di campo, ossia dei campi magnetici allineati con il campo principale B_0 , ma di intensità di diversi ordini di grandezza inferiore ($m - \mu T$) e non costante nello spazio. All'interno dello spazio di acquisizione (*field of view*, FOV) ogni direzione (x,y,z) è caratterizzata dalla variazione di un gradiente lungo quella direzione. Grazie a questi campi aggiuntivi ogni posizione r del FOV conta una magnetizzazione totale data da:

$$\mathbf{B}(r) = B_0 + G_x x + G_y y + G_z z = \mathbf{B}_0 + \langle \mathbf{G}, \mathbf{r} \rangle \quad (3.7)$$

Chiaramente, anche pulsazione e fase degli spin maturano una dipendenza dalla posizione degli spin all'interno del FOV e possono essere rispettivamente descritti

come:

$$\omega(\mathbf{r}) = \omega_0 + \gamma \langle \mathbf{G}, \mathbf{r} \rangle \quad (3.8)$$

$$\phi(\mathbf{r}, t) = \gamma \int_0^t (G_x x + G_y y + G_z z) d\tau = \gamma \int_0^t \langle \mathbf{G}, \mathbf{r} \rangle d\tau \quad (3.9)$$

Grazie all'applicazione di questi gradienti è possibile quindi includere nel segnale MRI l'informazione spaziale che, dopo una demodulazione necessaria per la rimozione delle oscillazioni del segnale causate dal campo B_0 , può essere estratta attraverso un'operazione di decodifica. In particolare, l'evoluzione del segnale MR nel dominio del tempo può essere scritto come:

$$S(t) = \iiint_{-\infty}^{+\infty} \rho(\mathbf{r}) e^{i\phi(\mathbf{r}, t)} dxdydz \quad (3.10)$$

dove $\rho(\mathbf{r})$ indica la densità protonica, una quantità proporzionale al numero di spin campionati e alla magnetizzazione totale in posizione \mathbf{r} . Si definisce quindi il k-space tramite il seguente vettore $\mathbf{k}(t)$:

$$\mathbf{k}(t) = \frac{\gamma}{2\pi} \int_0^t \mathbf{G}(\mathbf{r}, \tau) d\tau \quad (3.11)$$

Conseguentemente l'eq. (3.9) può essere scritta come $\phi(\mathbf{r}, t) = 2\pi \langle \mathbf{k}(\mathbf{r}, t), \mathbf{r} \rangle$ e sostituendo questa nell'eq. (3.10), il segnale risulta:

$$S(t) = \iiint_{-\infty}^{+\infty} \rho(\mathbf{r}) e^{i2\pi \langle \mathbf{k}(\mathbf{r}, t), \mathbf{r} \rangle} dxdydz \quad (3.12)$$

$S(t)$, quindi, altro non è che la trasformata di Fourier 3D della densità protonica $\rho(\mathbf{r})$ e la funzione $\mathbf{k}(t)$, definita dall'equazione (3.11), è la variabile nel dominio

di Fourier coniugata alla variabile spaziale \mathbf{r} [5].

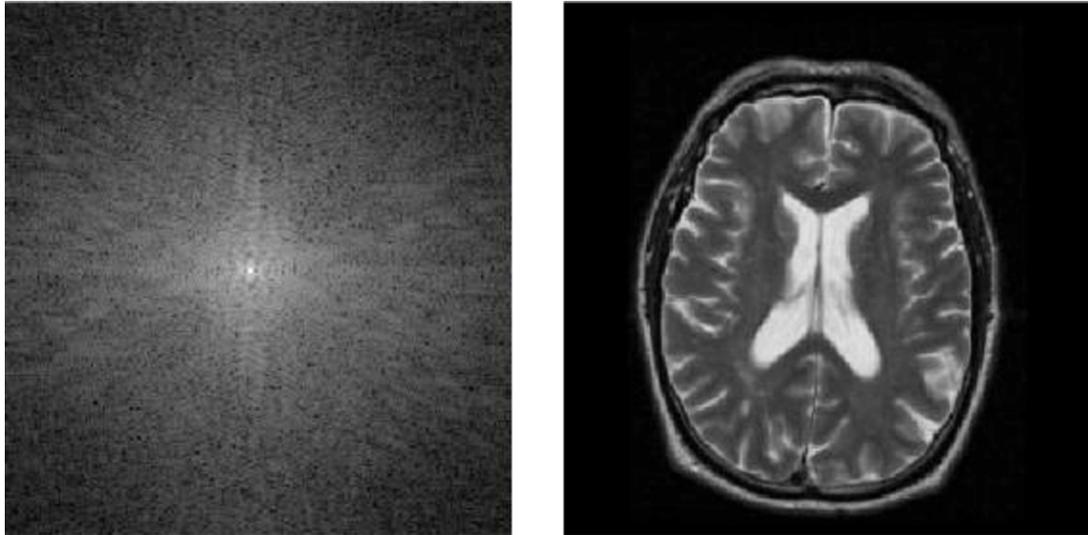


Figura 3.5: Rappresentazione trasformata di Fourier nel k -space (sinistra) e rispettiva immagine di una slice di una sequenza T1-spin echo (destra).

Una tecnica di read-out è quindi l'insieme di tutte le operazioni necessarie a leggere l'intero k -space. Il percorso seguito per leggere il k -space è definito da una serie di funzioni che prendono il nome di traiettorie (alcuni esempi sono presentati in Figura 3.6). Specificando come variano nel tempo i tre gradienti G_x , G_y , G_z e qual è la sequenza degli impulsi si descrive una traiettoria di lettura del k -space. Nel diagramma delle sequenze ci si riferisce a G_x come gradiente di codifica in frequenza o gradiente di lettura (*frequency encoding gradient*, FE), a G_y come gradiente di codifica in fase (*phase encoding gradient*, PE) ed a G_z come gradiente di selezione della slice (*slice selection gradient*, SE). Banalmente quest'ultimo è quel gradiente che permette di applicare un determinato impulso ad un specifica area del volume all'interno delle bobine (*coil*) e cioè di decidere, ad esempio, di applicare l'impulso alla sole slice facenti parte del FOV. PE e FE, invece, permettono di muoversi all'interno del k -space. Ogni traiettoria, che rappresenta una diversa strategia di acquisizione, influenza in modo diverso l'immagine che si acquisisce, introducendo artefatti specifici e modificando gli algoritmi di ricostruzione [5].

Come si può notare in Figura 3.6, infatti, la lettura del k-space può essere anche molto differente tra funzioni diverse: alcune seguono percorsi equispaziati, mentre altre, come la proiezione radiale, campionano via via in modo sempre più rado.

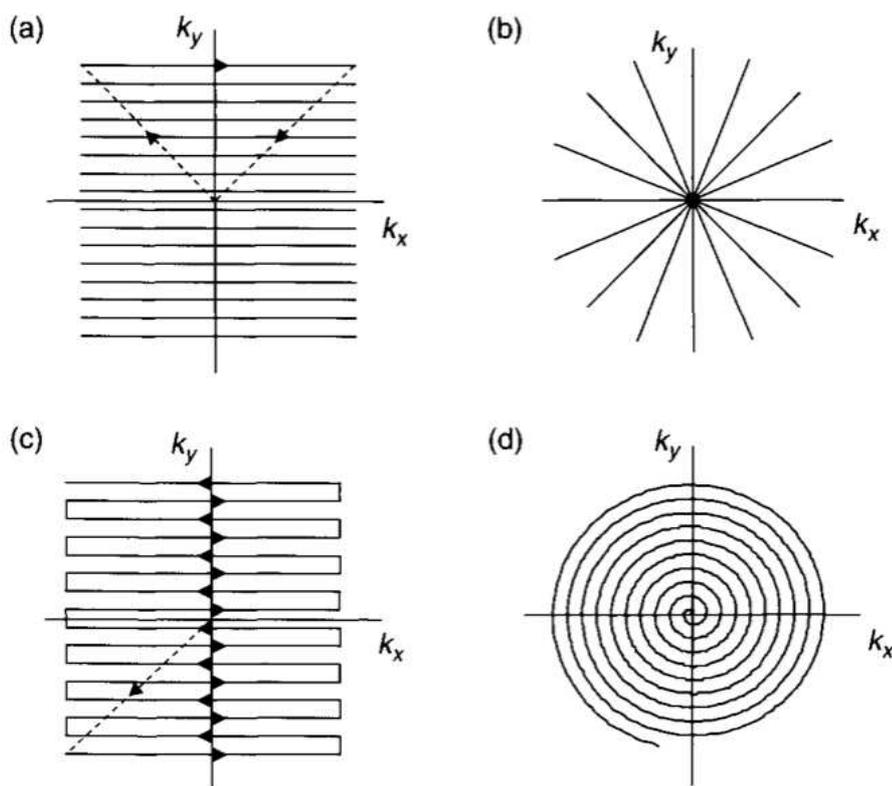


Figura 3.6: Esempi delle più comuni traiettorie usate per acquisizioni 2D. (a) Raster cartesiano, usa delle sequenze con treni di impulsi privi di eco, (b) acquisizione a proiezione radiale, (c) EPI, echo planar imaging, (d) traiettoria a spirale. Negli schemi le frecce indicano la direzione in cui viene attraversato il k-space mentre le linee tratteggiate mostrano le traiettorie di pre-fasamento o rifasamento. Figura presa da [5].

Le diverse scelte implementative vanno ad incidere fortemente su un aspetto: il tempo di acquisizione. Prendendo in considerazione un diagramma relativo all'acquisizione di un'immagine 2D (singola slice), scelta la funzione con cui si vuole leggere il relativo k-space, bisogna tenere in considerazione che con un singolo impulso è possibile leggere una o più linee del k-space. Il tempo che intercorre tra l'applicazione di un impulso e il successivo, quindi la lettura di pacchetti di

righe diverse, si chiama tempo di ripetizione (*repetition time*, TR). Il tempo di scan complessivo sarà dato dalla moltiplicazione del numero di impulsi necessari all'acquisizione dell'intera immagine per il TR e, a seconda del TR utilizzato, il tempo di scan può essere dell'ordine di diversi minuti. Durante questo intervallo di tempo è possibile conoscere la posizione di lettura nel k-space seguendo una semplice regola: la posizione nel k-space ad un preciso istante temporale è data dall'integrale dei gradienti utilizzati fino a quell'istante.

Per catturare fenomeni veloci come quello della perfusione, ancor più nella tecnica di arterial spin labeling per i motivi fin qui presentati, la caratteristica fondamentale per un approccio di read-out è la velocità, che deve essere tale da permettere la misurazione dello scambio di sangue nei capillari o sufficiente per registrare l'intera descrizione cinetica del fenomeno (come vedremo nel Capitolo 4). Nello specifico della ASL un ruolo importante è giocato anche dalla possibilità di accoppiare con successo la tecnica di read-out con la BS, dato il miglioramento che questa soluzione è in grado di portare sia alla qualità del dato, sia alle fasi di post-processing (Paragrafo 3.2.1).

3.3.1 2D Echo Planar Imaging (EPI)

La sequenza di read-out Echo Planar Imaging (EPI) è una delle più veloci sequenze di MRI ed è in grado, grazie ai moderni hardware per gradienti ed impulsi RF, di acquisire un'immagine 2D in poche decine di millisecondi [5]. Si differenzia dalle tradizionali sequenze principalmente per il modo in cui sono applicati e sfruttati i gradienti FE e PE: l'EPI, infatti, applica una serie di gradienti bipolari FE per originare un treno di echi. Un appropriato accoppiamento con un gradiente di codifica in fase, rende possibile l'acquisizione di più linee del k-space arrivando anche all'acquisizione dell'intera struttura con un unico impulso (single-shot). La sequenza EPI può essere implementata sia per acquisizioni 2D che 3D, ma maggiormente si sfrutta l'acquisizione 2D con forme d'onda dei gradienti ortogonali.

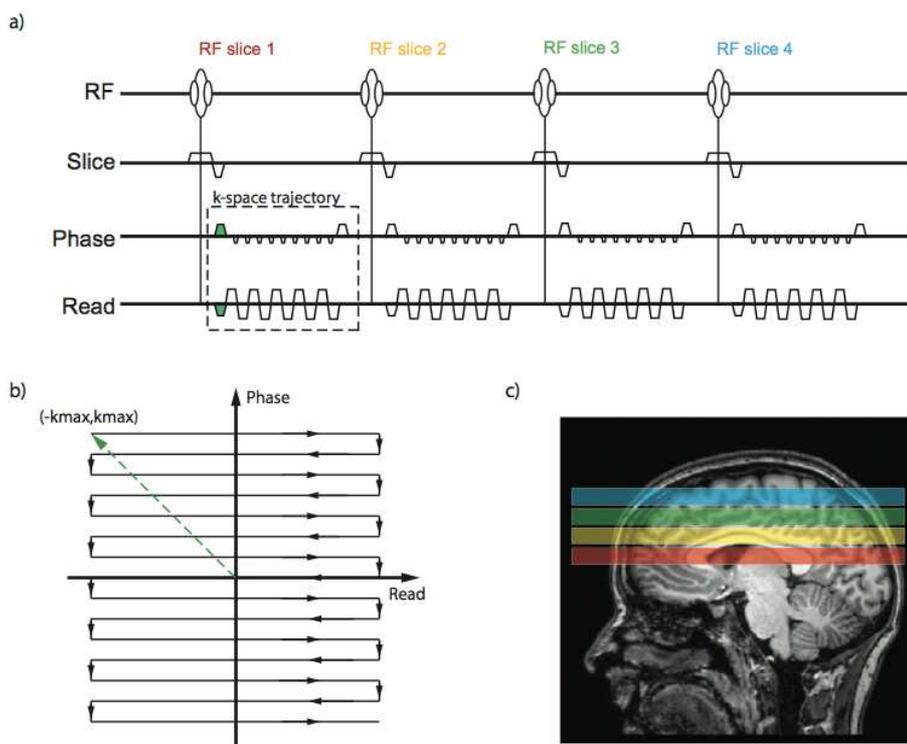


Figura 3.7: Diagramma della sequenza Echo Planar Imaging (EPI), immagine presa da [9]. A inizio sequenza il gradiente PE positivo e il gradiente FE negativo (verdi) spostano il punto di campionamento dal centro all'angolo in alto a sinistra del k-space (linea tratteggiata verde). Successivamente, i gradienti all'interno del rettangolo tratteggiato vengono ripetuti $N/2$ volte per acquisire N linee del k-space in direzioni alternate. FE: il segno del gradiente indica in che direzione viene letta la linea in cui ci si trova (positivo sinistra-destra, negativo destra sinistra). PE: piccoli gradienti, chiamati blips, permettono di spostarsi alla linea successiva.

In Figura 3.7 è riportato uno schema EPI di campionamento del k-space e la relativa traiettoria. I primi impulsi di gradiente (verdi in figura) spostano il punto di partenza del campionamento in posizione $(-k_{max}, k_{max})$ lungo gli assi FE, PE. Subito dopo, lungo FE, partono gli impulsi bipolari di gradiente che servono a spostarsi in direzione orizzontale nel k-space: lobi negativi muovono il campionamento da destra a sinistra, lobi positivi da sinistra verso destra. Di conseguenza, gli impulsi lungo PE permettono di muoversi in verticale e quindi di passare da una linea all'altra (in Figura 3.7 verso il basso). Questi sono impulsi molto caratteristici, di piccola ampiezza, chiamati blips. Questa serie di impulsi

(PE e FE) devono essere applicati $\frac{N}{2}$ volte per acquisire N linee del k-space, ma, per acquisizioni single-shot, l'intero spazio deve essere acquisito prima di un eccessivo decadimento T_2^* . Per confinare l'acquisizione in una finestra temporale più corta di T_2^* e mantenere una buona risoluzione spaziale (acquisire un gran numero di linee nel k-space), occorrono forti gradienti e la capacità di operare rapidi cambi. Come mostra la Figura 3.7, la sequenza appena descritta va ripetuta per ognuna delle slice che si vuole acquisire e per ogni slice va applicato un impulso RF.

I principali problemi della sequenza EPI derivano dall'inomogeneità dei campi magnetici, sia statici che di gradiente, che si traducono in perdite di segnale e distorsioni geometriche. Un esempio di queste distorsioni è il ghosting lungo la direzione PE, causato sia da imperfezioni dei sistemi, sia da fenomeni fisici (correnti parassite, risposta asimmetrica del filtro anti-aliasing, campi magneti concomitanti, isteresi, ect.).

3.3.2 3D Gradient e Spin Echo (GRASE)

La sequenza Gradient e Spin Echo (GRASE), presentata nel 1991 da Oshio e Feinberg [27], utilizza un treno di impulsi RF di rifocalizzazione ognuno dei quali è accoppiato con una serie di lobi di gradiente, di polarità alternata, lungo la direzione FE. La 3D-GRASE (Figura 3.8) è un recente variante dell'originale che permette una veloce acquisizione 3D con l'utilizzo di un unico impulso di eccitazione [18].

Questo schema consiste nell'acquisizione di una partizione con ogni impulso RF di rifocalizzazione (180° in Figura 3.8), sfruttando una strategia 2D EPI. In generale negli approcci 3D ogni partizione coincide con una slice, ma spesso si utilizzano strategie che sfruttano la sovrapposizione parziale delle partizioni e, quindi, ogni fetta è il risultato dell'eccitazione di diverse partizioni. Per ottenere il massimo contrasto possibile, il centro del k-space di ogni partizione è campionato al verificarsi dell'impulso di spin echo; in questo modo si acquisiscono con segnale massimo le frequenze che contengono il contrasto più alto. Uno schema di ordi-

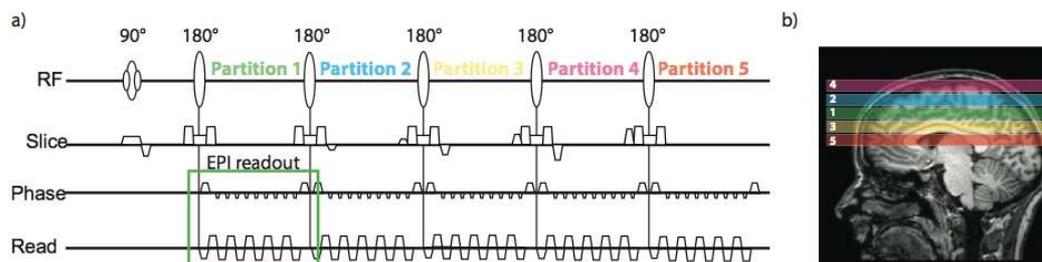


Figura 3.8: Diagramma delle sequenze dello schema di acquisizione di una 3D-GRASE single-shot [18], immagine presa da [9]. Dopo ogni impulso di rifocalizzazione (180°) viene acquisita una nuova partizione, seguendo un schema interleaved, e preparata una nuova partizione del k -space. Ogni partizione è acquisita con uno schema EPI, come mostrano i gradienti contenuti nel box verde.

namento delle partizioni frequentemente utilizzato è quello che prevede di partire acquisendo la partizione centrale del k -space e poi di muoversi alternativamente verso il basso e verso l'altro (interleaved, Figura 3.8 b).

Il successo della 3D GRASE risiede, a differenza della tecnica 2D EPI presentata nella precedente sezione, nel perfetto accoppiamento che si riesce ad ottenere tra questa metodica e la tecnica di soppressione dei tessuti. Questo aspetto, che rappresenta ovviamente il più grande vantaggio della tecnica, è dovuto al fatto che l'intero volume del FOV è acquisito sotto un solo impulso di eccitazione (90° in Figura 3.8) e quindi l'intero volume condivide la stessa preparazione della magnetizzazione. Utilizzando al suo interno una 2D EPI, la 3D GRASE soffre di alcuni problemi tipici della EPI: uno tra i più evidenti è il ghosting lungo la direzione PE. Nonostante questo, l'aspetto più limitante della tecnica consiste nella presenza di un forte blurring (sfocatura) lungo l'asse z dell'immagine (z -blurring). Questa sfocatura attraverso i piani è dovuta al decadimento T_2 che si verifica durante l'applicazione del lungo treno di impulsi di rifocalizzazione. L'artefatto che ne consegue ha un'importante entità (come si può apprezzare in Figura 3.9) ed è per questo auspicabile ricorrere a metodiche specifiche che ne possano ridurre l'ampiezza. Per ridurre questo artefatto si possono utilizzare tecniche sviluppate a partire da due punti di vista: di acquisizione e di post-processing.

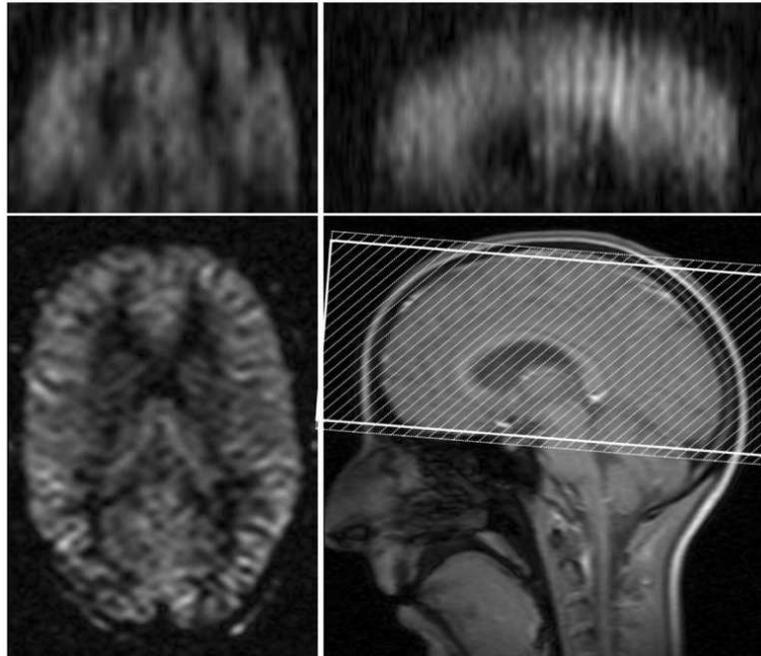


Figura 3.9: Esempio di acquisizione con schema di read-out 3D GRASE. Si può notare il *z-blurring* sui piani coronali e sagittali, rispettivamente nei riquadri in alto a sinistra e in alto a destra. Immagine presa da [18].

Le prime intervengono direttamente sulla sequenza di acquisizione, generalmente, segmentando lo schema di read-out e quindi riducendo il decadimento T_2 , ma aumentando il tempo di acquisizione [4], oppure modificando le traiettorie [31]. Le seconde, invece, stimano la point-spread-function del segnale per applicare algoritmi di deconvoluzione [6]. La soluzione migliore è sempre quella di combinare i due approcci per ottenere la maggior riduzione possibile dell'effetto.

Capitolo 4

Quantificazione dati ASL: modello di Buxton

4.1 Il segnale di Arterial Spin Labeling

Le immagini differenza risultanti dall'esperimento di Arterial Spin Labeling, come sempre in risonanza, sono immagini in cui l'unità base, ossia l'elemento volumetrico più piccolo dell'immagine, è il voxel. Il valore assunto da ogni voxel in queste immagini rappresenta il flusso di sangue misurato durante l'acquisizione. Denotando questo valore con ΔM , si possono distinguere due tipi di contributi a tale segnale:

- ΔM^{fis} : contributo dovuto al comportamento fisiologico del sangue marcato (tracciante) che emerge nell'immagine differenza;
- $\Delta M^{non-fis}$: tutti gli altri contributi al segnale non legati al funzionamento fisiologico del cervello. Principalmente si tratta di effetti derivanti da errori di sottrazione, ossia errori dovuti alla presenza di una discrepanza inaspettata tra le due immagini. Alcuni esempi tipici sono la presenza di artefatti di MT o di off resonance differenti tra label e control o la presenza di movimento tra le due acquisizioni (problematiche presentate nel paragrafo 2.2).

Il segnale ASL può quindi essere pensato come la somma di questi contributi:

$$\Delta M = \Delta M^{fis} + \Delta M^{non-fis}$$

L'assunzione principale di tutti i metodi di quantificazione è che la sottrazione tra label e control sia idealmente perfetta e conseguentemente che i contributi dovuti agli errori di sottrazione siano nulli. Per questo motivo tutti i modelli per la quantificazione, che descrivono come cinetica e rilassamento si combinino insieme nel dato ASL, sono sviluppati per estrarre parametri dal significato fisiologico ben definito. Ciò non toglie che ogni potenziale sorgente di segnale della componente $\Delta M^{non-fis}$ debba essere prevenuta o ridotta con tecniche accurate o, dove possibile, adeguatamente conteggiata attraverso modelli matematici specifici (in pre-processing) per stare in una situazione il più aderente possibile all'ipotesi fatta.

L'ipotesi di contributi non fisiologici nulli ($\Delta M^{non-fis} = 0$) implica che il segnale di ASL sia da considerarsi solamente proporzionale alla differenza di magnetizzazione longitudinale nei tessuti, dovuta alla presenza del sangue marcato trasportato dal flusso e ancora presente all'interno di essi al momento dell'acquisizione. Questa ipotesi coincide con l'assunzione fondamentale su cui si basa la tecnica stessa, come spiegato nel Capitolo 2, secondo cui la magnetizzazione degli spin statici è assunta invariata nelle due immagini e quindi non compare nell'immagine pesata in perfusione.

Se è vero che l'immagine differenza rispecchia direttamente la perfusione dei tessuti, è altrettanto vero che dipende da un altro buon numero di fattori, non legati direttamente alla perfusione, ma dipendenti dal modo in cui tale quantità è misurata. Il passaggio del tracciante all'interno dei grandi vasi che non perfondono i tessuti attraverso cui passano e la distanza tra regione di labeling e imaging che dipende dal posizionamento di ogni singolo voxel ne sono due esempi. Il segnale differenza, allora, è meglio definito come:

$$\Delta M = \Delta M(t, f, T_{1t}, T_{1b}, \alpha, \delta t, \tau, M_{0b}, \dots) \quad (4.1)$$

Per poter giungere alla determinazione di valori di perfusione in scala assoluta è necessario, all'interno del modello scelto, tener conto di tutti questi fattori e di altri parametri detti parametri di calibrazione: una misura quantitativa di CBF, infatti, è raggiungibile solo se si possono misurare, o considerare note, le misure dell'efficienza di inversione e della magnetizzazione all'equilibrio del sangue arteriale. I parametri fondamentali per la quantificazione del segnale ASL sono contenuti in Tabella 4.1.

parametri	descrizione	unità
CBF	cerebral blood flow (perfusione)	$\frac{mL}{100g\ min}$
Δt	tempo di arrivo	s
τ	durata del bolo	s
T_{1t}	tempo di rilassamento longitudinale dei tessuti	s
T_{1b}	tempo di rilassamento longitudinale del sangue	s
α	efficienza di inversione	adim.
α_{LL}	flip angle dello schema di read-out	rad
λ	coefficiente partizione sangue-tessuti	$\frac{mL}{g}$
M_{0t}	magnetizzazione all'equilibrio dei tessuti	adim.
M_{0b}	magnetizzazione all'equilibrio del sangue	adim.

Tabella 4.1: Parametri del segnale differenza di immagini ASL

Un ulteriore parametro che influisce molto sulla quantificazione è costituito dalla strategia scelta per il campionamento del processo di interesse dopo la fase di labeling. Un esperimento ASL, infatti, può essere impostato in modo da campionare il processo di perfusione in un unico istante temporale oppure in molteplici istanti. In entrambi i casi il tempo di campionamento è genericamente definito come tempo globale t , con l'assunzione che questo sia il tempo che intercorre tra l'istante di inizio del labeling e l'acquisizione del segnale MRI. A seconda che lo

schema scelto sia a singolo o a multipli istanti di campionamento si parla, per esempio in ambito pulsato, di esperimento *single-TI* o *multi-TI*.

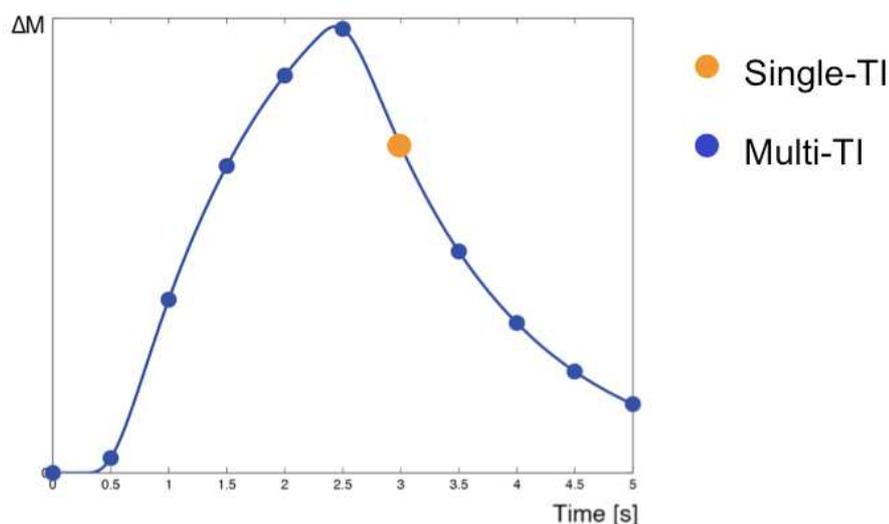


Figura 4.1: Esempi e confronto di campionamento: *single* (cerchio arancione) e *multi TI* (cerchi blu). Da questo confronto emerge immediatamente la capacità di una strategia *multi-TI* di seguire e registrare tutto l'andamento del segnale, a differenza della *single-TI* che registra un valore puntuale dal quale non si può ricavare nessuna informazione aggiuntiva.

4.1.1 Tempo di arrivo e campionamento: singolo verso multiplo TI

Rispetto ai parametri riportati in Tabella 4.1, il tempo di arrivo Δt ricopre un ruolo di grande importanza. Questo parametro esprime il tempo necessario al sangue marcato per coprire la distanza presente tra la posizione di labeling (un piano per il labeling continuo, un volume per il labeling pulsato) e la regione di imaging. Noto anche come *arterial arrival time* AAT, *bolus arrival time* BAT e *arterial transit time*, è dunque il tempo che impegna il bolo per raggiungere la regione di imaging dopo la marcatura. Risulta immediato aspettarsi che esso dipenda da come è stato disegnato l'esperimento ed in particolare dalla distanza posta tra le due regioni. Δt , però, è anche estremamente variabile all'interno del

cervello, ad esempio sensibili differenze si osservano tra i voxel appartenenti ai lobi occipitali e frontali o parietali o temporali. Questa fonte di variabilità è assolutamente indipendente dalla costruzione dell'acquisizione, bensì è l'effetto dei differenti percorsi che le molecole marcate devono seguire per raggiungere voxel in località differenti dell'encefalo. Riferendosi ai lobi occipitali e parietali, è probabile che la differenza sia dovuta alla distanza che, rispettivamente, l'arteria cerebrale posteriore e media percorrono parallelamente al piano. Questo ragionamento si estende a tutta la rete di arterie e arteriole, che possiede una geometria molto complessa, e rende Δt un parametro molto variabile, dal momento che molecole di sangue che irrorano zone diverse del cervello seguono strade di lunghezza e velocità diverse. Tale dipendenza dalla struttura vascolare dell'organo in esame, d'altro canto, può rappresentare anche un vantaggio: infatti Δt può dire qualcosa sullo stato di salute dei vasi. Risulta ormai risaputo che alcune condizioni patologiche causano un rallentamento del flusso sanguigno con conseguente aumento del tempo di arrivo. Se l'esperimento ASL è costruito in modo appropriato, Δt permette di discriminare tra ipoperfusioni dovute da stati patologici che colpiscono anche i vasi cerebrali oppure da artefatti causati da un ritardo di arrivo del sangue marcato (ad esempio con l'avanzare dell'età di un soggetto il tempo di arrivo si allunga).

La possibilità o meno di calcolare e quindi valutare Δt dipende, come anticipato, dal disegno dell'esperimento ed in particolare dal tipo di campionamento scelto. L'approccio tipico per un esperimento ASL è a singolo TI. L'intrinseca variabilità locale del tempo di arrivo, però, rende particolarmente problematico quantificare con accuratezza il valore della perfusione. Infatti, in queste condizioni non è possibile estrarre nessuna informazione su Δt che va fissato a priori. Un errato valore di quest'ultimo può causare non solo una sottostima del CBF in generale (Figura 4.2), ma anche delle differenze a livello di perfusione tra regioni diverse (per quanto presentato sopra).

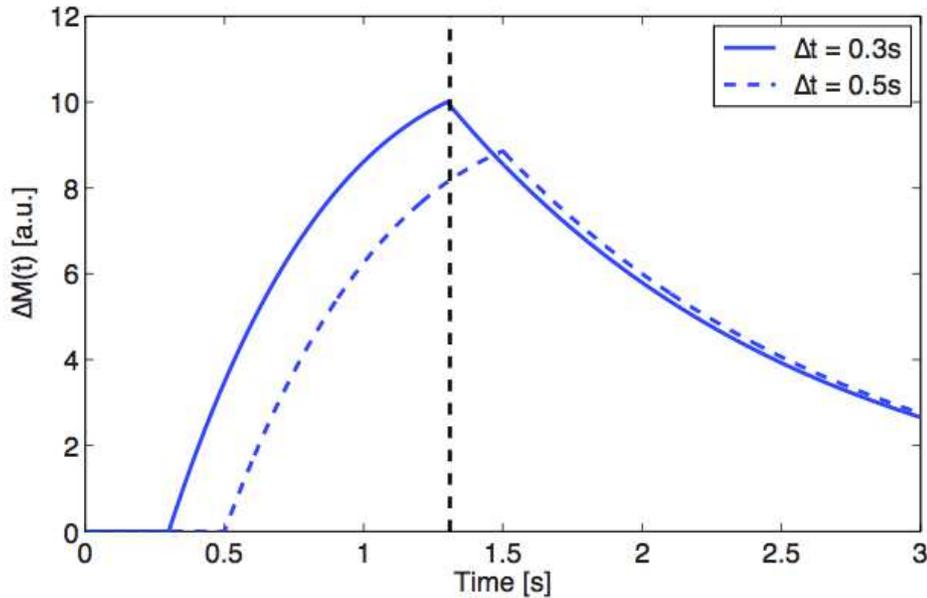


Figura 4.2: Esempio di due voxel con stessa perfusione ma con tempi di arrivo diversi. Misurati con un esperimento single-TI, con TI corto (linea tratteggiata verticale), il voxel con Δt più lungo (linea tratteggiata blu) risulterebbe con una perfusione più bassa rispetto all'altro.

Per ridurre la dipendenza del segnale ASL dal tempo di arrivo sono state presentate diverse tecniche ([1], [35]), nelle quali l'idea di base è di posticipare il TI sufficientemente da tener conto del possibile Δt allungato. Tuttavia, questo approccio ha due considerevoli limitazioni:

- valori inaspettatamente lunghi di Δt , come può accadere in stati patologici, rendono comunque inefficace questo artificio;
- tempi di campionamento (TI) eccessivamente lunghi portano, soprattutto per sequenze PASL, ad una degradazione tale del SNR del segnale dell'immagine differenza, da rendere inutilizzabile il dato.

Il problema legato alla variabilità del tempo di arrivo del bolo può essere superato adottando un campionamento multi-TI, ossia acquisendo il segnale in più istanti temporali (si parla di dati ASL dinamici). Un strategia multi-TI permette di stimare Δt dai dati, rendendo la stima del CBF indipendente da questo parametro e restituisce una mappa dell'AAT che costituisce un nuovo risultato

utilizzabile per valutare stati patologici che colpiscono il letto vascolare. Questo approccio consente di valutare e accedere ad altri dati e parametri importantissimi sia dal punto di vista fisiologico che modellistico. La maggior quantità di informazioni che porta un campionamento multiplo va, tuttavia, a discapito del tempo di acquisizione dell'intero esame.

4.2 Quantificazione della perfusione

Arrivare ad una misura quantitativa del CBF a partire da dati ASL dinamici, richiede un modello dettagliato del processo che combini cinetica e rilassamento del segnale. L'approccio standard alla modellizzazione del segnale ASL consiste nell'utilizzo di un modello generale della cinetica del tracciante. In particolare, ΔM viene considerato come la frazione di concentrazione originale di bolo di tracciante che è ancora presente al momento della misurazione. Il bolo di sangue marcato prodotto dal processo di labeling viene considerato come un il bolo di un tracciante generico che è trasportato ai tessuti dal flusso arteriale e portato via dal flusso venoso. L'esperimento è descritto come un sistema lineare nel quale: l'input è la concentrazione arteriale di tracciante, l'output è il segnale misurato e la risposta impulsiva comprende tutti i fenomeni coinvolti in trasporto e assorbimento.

Questo modello deriva direttamente dalla teoria della cinetica dei traccianti, dottrina che si occupa della descrizione matematica della dinamica di qualsiasi tracciante all'interno dei tessuti. Nel contesto dell'arterial spin labeling, tuttavia, è necessario apportare alcune modifiche alla teoria generale per adattarla al particolare tipo di tracciante utilizzato. Quest'ultimo è costituito da molecole di acqua contenute nel sangue arteriale e appositamente marcate che viene misurato non in termini di concentrazione, ma in termini di quantità di magnetizzazione. La magnetizzazione misurata all'interno di un voxel in un determinato istante di tempo t , oltre ad essere dipendente dalla storia di trasporto ad opera del flusso arteriale e di estrazione ad opera del flusso venoso, è dipendente anche dal rilas-

samento longitudinale, diversamente dai tradizioni traccianti per RMN (come il gadolinio) [7]. Il segnale misurato al tempo t sarà allora dato dalla magnetizzazione totale trasportata all'interno dei voxel dal sangue arteriale e ancora presente nel momento della misura. I diversi processi fisici appena presentati possono essere descritti definendo tre funzioni del tempo che prendono il nome di funzioni della cinetica del modello:

- **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 spiega la maggior parte dei dettagli di distribuzione e cinetica del tracciante;
- **funzione di rilassamento della magnetizzazione** $m(t, t')$ (*magnetization relaxation function*): frazione di magnetizzazione longitudinale originale delle molecole marcate arrivata al tempo t' e rimasta al tempo t . Questa funzione giustifica l'altro modo in cui la magnetizzazione lascia il voxel oltre alla flusso venoso.

Se nell'intervallo $t - t'$ lo stato fisiologico dei tessuti non cambia, $r(t, t')$ e $m(t, t')$ che sono funzione dell'intervallo, posso essere annotate come $r(t)$ e $m(t)$, dove t indica la differenza tra i due istanti temporali.

Considerando le funzioni appena definite, la quantità di magnetizzazione trasportata in un particolare voxel tra il tempo t' e $t' + dt'$ è $2\alpha M_{0b} f c(t') dt'$, dove f è il CBF (espresso in unità di $\frac{ml}{ml s}$). Il fattore $2\alpha M_{0b}$ rappresenta la differenza di magnetizzazione arteriale dopo la fase di labeling. La frazione di magnetizzazione che resiste fino all'istante t , invece, è data da $r(t, t') \cdot m(t, t')$. La quantità di magnetizzazione all'interno del voxel al tempo t , $\Delta M(t)$, è data dalla somma di tutti i contributi di magnetizzazione che arrivano al voxel fino a quell'istante,

pesati per la probabilità che questi siano ancora in quel voxel, che si traduce, date le definizioni appena viste, nella seguente formulazione matematica:

$$\begin{aligned}
 \Delta M(t) &= 2\alpha M_{0b} f \int_0^t c(t') r(t-t') m(t-t') dt' \\
 &= 2\alpha M_{0b} f \{c(t) * [r(t)m(t)]\} \\
 &= fQ(t)
 \end{aligned}
 \tag{4.2}$$

L'ultima forma esplicita la naturale dipendenza del segnale ASL dalla perfusione, enfatizzandone il ruolo centrale. La funzione $Q(t)$, invece, può essere pensata come un fattore di calibrazione che converte la perfusione locale in un differenza di magnetizzazione e controlla, di fatto, il SNR dell'esperimento: per valori crescenti di $Q(t)$ la stessa perfusione f produce $\Delta M(t)$ via via più alti.

In conclusione, il modello generale per ASL basato sulla cinetica dei traccianti, attraverso le diverse forme che posso assumere la delivery function $c(t)$, la residue function $r(t)$ e la magnetization decay function $m(t)$, permette di tenere conto e quantificare i fenomeni di ritardo di arrivo del tracciante, decadimento della magnetizzazione, processo di scambio tra vasi e tessuti dell'acqua marcata, estrazione venosa e differenze tra gli schemi di labeling.

4.3 Standard in ASL: modello di Buxton

Lo standard in arterial spin labeling è un modello della cinetica del tracciante denominato modello di Buxton [8], dal suo ideatore. Il modello si basa su tre assunzioni chiave che corrispondono a tre forme particolari delle funzioni $c(t)$, $r(t)$ e $m(t)$:

1. L'arrivo del sangue marcato in un particolare voxel avviene attraverso un flusso a spinta uniforme (*uniform plug flow*). 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. Questa finestra è

definita da due parametri: il ritardo di arrivo Δt e la durata del bolo τ (entrambi presentati in precedenza). Questi due parametri definiscono quando il processo di perfusione diventa rilevabile attraverso un esperimento ASL, quindi essi sono direttamente correlati allo stato fisiologico dei tessuti, ma anche dipendenti dal tipo di schema di labeling scelto. L'ipotesi di flusso a spinta uniforme significa che $c(t)$ è diverso da zero solo nell'intervallo $\Delta t < t < \Delta t + \tau$, dove in caso di labeling continuo è $c(t) = e^{-\frac{\Delta t}{T_{1b}}}$ e di labeling pulsato $c(t) = e^{-\frac{t}{T_{1b}}}$;

2. La cinetica dello scambio d'acqua tra tessuti e sangue è descritta da un singolo compartimento (Figura 4.3): indipendentemente dal numero di scomparti che possono esistere all'interno del tessuto, il processo di scambio di acqua con questi è così rapido che i loro rapporti di concentrazione restano costanti anche se la concentrazione totale nel tessuto è funzione del tempo. Questo significa che, una volta corrette per il differente contenuto di acqua tra sangue e tessuto, la concentrazione tessutale, $\Delta M(t)$, e quella venosa, $m_v(t)$, sono uguali. Questa seconda assunzione si traduce matematicamente nella seguente forma della funzione residuo: $f(t) = e^{-\frac{t}{\lambda}}$;

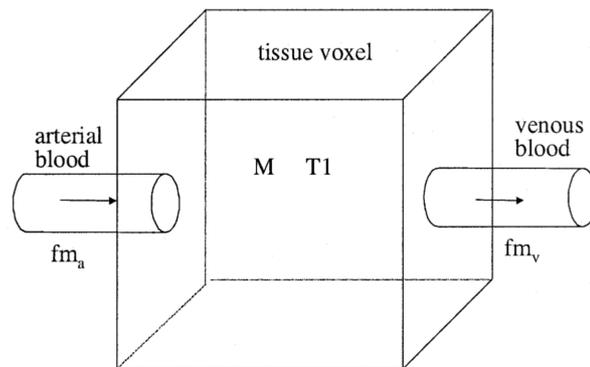


Figura 4.3: Diagramma schematico del modello monocompartimentale. Immagine presa da [30].

3. Non appena le molecole marcate di acqua raggiungono il voxel tessutale, la loro magnetizzazione diminuisce secondo il tempo di rilassamento T_{1t} del tessuto. Questo significa che, immediatamente dopo essere arrivata nei tessuti, l'acqua viene completamente estratta dallo spazio vascolare. Matematicamente ha effetto sulla funzione di rilassamento della magnetizzazione che diventa: $m(t) = e^{-\frac{t}{T_{1t}}}$.

Riassumendo, il modello standard in ASL è descritto da:

$$\begin{aligned}
 c(t) &= \begin{cases} 0 & t \leq \Delta t \\ e^{-\frac{t}{T_{1b}}} \text{ (pulsato)} / e^{-\frac{\Delta t}{T_{1b}}} \text{ (continuo)} & \Delta t \leq t \leq \Delta t + \tau \\ 0 & \Delta t + \tau \leq t \end{cases} & (4.3) \\
 r(t) &= e^{-\frac{f}{\lambda}t} \\
 m(t) &= e^{-\frac{t}{T_{1t}}}
 \end{aligned}$$

Definendo la magnetizzazione arteriale nell'immagine differenza come $\Delta m_a(t) = 2\alpha M_{0b}c(t)$ e usando le forme esponenziali della 4.3 per $r(t)$ e $m(t)$, è possibile dimostrare che le equazioni del modello di Buxton portano allo stesso modello ottenibile con la teoria dei sistemi compartimentali. La differenza di magnetizzazione misurata in un voxel può essere scritta come:

$$\Delta M(t) = f \int_0^t \Delta m_a(t') r(t-t') m(t-t') dt' \quad (4.4)$$

dove $r(t)$ e $m(t)$ possono essere così scomposti:

$$\begin{aligned}
 r(t) &= e^{-\frac{f}{\lambda}(t-t')} = e^{-\frac{f}{\lambda}t} e^{-\frac{f}{\lambda}(-t')} = r(t)r(-t') \\
 m(t) &= e^{-\frac{f}{T_{1t}}(t-t')} = e^{-\frac{f}{T_{1t}}t} e^{-\frac{f}{T_{1t}}(-t')} = m(t)m(-t')
 \end{aligned}$$

Sostituendo queste nell'equazione 4.4 si ottiene:

$$\Delta M(t) = fr(t)m(t) \int_0^t \Delta m_a(t')r(-t')m(-t')dt' \quad (4.5)$$

Ora differenziando entrambi i membri dell'equazione e ricordando che le forme esponenziali descritte nella 4.3 implicano che $r(t)r(-t) = 1$ e $m(t)m(-t) = 1$, si arriva a:

$$\begin{aligned} \frac{d\Delta M(t)}{dt} &= -f\left(\frac{f}{\lambda} + \frac{1}{T_{1t}}\right)r(t)m(t) \int_0^t \Delta m_a(t')r(-t')m(-t')dt' + \dots \\ &\quad \dots + fr(t)m(t)\Delta m_a(t)r(-t)m(-t) \\ &= -\left(\frac{f}{\lambda} + \frac{1}{T_{1t}}\right)\Delta M(t) + f\Delta m_a(t) \\ &= -\frac{1}{T_{1,app}}\Delta M(t) + f\Delta m_a(t) \end{aligned} \quad (4.6)$$

Questa dimostrazione evidenzia il fatto che assumere la funzione residuo come $r(t) = e^{-\frac{f}{\lambda}t}$ è equivalente ad assumere la differenza di magnetizzazione venosa $\Delta m_v(t) = \frac{\Delta M(t)}{\lambda}$, che implica che lo scambio di acqua che avviene attraverso la parete capillare è tanto rapida che il rapporto tra la concentrazione di acqua nel sangue venoso e nel tessuto sia costante nel tempo e uguale a λ . Inoltre, assumere che il decadimento della magnetizzazione sia governato solo dalla costante di rilassamento dei tessuti, $m(t) = e^{-\frac{t}{T_{1t}}}$, rende possibile modellizzare il segnale differenza $\Delta M(t)$ con un solo compartimento.

4.3.1 Equazioni del modello

Un'espressione esplicita per il calcolo del modello della differenza di magnetizzazione $\Delta M(t)$ può essere estratto risolvendo analiticamente l'integrale di convoluzione della 4.2 definendo le funzioni $c(t)$, $r(t)$ e $m(t)$ come nella 4.3. L'estrema flessibilità dell'approccio con la teoria della cinetica generale dei traccianti permette, sotto le condizioni standard, di modificare le espressioni delle funzioni della ci-

netica (4.3) senza alterare la struttura del modello. Nonostante in linea teoria sia possibile modellare qualsiasi effetto fisiologico attraverso le tre funzioni cinetiche del modello, una soluzione analitica è possibile solamente in casi semplici. Tuttavia l'espressione per il modello può essere ottenuta per via numerica ([8], [21]).

Nella successiva sezione verrà presentata l'espressione ottenute per via analitica nel caso di labeling pulsato. Per semplificare la visualizzazione verranno utilizzate le sengue notazioni:

$$R_{1t} = \frac{1}{T_{1t}} \Big| R_{1b} = \frac{1}{T_{1b}} \Big| R_{1,app} = \frac{1}{T_{1,app}} = R_{1t} + \frac{f}{\lambda} \Big| \delta R = R_{1b} - R_{1,app} \quad (4.7)$$

4.3.1.1 Pulsed ASL

Le tre funzioni della cinetica per il modello standard nel caso di labeling pulsato (richiamo equazione 4.3)

$$c(t) = \begin{cases} 0 & t \leq \Delta t \\ e^{-\frac{t}{T_{1b}}} & \Delta t \leq t \leq \Delta t + \tau \\ 0 & \Delta t + \tau \leq t \end{cases} \quad r(t) = e^{-\frac{t}{\lambda}} \quad m(t) = e^{-\frac{t}{T_{1t}}}$$

copiate nell'integrale di convoluzione danno

$$\Delta M(t) = \begin{cases} 0 & t \leq \Delta t \\ 2\alpha M_{0b} f \int_{\Delta t}^t e^{-\frac{1}{T_{1b}}t' - (\frac{f}{\lambda} + \frac{1}{T_{1t}})(t-t')} dt' & \Delta t \leq t \leq \Delta t + \tau \\ 2\alpha M_{0b} f \int_{\Delta t}^{\Delta t + \tau} e^{-\frac{1}{T_{1b}}t' - (\frac{f}{\lambda} + \frac{1}{T_{1t}})(t-t')} dt' & \Delta t + \tau \leq t \end{cases} \quad (4.8)$$

Risolvendo per via analitica l'integrale di convoluzione si arriva alla seguente

espressione del modello di Buxton:

$$\Delta M(t) = \begin{cases} 0 & t \leq \Delta t \\ 2\alpha M_{0b} f \frac{1}{\delta R} e^{-R_{1b}t} (e^{-\delta R(t-\Delta t)} - 1) & \Delta t \leq t \leq \Delta t + \tau \\ 2\alpha M_{0b} f \frac{1}{\delta R} e^{-R_{1b}t} e^{\delta R(t-\Delta t)} (1 - e^{-\delta R\tau}) & \Delta t + \tau \leq t \end{cases} \quad (4.9)$$

4.3.2 Limitazioni del modello

Il modello standard per l'arteriale spin labeling ha il suo principale punto debole nell'eccessiva semplificazione che adotta nella descrizione dello scambio di sangue tra vasi e tessuti, a partire dall'ipotesi che considera ogni voxel come un singolo compartimento perfettamente mescolato (well-mixed). Tutte le assunzioni che portano alla definizione del modello di Buxton presentato è possibile ritrovarle nelle funzione della cinetica 4.3. Una descrizione più realistica del processo di perfusione può essere ottenuta tenendo in considerazione fenomeni come la limitata permeabilità all'acqua dei capillari, che implica che dal sangue che transita attraverso i capillari non venga estratta tutta l'acqua, o il fatto che lo scambio della stessa tra sangue e tessuti non sia immediato, bensì richieda un intervallo di tempo per l'entrata del sangue nel voxel. Nonostante in linea di principio la modellizzazione di questi fenomeni possa essere effettuata anche sul modello generale della cinetica attraverso adeguate forme della funzioni $r(t)$ e $m(t)$, la letteratura riporta principalmente studi che introducono l'uso di modelli pluricompartimentali [30] (Figura 4.4).

Un discorso diverso si può fare invece per $c(t)$. Ipotesi sulla forma di questa funzione cinetica diverse da quelle fatte, possono essere introdotte senza dover modificare la struttura a singolo compartimento che contraddistingue il modello standard e senza dover rinunciare ad una soluzione analitica per $\Delta M(t)$. Le assunzioni fatte nel modello standard (improvviso ed immediato arrivo del sangue marcato), si traducono in una funzione $c(t)$ a forma di *rect*. Come esposto nel paragrafo 4.1.1, nella realtà le molecole di acqua 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 una forma più "dolce" (*smooth*) che tenga conto della natura statistica del tempo di arrivo. Questa modifica è ottenibile introducendo una funzione $k(t)$ che prende il nome di kernel di dispersione [21]. Introducendo anche la funzione

$$w(t) = \begin{cases} 0 & t \leq \Delta t \\ 1 & \Delta t \leq t \leq \Delta t + \tau \\ 0 & \Delta t + \tau \leq t \end{cases}$$

la funzione di ingresso può essere riscritta come

$$\begin{aligned} c(t) &= e^{-\frac{\Delta t}{T_{1b}}} [w(t) \otimes k(t)] && \text{pCASL} \\ c(t) &= e^{-\frac{t}{T_{1b}}} [w(t) \otimes k(t)] && \text{PASL} \end{aligned} \quad (4.10)$$

Nel 2004 Hrabe e Lewis ([21]) presentarono la soluzione analitica dell'interale di convoluzione della 4.2 utilizzando due kernel di dispersione: uniforme e gaussiano (Figura 4.5).

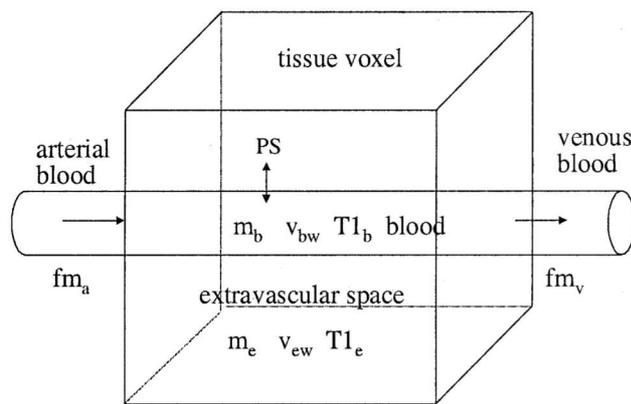


Figura 4.4: Diagramma schematico del modello a due compartimenti. Immagine presa da [30]. Lo scambio di acqua tra sangue e spazio extravascolare è definito in termini di PS, superficie di permeabilità (Permeability surface area). Mentre nel modello monocompartimentale la permeabilità all'acqua è supposta infinita, qui PS prende valori compresi tra $0.9 - 1.7 \text{ min}^{-1}$.

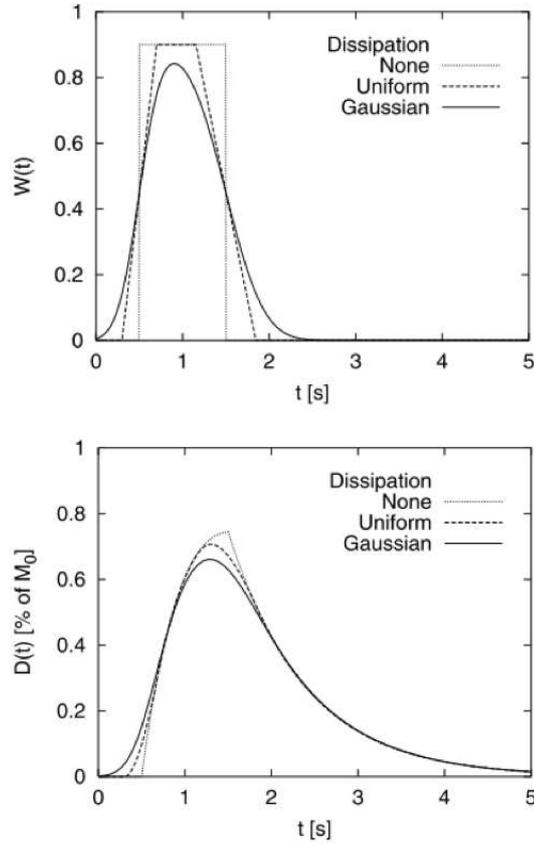


Figura 4.5: Effetto della convoluzione della funzione di ingresso con due kernel di dispersione: uniforme e gaussiano. Nel pannello in alto si può vedere come cambia la forma della $c(t)$, mentre nel pannello in basso si vedono gli effetti di questo cambiamento sul segnale. Si può notare che una funzione d'ingresso più smooth non cambia solo la pendenza iniziale, ma anche il valore massimo raggiunto dalla curva. Immagine presa da [30].

Recentemente, è stato introdotto un kernel modellizzato da una funzione gamma che sembra essere la soluzione più realistica per la quantificazione di dati ASL [12]. La soluzione analitica per la convoluzione con questo kernel è data da:

$$w(t) \otimes k(t) = \begin{cases} 0 & t \leq \Delta t \\ Q(s(t - \Delta t), 1 + sp) & \Delta t \leq t \leq \Delta t + \tau \\ Q(s(t - \Delta t), 1 + sp) - Q(s(t - \Delta t - \tau), 1 + sp) & \Delta t + \tau \leq t \end{cases} \quad (4.11)$$

dove $Q(x, y)$ è l'integrale incompleto della gamma definito come

$$Q(x, y) = \frac{1}{\Gamma(y)} \int_0^x e^{-u} u^{y-1} du$$

con s e p parametri del kernel di dispersione gamma.

Capitolo 5

Materiali e metodi

Il lavoro svolto in questa tesi riguarda l'implementazione di una pipeline per l'analisi quantitativa di dati ASL ottenuti con una sequenza PASL 3D GRASE. Dal momento che si disponeva sia della versione single-TI che multi-TI della stessa sequenza, la prima già inserita in un protocollo applicato su soggetti patologici, la seconda da testare e validare, è stata sviluppata una procedura di analisi per ognuna delle due. Richieste ed esigenze delle due sequenze sono in alcuni punti comuni ed in altri molto diverse, per permettere una maggior chiarezza espositiva nei capitoli che seguono ogni sezione conterrà due parti ben distinte: una per la single-TI e una per la multi-TI, evidenziandone le differenze e le scelte implementative richieste.

5.1 Data-set sperimentali

I data-set sperimentali sono stati acquisiti ed elaborati presso la *Fondazione Istituto Neurologico Nazionale Casimiro Mondino*, istituto di ricovero e cura a carattere scientifico (IRCCS), di Pavia (PV). In particolare il lavoro si è svolto al *Brain MRI 3T Mondino Research Center*, centro di ricerca specifico di risonanza magnetica cerebrale interno alla fondazione. Lo scanner messo a disposizione (Figura 5.1) è un *Siemens MAGNETOM Skyra 3T* (*Siemens AG, Erlangen, Germany*), dotato di software *NUMARIS/4* versione *syngo MR D13C* e bobina

ricevente per MRI cerebrale a 32 canali *Head 32, A 3T Tim Coil* (Figura 5.2).



Figura 5.1: Scanner per risonanza magnetica Siemens MAGNETOM Skyra 3T disponibile presso il Brain MRI 3T Mondino Research Center.



Figura 5.2: Bobina ricevente per MRI cerebrale a 32 canali *Head 32, A 3T Tim Coil*, utilizzata per le acquisizioni presso il Brain MRI 3T Mondino Research Center.

Data-set protocollo demenze (Single TI)

La sequenza ASL single-TI è inserita in un protocollo di ricerca che opera nell'ambito delle demenze e prende in considerazione tre gruppi di soggetti: controlli anziani non dementi, soggetti patologici affetti da Alzheimer, soggetti patologici affetti da demenza vascolare/degenerativa. Il protocollo, che sarà descritto nel prosieguo del capitolo, è attualmente operativo e il data-set in espansione.

In questo lavoro sono stati presi in considerazione gli esami di 11 soggetti (7 uomini e 4 donne) acquisiti tra il 25/06/2014 e il 18/02/2015. In Tabella 5.1, oltre a sesso, età e scolarità, sono riportate le informazioni riguardanti i risultati dei test neuropsicologici e il gruppo di appartenenza. L'indice per la valutazione neuropsicologica è dato dal *Mini Mental State Examination (MMSE)* [28], che ha un range di valori compreso tra 0 e 30, dove 30 indica l'assenza di compromissioni cognitive. Il gruppo di appartenenza, determinato dalla diagnosi d'ingresso, può invece assumere tre sigle: HC (*Healthy Control*), AD (*Alzheimer Disease*), VaD (*Vascular/Degenerative disease*). L'età media dei pazienti è di $71,27 \pm 6,02$ anni, mentre la scolarità media, espressa in anni di studio, è $12,18 \pm 8,77$ anni. Sul totale degli 11 soggetti si hanno: 5 HC, 4 AD e 2 VaD. In Tabella 5.2 sono riportate le informazioni medie per ogni gruppo. Per quanto riguarda il range MMSE, in generale, valori sopra 25 sono considerati valori di normalità, mentre più si scende al di sotto di questa soglia e più sono gravi le compromissioni cognitive. Per il gruppo dei soggetti di controllo il valore medio di MMSE è $28,8 \pm 2,04$, per il gruppo degli AD è $12,63 \pm 4,54$, infine per i pazienti vascolari/degenerativi $22,95 \pm 0,07$.

Data-set valutazione Multi TI

A differenza della sequenza single-TI, la sequenza ASL multi-TI non era inserita in alcun protocollo e quindi si è dovuto innanzitutto testarla e validarla. Il data-set e le analisi di riproducibilità per la fase di validazione saranno presentate nella prossima sezione. Per quanto riguarda il testing della sequenza, sono stati

Sogg.	Sesso	Età	Scolarità	MMSE	Tipo
		[Anni]	[Anni]	[0 ÷ 30]	
01	M	76	5	9,7	AD
02	M	74	13	23	VaD
03	M	64	25	30	HC
04	M	63	25	30	HC
05	M	72	5	8,9	AD
06	M	66	25	30	HC
07	M	65	5	18,9	AD
08	F	79	13	25,3	HC
09	F	79	5	28,7	HC
10	F	70	5	22,9	VaD
11	F	76	8	13	AD

Tabella 5.1: *Elenco soggetti esaminati con protocollo demenze. La penultima colonna, MMSE, indica il risultato dei test neuropsicologici.*

Categoria	Età [Anni]		Scolarità [Anni]		MMSE [0 ÷ 30]	
	Media	SD	Media	SD	Media	SD
HC	70,2	8,11	18,6	9,21	28,8	2,04
AD	72,25	5,19	5,75	1,5	12,63	4,54
VaD	72	2,83	9	5,66	22,95	0,07

Tabella 5.2: *Riassunto dei valori medi delle informazioni dei soggetti sottoposti al protocollo demenze, calcolate per gruppi di appartenenza.*

acquisiti 6 soggetti di controllo, sani e giovani (3 uomini e 3 donne), nel periodo compreso tra il 15/12/2014 e il 21/01/2015. I soggetti acquisiti sono i medesimi che compongono il data-set per la validazione delle sequenze e le informazioni relative a sesso, età e scolarità sono riportate in Tabella 5.3. L'età media dei

soggetti è di $29,5 \pm 3,51$ anni, mentre la scolarità media è $19,5 \pm 2,1$ anni. Per questo primo step di valutazione della sequenza non erano rilevanti altre informazioni.

Data-set protocollo test-retest

Il protocollo test-retest, è un protocollo che si pone l'obiettivo di valutare la riproducibilità della sequenza ASL 3D GRASE, sia single che multi-TI, e di eseguire un confronto tra le stime ottenute con i due approcci. La perfusione risente di numerose sorgenti di variabilità; oltre a quelle strettamente legate alla sequenza, si possono citare l'età, l'assunzione di cibi o bevande con proprietà in grado di modificare lo stato fisiologico dei vasi o anche le ore di sonno. Nella sezione 5.2, verrà presentato nel dettaglio lo schema adottato per tentare di uniformare i risultati secondo queste sorgenti. Nella discussione del data-set utilizzato, ha, ovviamente, grande importanza il dato relativo all'età dei soggetti: l'avanzare dell'età porta ad una normale riduzione del flusso e di conseguenza della perfusione [29]. Il data-set raccolto, per questi motivi, cerca di essere il più uniforme possibile per quanto riguarda il range d'età.

Il data-set è formato da 6 soggetti (3 uomini e 3 donne), sani e giovani, acquisiti tra il 25/02/2015 e il 12/03/2015. In Tabella 5.3 sono riportate le informazioni riguardanti sesso, età, scolarità e ore di sonno la notte antecedente l'esame (acquisizione eseguita due volte in due giorni consecutivi). L'età media dei volontari è di $29,5 \pm 3,51$ anni. La scolarità media di $19,5 \pm 2,1$ anni. Per quanto riguarda le ore di sonno dormite la notte precedente all'esame i valori medi sono: giorno uno $6,8 \pm 0,45$ ore, giorno due $7 \pm 0,82$ ore.

5.2 Sequenze e protocolli

In questa sezione verranno descritte le sequenze ASL e i protocolli di acquisizione in cui queste sono impiegate. Per prima cosa si intende descrivere le caratteristiche generali e comuni delle due versioni della sequenza ASL in riferimento a quanto

Sogg.	Sesso	Età	Scolarità	Ore di sonno	
		[Anni]	[Anni]	Giorno 1	Giorno 2
01	F	27	21	7	8
02	F	33	21	6	6
03	M	28	20	7	7
04	M	34	16	6,5	7
05	M	25	18	7	6,5
06	F	30	21	6,5	7

Tabella 5.3: *Elenco soggetti volontari sani sottoposti al protocollo test-retest. La tabella riporta i dati di sesso, età, scolarità e ore di sonno necessari alla valutazione del data set.*

esposto nei Capitolo 2 e 3 di questo lavoro. Prescindendo, dunque, dal tipo di campionamento, dal punto di vista dei 3 blocchi di un esperimento ASL le due sequenze sono identiche. Single e multi-TI, come anticipato all’inizio di questo capitolo, infatti, sono entrambe sequenze PASL 3D GRASE. Nello specifico, sono sequenze PASL FAIR (sezione 3.1.1.2), che implementano le metodiche di BS e Q2TIPS (sezione 3.2), con sequenza di read-out di tipo 3D GRASE (sezione 3.3.2) e direzione di phase encoding PA. Inoltre, è opportuno specificare che non si tratta di sequenze *one-shot*, bensì *segmented*. Questo significa che l’acquisizione dell’intero FOV viene eseguito con l’applicazione di più impulsi RF. Le sequenze a disposizione sono a 4 segmenti. Questo dato è importante poichè il numero di segmenti ha un effetto diretto sulla quantità di blurring nella direzione z presente nell’immagine: più segmenti riducono l’effetto di blurring, ma aumentano il tempo di acquisizione.

Dal momento che la tecnica di BS è implementata nelle sequenze, per permettere la quantificazione dei dati di perfusione (valori in unità di misura assoluta, $\left[\frac{mL}{100g\ min}\right]$), sono state sviluppate e messe a disposizione 3 sequenze supplementari. Queste sequenze servono a stimare uno dei parametri di calibrazione: M_0 ,

ossia il valore della magnetizzazione all'equilibrio (dalla quale prendono il nome). I dettagli di queste sequenze verranno esposti nel prosieguo di questo capitolo insieme alle corrispettive single e multi-TI. Risulta opportuno precisare, però, che queste sono identiche in entrambi gli approcci e che sono molto simili anche tra di loro, eccetto che per l'istante di acquisizione: 1, 1,99 e 4 [s].

5.2.1 Single-TI e protocollo demenze

La sequenza ASL single-TI è stata inserita in un protocollo di ricerca preesistente, atto a studiare variazioni strutturali e funzionali in soggetti colpiti da demenza. Nello specifico il protocollo, denominato protocollo demenze, vuole studiare le differenze che intercorrono tra la demenza dell'Alzheimer e la demenza vascolare/degenerativa, le cui componenti spesso si trovano a convivere insieme rendendo difficile una diagnosi precisa. Con l'inserimento dell'arterial spin labeling questo protocollo spazia dalla perfusione, al trattografia della bianca (DTI), al funzionale resting state (fMRI). L'idea alla base di questa indagine, a spettro veremante ampio, è di provare ad indentificare, per ognuno degli ambiti citati, delle *features* (caratteristiche) specifiche di una, ma non dell'altra patologia, in modo da poter creare un classificatore che sia poi in grado di discernere nei casi di ambiguità (non è uno scopo di questa tesi). Come presentato nella sezione precedente, il data-set di questo protocollo sarà dunque composto da soggetti afferenti a tre possibili gruppi: HC, AD e VaD. Inoltre, i candidati devono aver superato l'età minima di 60 anni, condizione imposta soprattutto per i soggetti di controllo, fondamentale per permettere l'uniformità del campione. Per quanto detto, risulta chiaro che non tutte le acquisizioni eseguite durante questo protocollo sono utili allo studio della perfusione, ma per completezza e per alcune considerazioni, si procederà ora con l'illustrazione dell'intero schema eseguito.

In un'unica seduta, il protocollo demenze prevede, nell'ordine di esposizione, le seguenti acquisizioni:

1. Immagini di diffusione per l'identificazione di lesioni ischemiche acute;

2. **Immagini FLAIR volumetriche, acquisite in sagittale, per lo studio delle lesioni in materia bianca;**
3. **Immagini strutturali pesate T_1 volumetriche, acquisite in sagittale, per valutazione morfologica e contrasto sostanza bianca e grigia;**
4. Immagine per lo studio funzionale (fMRI) con protocollo resting state;
5. **Immagini per lo studio della perfusione con tecnica ASL;**
6. **Immagini per la valutazione della magnetizzazione all'equilibrio M_0 , acquisite con tecnica ASL (3 sequenze);**
7. Immagini per lo studio della diffusione, nello specifico per trattografia, con protocollo Diffusion Tensor Imaging (DTI);
8. Immagini con sequenza gradient eco pesate T_2 (sensibilità al sangue);
9. Immagini strutturali pesate T_2 con protocollo Turbo Spin Echo (TSE) per la valutazione degli ipocampi;
10. Immagini angiografiche dei vasi arteriosi cerebrali senza mezzo di contrasto;
11. Immagini pesate T_2^* con protocollo SWI (maggior sensibilità sangue e vasi).

Le sequenze di interesse per l'analisi quantitativa del processo di perfusione sono quelle evidenziate in grassetto.

La prima tipologia di immagini acquisite utili alla causa dell'ASL, sono quelle relative alla sequenza pesata FLAIR (punto 2 dell'elenco). Queste sono immagini strutturali con pesatura in T_2 e soppressione del liquor, che permettono di valutare le lesioni vascolari in materia bianca. Sono acquisizioni fondamentali sia per la valutazione del carico lesionale, eventualmente un dato legato alle patologie, sia per permettere la creazione di una maschera che mappi queste lesioni e le escluda dall'analisi. Infatti, le regioni di materia bianca in cui si è verificata una lesione dei vasi, in immagini strutturali pesate in T_1 risultano con intensità proprie della

sostanza grigia piuttosto che della loro reale sostanza. Questo fa sì che, senza opportuni accorgimenti, lo step di segmentazione includa sotto la categoria materia grigia voxel che in realtà sono di bianca. La sequenza FLAIR a disposizione ha un *FOV* di 230 [mm], *dimensione del voxel* di 0,539 [mm³] (0,7 × 0,7 × 1,1 [mm]), *dimensioni matrice* 290 × 320 × 144, *TR* = 5000 [ms], *TE* = 388 [ms], *tempo di inversione* 1800 [ms].

Successivamente, viene acquisita la sequenza *T*₁MPRAGE, che fornisce immagini strutturali ad alta risoluzione. Da queste immagini relative alla conformazione dell'encefalo è possibile estrapolare informazioni riguardanti la struttura anatomica del cervello del soggetto, come ad esempio maschere di materia bianca e grigia. La sequenza *T*₁MPRAGE a disposizione ha un *FOV* di 270 [mm], *dimensione del voxel* di 1,452 [mm³] (1,1 × 1,1 × 1,2 [mm]), *dimensioni matrice* 240 × 256 × 176, *TR* = 2300 [ms], *TE* = 2,95 [ms].

Sequenza ASL originale Siemens

I punti 5 e 6 del protocollo demenze sono quelli che riguardano direttamente la misura della perfusione. Prima dell'inizio di questo lavoro, la sequenza implementata nel protocollo era la sequenza che la Siemens mette a disposizione, previo acquisto della stessa, degli utilizzatori del loro scanner. Si tratta di una sequenza con due istanti di campionamento (*TI* = 1990 [ms] e *TI* = 2140 [ms]), considerati come due acquisizioni single-TI separate, anch'essa FAIR(PASL) 3D GRASE con un numero di segmenti pari a 12, numero di medie pari a 1 e BS. La dimensione dei voxel è 27 [mm³] (3,0 × 3,0 × 3,0 [mm]) e *FOV* 192 [mm]. Tutte le specifiche della sequenza sono riportate in Tabella 7.1 nel capitolo Discussioni, dove verranno esposte le motivazioni dell'esclusione.

Sequenze ASL single-TI

In una fase preliminare al lavoro svolto, la sequenza Siemens, per i motivi che saranno esposti nel Capitolo 7, è stata sostituita con una versione ottimizzata.

Le specifiche tecniche della sequenza ASL single-TI ottimizzata sono riportate in Tabella 5.4. Il valore del tempo di inversione, $TI=2020$ [ms], è stato fissato seguendo le linee guida riportate nell'ASL consensus paper 2014 [2] per soggetti anziani e patologici.

In aggiunta a quanto già detto sulle sequenze supplementari per la stima di M_0 , si specifica che queste sono tre acquisizioni molto veloci basate sulla sequenza ASL, che registrano una sola coppia di immagini label-controllo senza che nessuna marcatura venga mai operata. In sostanza queste sono delle *Saturation Recovery* con lo stesso read-out della sequenza ASL (3D GRASE), che si differenziano per il solo istante di acquisizione (1,1.99 e 4 [s]).

5.2.2 Multi-TI

La sequenza multi-TI è una versione modificata della single-TI ottimizzata. Le specifiche della sequenza sono riassunte in Tabella 5.4. L'intero processo di perfusione del sangue marcato viene qui campionato attraverso l'acquisizione del segnale in 10 TI's, rispettivamente 350, 600, 850, 1100, 1350, 1600, 1850, 2100, 2350, 2600 [ms]. In questa prima fase di validazione della sequenza, il numero di medie è stato fissato a 2, questo significa che si acquisiscono 20 coppie label-controllo.

5.2.3 Protocollo test-retest

Il protocollo test-rest è un protocollo di acquisizione sviluppato appositamente per la validazione ed il confronto delle sequenze ASL disponibili presso l'*Istituto Neurologico C. Mondino*. In particolare, si vuole valutare la capacità dello scanner di riprodurre la stessa acquisizione ed eseguire un confronto tra la quantificazione che si raggiunge con l'esperimento single-TI e multi-TI. La struttura del protocollo test-retest è stata dunque pensata con l'obiettivo di limitare queste sorgenti di variabilità, per permettere di registrare l'eventuale variabilità introdotta dalla macchina o, se questo non è possibile, valutare se, in questo contesto, la ripetibilità

Specifiche	Sequenza ASL single TI	Sequenza ASL multi TI
Labeling	FAIR (PASL)	FAIR (PASL)
Read-out	3D GRASE segmented	3D GRASE segmented
Numero segmenti	4	4
Numero TI	1	10
TI	2020 [ms]	350 ÷ 2600 [ms]
Durata del bolo	700[ms] (Q2TIPS)	700[ms] (Q2TIPS)
BS	si	si
EPI factor	31	31
TR	3500 [ms]	3500 [ms]
TE	21, 1 [ms]	21, 1 [ms]
Measurements (medie)	8	2
FOV	240 [mm]	240 [mm]
Spessore slice	5, 25 [mm]	5, 25 [mm]
Dimensione voxel	19, 13 [mm ³]	19, 13 [mm ³]
Dimensioni matrice	1, 9 × 1, 9 × 5, 3 [mm]	1, 9 × 1, 9 × 5, 3 [mm]
Tempo di acquisizione	3, 51 [min]	9, 27 [min]

Tabella 5.4: Specifiche tecniche delle sequenze ASL disponibili presso il Brain MRI 3T Mondino Research Center.

della prova è garantita. Operativamente questo è stato tradotto nelle seguenti regole di protocollo:

- esecuzione protocollo sempre tra le ore 09:00 e 11:00 a.m.;
- astensione dall'assunzione di alcolici fino a 12 ore prima dell'esame;
- astensione dall'assunzione di caffè fino a 12 ore prima dell'esame;

- divieto di dormire durante tutta la durata delle acquisizioni;
- occhi sempre aperti durante tutta la durata delle acquisizioni;
- no uso specchio risonanza;
- livello luci scan fissato;
- livello luci sala fissato;
- verifica stato di eventuale sonno del soggetto al termine di ogni sequenza;
- annotare ore di sonno nella notte precedente all'esame.

Il protocollo test-retest coinvolge tutte le sequenze descritte nelle due sezioni precedenti: immagini strutturali pesate T_1 , immagini strutturali pesate T_2 FLAIR, immagini di perfusione con protocollo ASL single-TI, immagini di perfusione con protocollo ASL multi-TI e immagini per la stima dei parametri di calibrazione (saturation recovery con read-out 3D GRASE). La sola differenza presente, riguarda la sequenza single-TI, nella quale il numero di medie è portato da 8 a 11, per testare un possibile aumento di qualità. Per il raggiungimento degli obiettivi che questo protocollo si pone, sono previste due giornate di acquisizione per ogni soggetto, che per motivi organizzativi dovranno essere consecutive, e in ognuna di esse le acquisizioni saranno ripetute due volte. Le sessioni di acquisizione sono così organizzate:

- **Giorno 1:** dopo aver sistemato il soggetto nello scanner è necessario attendere una decina di minuti prima di realizzare l'esperimento ASL per permettere al corpo di abituarsi alla posizione supina. Si sfrutta questo tempo per acquisire le immagini strutturali, necessarie al reperimento delle informazioni anatomiche e dello stato di salute dei tessuti. Nella prima giornata si acquisiscono le immagini pesate T_1 con la sequenza T_1 MPRAGE (specifiche in sezione 5.2.1). Al termine di questa seguono le sequenze ASL in ordine pseudo-casuale (vedere Tabella A.1). L'intero blocco ASL viene poi ripetuto senza alcuna pausa o spostamento del paziente;

- **Giorno 2:** la sequenza T_1 MPRAGE viene sostituita dalla T_2 SPC, che acquisisce immagini strutturali pesate T_2 FLAIR (specifiche in sezione 5.2.1). Come nella prima giornata, al termine di questa sequenza seguono quelle dell'esperimento ASL in ordine pseudo-casuale. A differenza di quanto avviene il giorno 1, la ripetizione delle sequenze avviene solamente dopo una pausa di 10 minuti circa, in cui il soggetto viene fatto scendere dallo scanner e mantenuto in movimento (piccola passeggiata). A pausa terminata l'intero esperimento viene ripetuto, compresa la sequenza T_2 FLAIR per rifare abituare il corpo alla posizione supina.

Per evitare l'introduzione di bias dovuti all'operatore e all'abituazione del soggetto sono state seguite semplici regole. La prima prevede l'utilizzo della funzione dello scanner *autoalign*, che permette la centratura automatica del FOV. Nel caso si rendesse necessario l'intervento dell'operatore per la centratura, questo deve registrare i parametri degli spostamenti per replicarli nelle successive acquisizioni. La seconda regola consiste nel seguire uno schema di ordine pseudo-casuale di esecuzione delle sequenze. In modo casuale l'operatore deve scegliere una delle sedici combinazioni possibili dell'ordine delle sequenze, combinazioni riportate in Tabella A.1 (App. A).

5.3 Pipeline di elaborazione ed analisi

L'obiettivo primario di questo lavoro di tesi è quello di realizzare una pipeline di elaborazione ed analisi di dati ASL capace, partendo dalle immagini grezze acquisite dallo scanner, di restituire dati direttamente usufruibili dal medico. La pipeline di lavoro sviluppata, schematizzata in Figura 5.3, può allora essere divisa in due grandi blocchi:

- **Elaborazione immagini:** comprende tutte quelle operazioni che portano dalle immagini di partenza alle mappe quantificate e alle maschere anatomiche. A sua volta si può suddividere in tre filoni:

1. Elaborazione dati strutturali: le immagini anatomiche (T_1 e FLAIR) sono utilizzate per segmentare i tessuti, marcare le regioni ed estrarre maschere delle lesioni della materia bianca;
 2. Elaborazione dati ASL: le immagini ASL passano attraverso il processo di quantificazione del CBF restituendo delle mappe di questo parametro. Questo punto si diversifica a seconda che si tratti di immagini acquisite con esperimento a single o multi-TI;
 3. Coregistrazione: le informazioni anatomiche sono portate in spazio ASL.
- **Analisi a livello di ROI:** sfrutta le informazioni preparate dal blocco precedente per valutare il CBF all'interno di specifiche regioni di interesse.

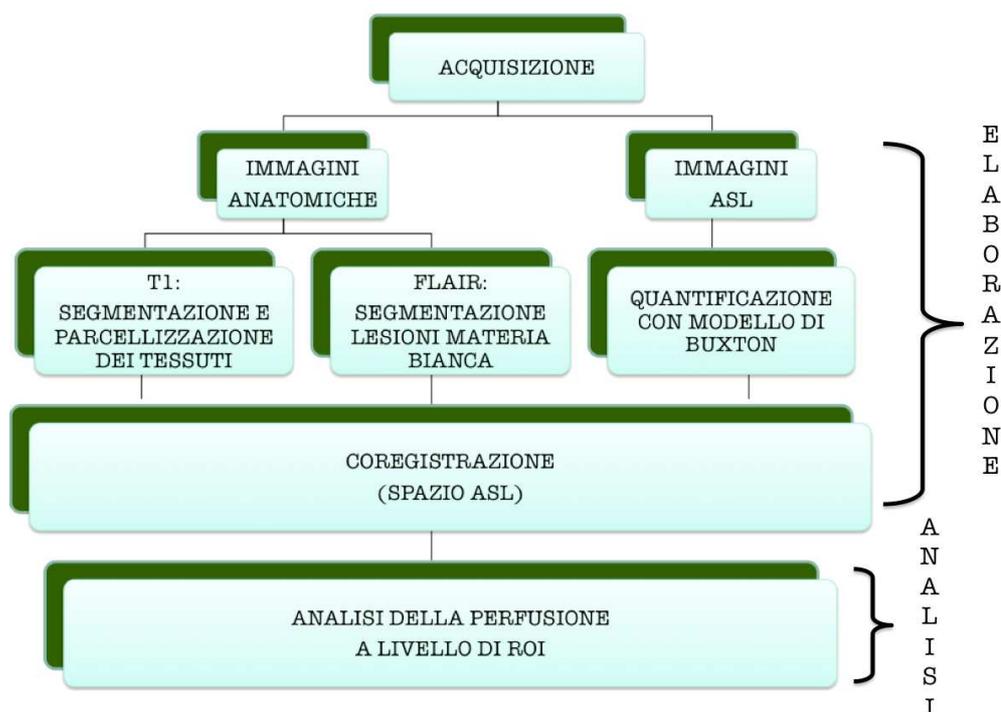


Figura 5.3: Diagramma schematico della pipeline sviluppata. Il blocco di elaborazione consiste in tre diversi filoni: elaborazione immagini anatomiche, immagini ASL e coregistrazioni. I prodotti di questo blocco passano poi alla fase di analisi per la valutazione del CBF.

Nelle prossime sezioni del capitolo verranno presentati i vari step della pipeline.

5.3.1 Ambienti di lavoro

La pipeline di elaborazione ed analisi sviluppata sfrutta fundamentalmente quattro suite: tre nel blocco di elaborazione e una in quello di analisi.

Nel blocco di elaborazione, il flusso di lavoro che porta alla raggiungimento di mappe quantificate di CBF si basa sulla suite FSL (*FMRIB Software Library*), versione v5.0.7, creato dal gruppo *Analysis Groups, FMRIB (Oxford, UK)* e ottenibile ed utilizzabile gratuitamente dal sito web

<http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FSL>

Segmentazione e parcellizzazione delle strutture anatomiche, immagini pesate T_1 , e coregistrazioni sono realizzate sfruttando la suite ANT's (*Advanced Normalization Tools*), versione v2.1. Il software è disponibile gratuitamente al sito web

<http://stnava.github.io/ANTs/>

L'elaborazione delle immagini strutturali FLAIR, da cui si ricava la maschera delle lesioni della materia bianca, invece, è fatta sfruttando il software gratuito Mango (*Multi-Image Analysis GUI*), version v3.2.7. Mango è un software non commerciale, distribuito gratuitamente precompilato, sviluppato presso l'*University of Texas Health Science Center at San Antonio*. Il software è reperibile al sito web

<http://ric.uthscsa.edu/mango/>

Il blocco di analisi si basa tutto su un'unica suite corredata con alcuni importanti toolbox. La suite utilizzata è MatLab (abbreviazione di Matrix Laboratory), versione v8.4 (rel. 2014b), prodotta e distribuita da The MathWorks, Inc.© 1984-2015. Le potenzialità della suite sono incrementate con tre pacchetti di funzioni: *Image Processing Toolbox*, *Optimization Toolbox* e *Statistics Toolbox*. Tali pacchetti sono prodotti dalla stessa società.

Il corredo di software è completato da un altro toolbox scritto in linguaggio MatLab: *Nifti toolbox*, distribuito secondo licenza *General Public Licence (GNU)* ed ottenibile attraverso il sito della MathWorks all'indirizzo

<http://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/8797>

5.4 Metodi di elaborazione delle immagini ASL

In questa sezione verranno presentate le tecniche utilizzate per le elaborazioni delle immagini ASL.

5.4.1 Elaborazione dati ASL multi-TI

La sequenza multi-TI restituisce 20 coppie di immagini label/control, corrispondenti a due ripetizioni dell'esperimento che consiste in 10 TI's. In prima istanza, dopo aver sottratto le immagini controllo dalle label, si realizza una semplice media tra le due acquisizioni che serve ad aumentare il SNR. Facendo riferimento a tempi di inversione diversi, le 10 label possiedono un contenuto informativo sempre diverso che corrisponderà al progressivo ingresso di tracciante nei tessuti. Dal momento che la nostra sequenza sfrutta un labeling di tipo pulsato e che, come discusso nel Capitolo 4, il modello standard per la quantificazione del segnale di arterial spin labeling è il modello di Buxton, l'evoluzione nel tempo del segnale misurato è definita dall'equazione non lineare ?? di sezione 4.3.1.1.

Per risolvere la stima non lineare dei parametri f (CBF) e Δt dell'equazione si è deciso di utilizzare il toolbox di FSL *BASIL* (*Bayesian Inference for Arterial Spin Labeling MRI*). *BASIL* è un pacchetto di funzioni di FSL che permette di quantificare dati ASL basandosi sui principi dell'inferenza Bayesiana. In particolare, questo toolbox stima i parametri di un esperimento ASL sfruttando l'inferenza Bayesiana variazionale, *Variational Bayesian Inference* VB [11]. Oltre a stimare f e Δt , *BASIL* offre tutta una serie di opzioni che permettono di: stimare la durata del bolo, stimare e separare la componente arteriale, correggere per l'effetto di volume parziale e altro ancora. Partendo dalla semplice stima dei due parametri cardine, *BASIL* reitera gli step di stima utilizzando le mappe estratte lo step precedente come stima iniziale per la successiva iterazione e aggiungendo un parametro incognito. Nella pipeline sviluppata si è scelto di impostare una stima

a tre stadi che, oltre a f e Δt , stima ed aggiunge al modello: *componente arteriale* e *durata del bolo*. Ovviamente le mappe utilizzate saranno quelle restituite dopo il terzo step, le quali ancora non sono in unità di misura assoluta.

5.4.1.1 Variational Bayesian Inference

Variational Bayesian Inference (VB) è un metodo che sfrutta l'inferenza Bayesiana. Il classico problema dell'inferenza Bayesiana è quello in cui si vuole stimare il valore di parametri w di un dato modello, avendo a disposizione una serie di misure y . La soluzione si basa sul teorema di Bayes:

$$P(\mathbf{w}|\mathbf{y}, M) = \frac{P(\mathbf{y}, \mathbf{w}|M)}{P(\mathbf{y}|M)} = \frac{P(\mathbf{y}|\mathbf{w}, M)P(\mathbf{w}|M)}{P(\mathbf{y}|M)} \quad (5.1)$$

che restituisce la probabilità a posteriori (*posterior*) dei parametri dati misure e modello in termini di: verosimiglianza (*likelihood*) dei dati dato il modello con parametri \mathbf{w} , $P(\mathbf{y}|\mathbf{w}, M)$, della probabilità a priori (*prior*) dei parametri per quel modello, $P(\mathbf{w}|M)$, e delle osservazioni dato il modello scelto, $P(\mathbf{y}|M)$. Solitamente per semplicità di scrittura la dipendenza dal modello scelto la si assume implicita (M non compare nelle formule). In generale, però, non sempre è possibile valutare la posterior per via analitica. In questi casi si può ricorrere all'approssimazione della posterior, $q(\mathbf{w})$. L'obiettivo è quello di fare in modo che l'approssimazione $q(\mathbf{w})$ sia uguale, o meglio il più vicino possibile, alla posterior vera. Come in tutti i problemi di approssimazione, è necessario definire una misura di distanza tra la distribuzione vera e quella stimata e ricorrere quindi ad un processo iterativo che miri a minimizzare tale misura. In questo ambito l'indice è dato dalla distanza di Kullback-Liebler (*KL distance*), noto anche come *Entropia relativa*. Minimizzare la KL distance corrisponde a massimizzare la funzione *free energy* F , così definita:

$$F = \int q(\mathbf{w}) \log \left[\frac{P(\mathbf{y}|\mathbf{w})P(\mathbf{w})}{q(\mathbf{w})} \right] d\mathbf{w} \quad (5.2)$$

Questa uguaglianza si dimostra a partire dal logaritmo della probabilità delle osservazioni dato il modello scelto, $P(\mathbf{y})$:

$$\begin{aligned}
 \log P(\mathbf{y}) &= \log \frac{P(\mathbf{y}|\mathbf{w})}{P(\mathbf{w}|\mathbf{y})} \\
 &= \int q(\mathbf{w}) \log \frac{P(\mathbf{y}|\mathbf{w})}{P(\mathbf{w}|\mathbf{y})} d\mathbf{w} \\
 &= \int q(\mathbf{w}) \log \left[\frac{P(\mathbf{y}|\mathbf{w})}{P(\mathbf{w}|\mathbf{y})} \cdot \frac{q(\mathbf{w})}{q(\mathbf{w})} \right] d\mathbf{w} \\
 &= \int q(\mathbf{w}) \log \frac{P(\mathbf{y}|\mathbf{w})}{q(\mathbf{w})} d\mathbf{w} + \int q(\mathbf{w}) \log \frac{q(\mathbf{w})}{P(\mathbf{w}|\mathbf{y})} d\mathbf{w} \\
 &= F + KL
 \end{aligned} \tag{5.3}$$

Da questa, infatti, risulta semplice notare che, dal momento che $\log P(\mathbf{y})$ è una quantità fissa poichè corrisponde con quanto misurato, minimizzare KL corrisponde con la massimizzazione di F .

Il problema bayesiano è diventando quindi un problema di massimizzazione della funzione F . In particolare F è un funzionale, ossia una funzione di funzione, perciò per risolvere il problema si ricorre ad un metodo del calcolo delle variazioni (da qui il termine Variational). Il calcolo delle variazioni è una branca dell'analisi matematica che si occupa della ricerca di massimi e minimi di funzionali. La restrizione chiave del metodo VB consiste, allora, nel modo in cui q viene approssimata. Per far sì che l'integrale sia sempre trattabile si sfrutta l'approssimazione del campo medio per $q(\mathbf{w})$, che diventa:

$$q(\mathbf{w}) = \prod_i q_{\mathbf{w}_i}(\mathbf{w}_i) \tag{5.4}$$

La versione di VB implementata nelle funzioni del toolbox BASIL aggiungono a questa formulazione la restrizione all'uso di famiglie di distribuzioni coniugate. Questa limitazione semplifica notevolmente il calcolo della fattorizzazione del posterior. Nello specifico, il prior si dice coniugato alla verosimiglianza se e solo

se la posterior ha la stessa forma parametrica del prior. Le formulazioni scelte per i prior sono:

$$\begin{aligned} P(\theta) &\sim MVN(\theta; \mathbf{m}_0, \Lambda^{-1};) \\ P(\phi) &\sim Ga(\phi; s_0, c_0) \end{aligned} \tag{5.5}$$

Di conseguenza, i posterior fattorizzati e coniugati ai prior sono:

$$\begin{aligned} q(\theta|\mathbf{y}) &\sim MVN(\theta; \mathbf{m}, \Lambda^{-1};) \\ q(\phi|\mathbf{y}) &\sim Ga(\phi; s, c) \end{aligned} \tag{5.6}$$

dove θ indica i parametri del modello, ϕ i parametri legati al rumore e le distribuzioni scelte per le due tipologie sono rispettivamente una normale multi-variata (MVN) e una distribuzione gamma (Ga).

Il metodo, testato proprio su dati di arterial spin labeling, nel caso di prior non informativi restituisce le stesse stime dei minimi quadrati non lineari (metodica gold standard). Il vantaggio di questo approccio consiste nella possibilità di utilizzare prior informativi che permettono una notevole velocizzazione del processo di stima [11].

5.4.1.2 Separazione del segnale macrovascolare

In alcuni voxel dell'immagine, il segnale ASL è contaminato dalla presenza, all'interno del voxel, di vasi arteriali che trasportano sangue marcato destinato a perfondere regioni più lontane. Questa contaminazione diventa poi particolarmente significativa vicino alle grandi arterie cerebrali. Per la riduzione di questo segnale indesiderato sono state proposte diverse soluzioni, sia in fase di acquisizione che in fase di post-processing.

In esperimenti multi-TI è possibile valutare questa componente di segnale in fase di processing aggiungendo al modello un compartimento che tenga conto del segnale intra-vascolare (IV) arteriale. Chappell e colleghi, sfruttando il VB, hanno implementato nel toolbox BASIL la possibilità di valutare la componente

IV arteriale utilizzando informazioni a priori legate sia al tempo di arrivo che all'intensità del segnale misurato (derivanti da logiche considerazioni fisiologiche) [10]. Il modello utilizzato per il compartimento aggiuntivo è:

$$\Delta M_{art}(t) = \begin{cases} 0 & t \leq \Delta t_a \\ 2\alpha M_{0b} e^{-\frac{t}{T_{1a}}} aBV & \Delta t_a \leq t \leq \Delta t_a + \tau_a \\ 0 & \Delta t_a + \tau_a \leq t \end{cases} \quad (5.7)$$

dove aBV è la frazione di sangue arteriale nel voxel e $\Delta t_a, \tau_a$ sono rispettivamente tempo di arrivo (*arterial arrival time, AAT*) e durata del bolo [10]. In generale il segnale totale in ogni voxel è dato dalla somma della componente perfusiva e di questa componente IV.

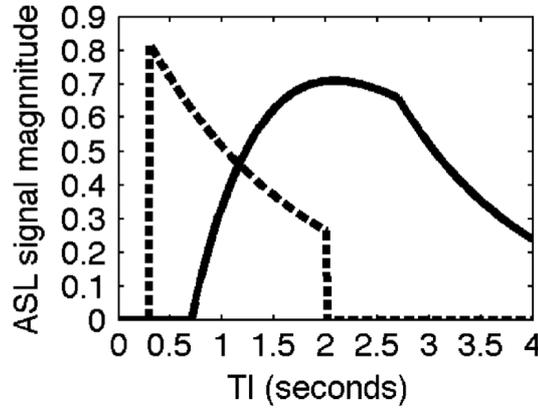


Figura 5.4: Componenti per il modello ASL bicompartimentale. La linea continua mostra la curva del modello standard del segnale ASL, mentre la linea tratteggiata mostra il modello di decadimento esponenziale per il sangue marcato all'interno della componente arteriale. Immagine presa da [11].

In realtà, la maggior parte dei voxel non contiene grandi arterie ed utilizzare un modello a due compartimenti con prior relativi alla frazione IV arteriale, produrrebbe un artefatto di over-fitting in tutti i voxel tessutali. L'algoritmo sviluppato, appoggiandosi ad ARD (*automatic relevancy determination*), è in grado

di decidere, per ogni voxel, se utilizzare il modello mono o pluricompartimentale e di conseguenza di selezionare i prior.

Rimandando al relativo articolo per tutti gli ulteriori dettagli sul metodo [10], si vuole qui sottolineare che questo approccio permette di selezionare i voxel in cui il segnale è contaminato dalla presenza di grandi arterie e di stimare il valore del CBF di questi voxel pulendolo dalla componente IV arteriale. Una limitazione dell'algoritmo implementato in BASIL è data dalla capacità di riconoscere i voxel contaminati solo da grandi arterie (Figura 5.5). La presenza del rumore di fondo, infatti, unita alla bassa risoluzione delle immagini ASL non rende possibile il riconoscimento di contributi legati ad arterie più piccole.

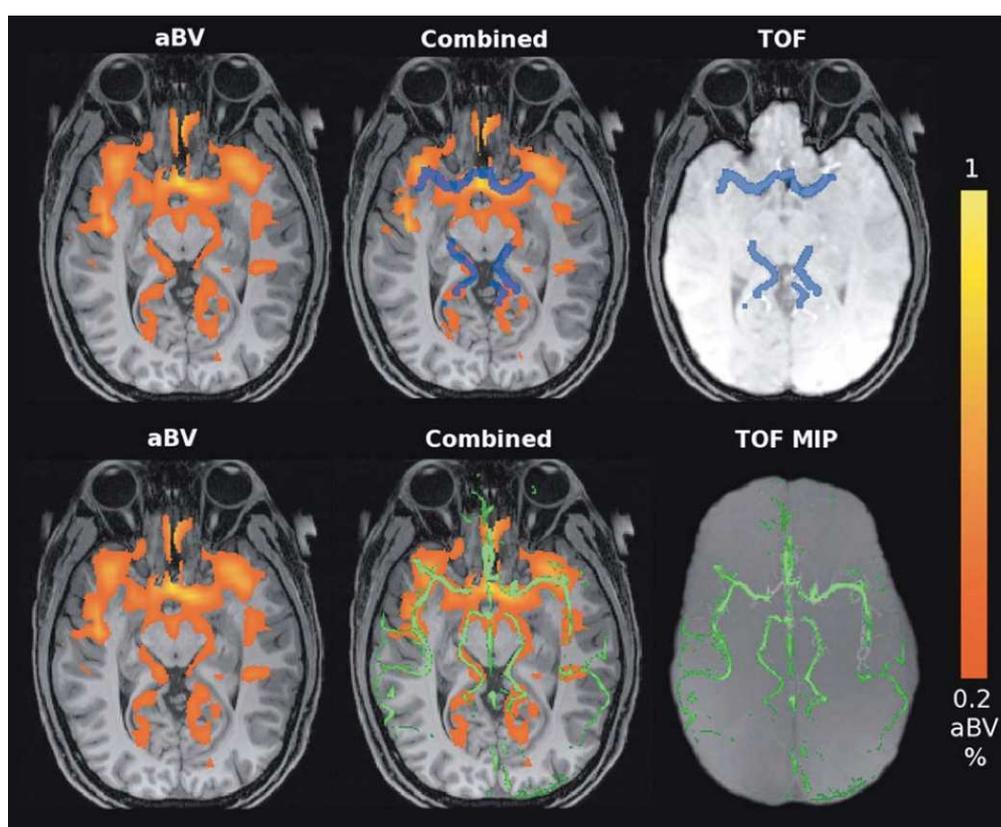


Figura 5.5: Esempio di stima di aBV da dati ASL multi-TI, immagine presa da [10]. Sulle due righe si possono vedere il confronto tra la stessa mappa di aBV e la posizione dei vasi ottenute con una sequenza angiografica TOF (riga uno, blu) e una sequenza TOF MIP (riga due, verde). Dalle mappe combinate è possibile notare, da un lato la buona capacità di rilevazione delle grandi arterie, dall'altra l'incapacità di rilevazione delle piccole.

L'approccio via VB alla stima di dati arterial spin labeling, oltre ad accuratezza e velocità, offre la possibilità, sfruttando dove opportuno un modello a due compartimenti, di ridurre l'influenza delle grandi arterie sul segnale di interesse. Dato il tipo di sequenze a nostra disposizione esso torna molto utile, dal momento che la soppressione del segnale arteriale a livello macchina non è implementabile con sequenze GRASE-ASL.

5.4.2 Indici di precisione delle stime e calibrazione

L'ultima parte di elaborazione delle immagini ASL consiste nella stima delle immagini di calibrazione e nel calcolo degli indici di precisione delle stime di CBF, dal momento che le mappe restituite da BASIL non sono in unità di misura assoluta e sappiamo esserci dei voxel in cui la stima di CBF non è accurata a causa di una componente arteriale non separabile.

Indici di precisione delle stime

Insieme alle mappe contenenti le stime dei parametri impostati (f , Δt , τ e componente arteriale), BASIL calcola le mappe della varianza di queste stime. Nella pipeline messa a punto, queste informazioni vengono utilizzate per determinare due indici:

- **Coefficiente di Variazione, CV:** in generale il coefficiente di variazione è un indice puntuale della precisione di una misura che valuta la dispersione dei valori intorno alla media. Semplicemente, quindi, è definito come il rapporto tra la deviazione standard della misura (σ) e il modulo del valore medio (μ):

$$CV = \frac{\sigma}{|\mu|}$$

- **Weighted Residual Sum of Squares, WRSS:** WRSS o somma pesata del quadrato dei residui, è un indice puntuale della precisione della stima, in particolare è una misura della discrepanza tra dati e modello scelto. Tanto

più preciso sarà il fit del modello, tanto minore sarà il valore di WRSS. I WRSS sono ricavati come:

$$WRSS = \sum_{i=1}^n w_i \cdot \hat{u}_i^2 = \sum_{i=1}^n w_i \cdot (y_i - \hat{y})^2$$

dove $w_i = \frac{1}{var_i}$ e \hat{y} rappresenta la stima del modello. A differenza di quanto visto per il calcolo dei CV, qui la varianza non è quella riferita alla stima del dato, ma quella del rumore di fondo (sempre valutata voxel per voxel). In BASIL il rumore Gaussiano è descritto tramite una distribuzione Gamma (sezione 5.4.1.1), più precisamente la componente del rumore è modellata come:

$$e \sim N(0, \phi^{-1}\mathbf{I})$$

dove $\phi = s \cdot c$ è la precisione della distribuzione gamma ed il suo reciproco corrisponde alla varianza della normale che descrive il rumore di fondo ($var = \frac{1}{sc}$).

Le mappe di WRSS e dei CV della stima di CBF sono poi utilizzate nella fase di analisi per pulire i valori medi calcolati da stime non accurate.

Calibrazione

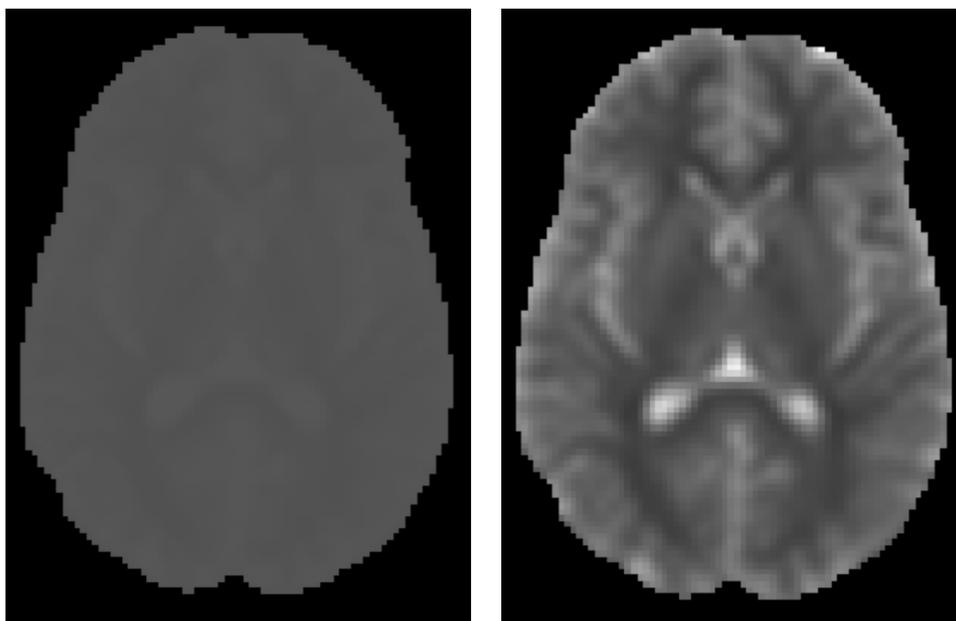
Per la quantificazione delle mappe di CBF si sfruttano le immagini acquisite con le tre sequenze messe a punto ad hoc per il calcolo della magnetizzazione all'equilibrio, M_0 . Queste operazioni possono essere pensate come operazioni di calibrazione poichè servono solamente a portare il dato in unità di misura assoluta: $[\frac{ml}{100gmin}]$. Secondo le direttive del consensus paper 2014 [2], la valutazione di questo fattore di scala deve avvenire a livello di voxel: si deve, dunque, ricavare un'ulteriore mappa contenente la stima di questo parametro.

Il toolbox BASIL mette a disposizione un comando, *asl calib*, che, basandosi sempre sul metodo VB, permette di ottenere un mappa di M_0 e una per T_{1t} in modo rapido e accurato. In realtà, nella nostra pipeline è stata utilizzata una versione modificata di questo comando. Infatti, i prior della versione originale,

sono prior poco mobili e di conseguenza ne risulta una stima poco accurata e molto molto piatta intorno al valore medio del prior. Le modifiche fatte permettono di ottenere stime più accurate e fisiologiche, dal momento che l'algoritmo gode di maggior libertà di movimento. La differenza è ben visibile nella mappe T_{1t} (Figura 5.6), ma è presente anche in quelle di M_0 . Il modello è quello della Saturation Recovery, nel quale si ha:

$$M(t) = M_0 \cos(2\pi\nu_L t) e^{-\frac{t}{T_2}}$$

dove ν_L è la frequenza di Larmor e t l'istante di acquisizione.



(a) Mappa di T_{1t} ottenuta con asl calib originale (b) Mappa di T_{1t} ottenuta con asl calib modificato

Figura 5.6: Confronto mappe di T_{1t} (slice 10, soggetto 1 prot. test-retest) ottenute con il comando di BASIL asl calib originale (pannello a) e modificato (pannello b). Risulta immediato notare l'incapacità della versione originale di muoversi dal prior (tutti i voxel sono prossimi a 1).

Nonostante il pacchetto utilizzato restituisca anche una mappa del tempo di rilassamento (T_{1t} appunto), si è deciso di non usare un approccio voxelwise per questo parametro, preferendo seguire quelle che sono le direttive date dal white

paper [2] ($T_1 = T_{1,b} = 1650[ms]$). Il dato non rimane comunque inutilizzato: dal momento che si è verificato che il reciproco di questa immagine ha contrasti simili a quella di un'immagine strutturale pesata T_1 , che viene sfruttata per lo step di coregistrazione.

5.4.3 Elaborazione dati ASL single-TI

La sequenza single-TI non concede la possibilità di utilizzare un modello complesso come quello della multi-TI. L'unico valore stimabile da questo tipo di dati è il CBF, che si può valutare attraverso un semplice modello [2]:

$$CBF = \frac{6000\lambda\Delta M e^{\frac{TI}{T_{1,blood}}}}{2\alpha T I_1 M_0} \quad (5.8)$$

In Tabella 5.5 sono riportati i valori dei parametri dell'equazione 5.8 per la sequenza disponibile. La stima di M_0 viene fatta secondo lo stesso processo di calibrazione descritto per la sequenza multi-TI (sezione 5.4.2).

parametri	valore	unità
TI	2020	ms
TI_1	1	s
$T_{1,blood}$	1650	ms
M_0	stim.	$adim.$
λ	0.9	$adim.$
α	0.98	$adim.$

Tabella 5.5: Valori dei parametri del modello di Buxton per i dati della sequenza ASL single-TI.

Un appunto particolare va fatto sul valore della durata del bolo. Nonostante nello scanner, come descritto in sezione 5.2.1, sia impostato un valore di 700 [ms], si è visto che l'implementazione della tecnica Q2TIPS non è ottimale e quindi il bolo

risulta di fatto più lungo. Da questa evidenza, la scelta di impostare il valore di 1 [s] per tale parametro.

La sequenza single-TI restituisce 8 coppie label-controllo, corrispondenti a 8 ripetizioni dell'esperimento. Dal momento che tutte le coppie sperimentano lo stesso TI, tutte hanno lo stesso contenuto informativo, rumore escluso, ed è possibile pensare ad una strategia per la correzione del movimento.

5.4.3.1 Correzione del movimento

Se è vero che le coppie acquisite possiedono lo stesso contenuto informativo, è altrettanto vero che, all'interno di ogni coppia, label e controllo trasportano una quantità di informazione legata al sangue marcato differente. Questo si traduce in intensità del segnale diverse tra le due immagini (Figura 5.7). La correzione del movimento, che consiste nella coregistrazione dei volumi su immagini di riferimento, non può perciò avvenire a livello di coppie, ma deve operarsi separatamente tra immagini label e controllo. L'idea su cui si basa la metodica di correzione scelta, segue operativamente questi 3 passi soggetto specifici:

1. Selezione, per ispezione visiva, di una tra le 8 coppie acquisite in cui non è presente movimento tra i volumi label e controllo;
2. Separazione dei due volumi scelti che diventano le immagini di riferimento;
3. Coregistrazione dei 16 volumi acquisiti sulle immagini di riferimento:
 - Volumi controllo rispetto immagine controllo di riferimento;
 - Volumi label rispetto immagine label di riferimento.

Per realizzare le registrazioni si utilizza *antsMotionCorr* con metrica *Global Correlation*, GC.

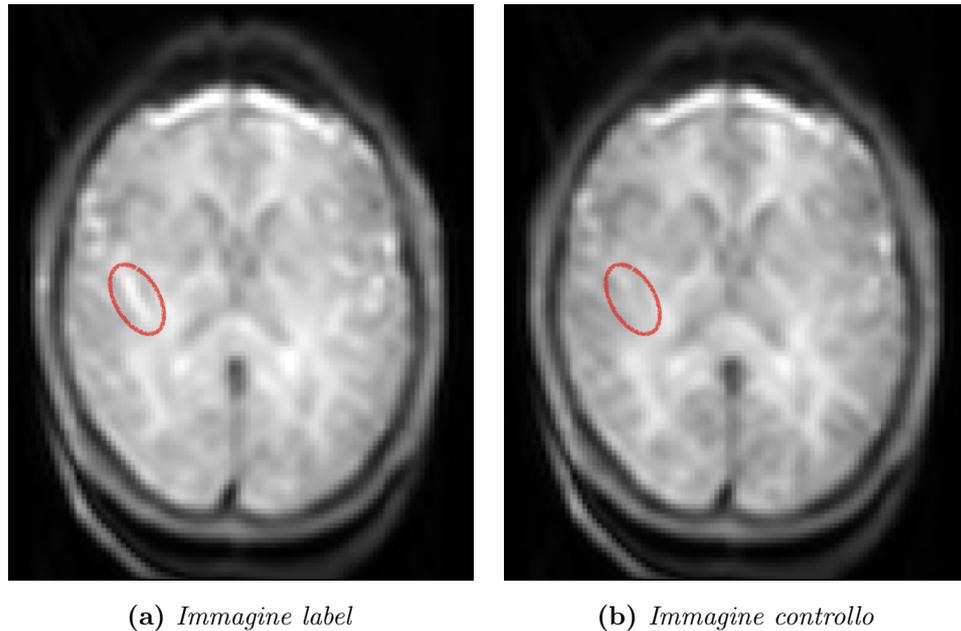


Figura 5.7: Slice esemplificativa (slice 10, soggetto 4 prot. test-retest) per i volumi label (pannello a) e controllo (pannello b) acquisiti dallo scanner. In rosso è cerchiata un'area in cui è evidente la differenza di intensità dovuta alla presenza o meno di sangue marcato nelle due immagini.

5.5 Metodi di elaborazione immagini strutturali

Come è già stato anticipato nel corso di questo capitolo, la pipeline di elaborazione studiata, prevede che siano disponibile immagini strutturali dalle quali si estraggono informazioni necessarie alla valutazione della perfusione in precise regioni di interesse. In questa sezione verranno presentate le tecniche implementate nella pipeline messa a punto.

Segmentazione dei tessuti

La segmentazione di immagini di risonanza magnetica è quel processo che divide l'immagine di interesse nelle sue componenti costituenti. Nello specifico della segmentazione dei tessuti cerebrali, l'obiettivo, a partire da un'immagine strutturale pesata T_1 , è quello di estrarre delle maschere che facciano riferimento ai tessuti costituenti l'encefalo: materia bianca, materia grigia, liquido cerebro-spinale

(*Cerebrospinal Fluid*, CSF).

Per questo delicato step del pre-processing, si è scelto di utilizzare uno script della suite ANTs: *antsCorticalThickness.sh* [32]. Questo script è stato sviluppato per la valutazione dello spessore corticale, dato strettamente legato all'atrofia cerebrale. Per arrivare ad avere una dato sullo spessore della corteccia è indispensabile operare la miglior segmentazione possibile della materia grigia. La potenza di questo script risiede nell'iteratività dell'approccio che segue: gli step di correzione per l'inomogeneità del campo (intensità del segnale attenuato fuori dal centro dell'immagine), eliminazione dello scalpo (*brain extraction*) e segmentazione dei tessuti. Lo script si basa su tre funzioni del pacchetto ANTs: *N4BiasFieldCorrection* (correzione inomogeneità), *antsBrainExtraction.sh* e *Atropos* (segmentazione). In aggiunta alla mappa di spessore corticale, lo script restituisce l'immagine originale corretta per l'inomogeneità, l'immagine corretta senza scalpo e le mappe dei tessuti segmentati, contenenti la probabilità a posteriori dei voxel di appartenere al tessuto (una per ogni prior dato in ingresso). Per ottenere una segmentazione migliore possibile si è scelto di utilizzare dei prior che tengano separate le regioni di grigia corticale e profonda e, dal momento che la sequenza single-TI rientra in un protocollo che studia le demenze, è stato scelto di appoggiarsi al template *ADNI 3T*, che si basa proprio su soggetti colpiti da Alzheimer. All'interno di questo template sono disponibili 6 prior: CSF, materia grigia corticale, materia bianca, materia grigia profonda, tronco encefalico e cervelletto.

Al termine del processo, si utilizzano le sole mappe di probabilità a posteriori di grigia corticale, grigia profonda e cervelletto, per generare delle maschere che permettano di valutare la materia grigia di tutto l'encefalo. L'ultimo step di questa parte di pipeline, allora, consiste nel sogliare le mappe di probabilità per ottenere delle maschere binarie. A seguito di un'ispezione visiva, è stata scelta una soglia pari a 0.1.

Parcellizzazione

La parcellizzazione dell'encefalo consiste nella suddivisione dell'immagine strutturale in regione anatomiche. Nello specifico marca, attraverso l'assegnazione di un valor numerico, tutti i voxel dell'immagine pesata T_1 secondo una pre-esistente suddivisione in regioni. Ovviamente voxel indicizzati con lo stesso numero saranno voxel afferenti alla stessa regione anatomica.

Per realizzare la parcellizzazione si sfrutta ancora la suite ANTs. In particolare si utilizza lo script *antsMalfLabeling.sh*, che si basa sul particolare approccio multi atlante [20]. L'idea di fondo è quella di poter marcare i voxel dell'immagine di interesse sulla base di una serie di atlanti segmentati e marcati manualmente. Le operazioni svolte manualmente assicurano la correttezza della parcellizzazione e l'utilizzo di quella informazione come dato certo. L'algoritmo quindi confronta il volume T_1 da parcellizzare con tutti gli atlanti a disposizione e assegna ad ogni voxel il valore della classe che risulta più probabile. Nella nostra pipeline è stato utilizzato l'insieme di atlanti messo a disposizione dalla società MICCAI per il *Grand Challenge and Workshop on Multi-Atlas-Labeling 2012*, costituito dalle acquisizioni T_1 (brain) e dalle mappe di parcellizzazione (chiamate label) di 35 soggetti. Lo script di ANTs richiede in ingresso, oltre all'immagine da elaborare, tutte le coppie brain-label di cui si dispone.

Il risultato di questo processo viene infine ulteriormente affinato utilizzando le maschere di materia grigia estratte in fase di segmentazione per pulire i dati da possibili errori di marcatura. Data la complessità dell'operazione, infatti, si è notato che l'algoritmo tende ad inglobare, nelle regioni di materia grigia, voxel limitrofi che appartengono, nella maggior parte dei casi, al liquor.

Segmentazione delle lesioni della materia bianca

La segmentazione delle lesioni della materia bianca è uno step necessario per escludere dall'analisi regioni che potrebbero erroneamente essere incluse nella maschere di materia grigia. L'acquisizione su cui si lavora è la FLAIR pesata T_2 ,

in cui le lesioni appaiono iperintense rispetto al resto della sostanza bianca. Non esistendo software in grado di operare questo compito in modo automatico, è necessario il coinvolgimento di un neuroradiologo. Infatti, nella pipeline sviluppata, la segmentazione avviene per via manuale attraverso un software che semplifica la creazione della maschera. Il software utilizzato è Mango e permette di selezionare delle soglie, soggette specifiche, che aiutano l'operatore a segmentare le lesioni limitando la sensibilità della selezione. Essendo un'elaborazione manuale è chiaramente dispendiosa in termini di tempo ed è molto sensibile a tutto ciò che può condizionare l'operatore.

Nonostante sia un'informazione molto importante da includere nell'analisi, questo step della pipeline è stato lasciato comunque opzionale. Nel caso non si fosse nelle condizioni di disporre di una maschera delle lesioni, si potrebbe comunque giungere al dato finale.

5.5.1 Coregistrazione

La coregistrazione è quell'operazione algoritmica che consente di sovrapporre due immagini che stanno in due spazi diversi; permette, dunque, di inglobare l'informazione di diversi tipi di acquisizioni in un'unica immagine. Nella pipeline sviluppata, l'obiettivo è quello di portare le informazioni estratte dalle acquisizioni strutturali in spazio ASL. La strategia adottata è soggette specifica e consiste nel portare tutte le immagini necessarie nello spazio ASL del soggetto. Questo è possibile poichè, per il momento, si è deciso di non eseguire analisi voxelwise tra soggetti, analisi che richiederebbero la coregistrazione di tutte le acquisizioni di tutti i soggetti in unico spazio fissato (spazio del template). Lavorare nello spazio ASL del soggetto ha il grande vantaggio di non modificare minimamente l'informazione estratta dall'acquisizione ASL.

Per lo step di coregistrazione ci si appoggia ancora una volta alla suite ANTs, in particolare si sfrutta il comando *antsRegistration* [3]. Disponendo di tre tipi di acquisizione e dovendosi spostare nello spazio di una di queste, le coregistrazioni necessarie saranno due: FLAIR- T_1 e T_1 -ASL. Trattandosi di coregistrazioni tra

acquisizioni dello stesso soggetto, in entrambe le operazioni si è scelto di applicare solo trasformazioni *rigide* e *affini* e, trattandosi di acquisizioni a risoluzione o contrasti diversi, la metrica utilizzata è la *Mutual Information*, *MI*. Le due operazioni differiscono solamente per le immagini in ingresso:

- **FLAIR** su T_1 : l'immagine di riferimento è la strutturale pesata T_1 , mentre la FLAIR pesata T_2 è l'immagini mobile;
- **ASL** su T_1 : l'immagini di riferimento è ancora la strutturale pesata T_1 , mentre quella mobile è definita dal reciproco della T_{1t} calcolata in fase di calibrazione della sequenze M_0 . Dal momento che le acquisizioni ASL disponibili soffrono di perdita di segnale nelle primissime e nelle ultime fette del FOV si imposta anche una maschera che permette di non considerare queste fette.

Grazie alle trasformazioni così stimate, vengono poi portate in spazio ASL: l'immagine pesata T_1 , le mappe di probabilità di materia grigia e cervelletto, le maschere di parcellizzazione corrette con le maschere di grigia e la maschera delle lesioni della sostanza bianca.

5.6 Metodi di analisi della perfusione

L'ultima parte della pipeline creata è costituita dall'analisi a livello di ROI delle mappe di perfusione quantificate. Nello specifico, unendo le informazioni anatomiche alla mappe di CBF, si calcola il valor medio di quest'ultimo in ROI di sola materia grigia. La materia bianca non è stata per il momento considerata perchè si sa che il suo segnale in ASL è molto instabile e richiede, quindi, studi ulteriori.

Le regioni di interesse (ROI) su cui si valuta il CBF medio, ottenute a partire dal template per la parcellizzazione attraverso il raggruppamento delle sotto regioni esistenti, sono in totale 26. Ad eccezione del cervelletto, all'interno del quale l'acquisizione soffre di perdita di segnale a causa delle dimensioni del FOV, e della

regione che considera unitamente tutta la sostanza grigia del cervello, le altre regioni fanno riferimento ad 8 elementi per i quali si considera, oltre al valor medio complessivo, anche il valore riferito alla metà destra e a quella sinistra della ROI. I 10 elementi considerati sono: *materia grigia totale, cervelletto, corteccia, talamo, gangli della base, lobo frontale, lobo temporale, lobo limbico, lobo occipitale e lobo parietale*.

Indifferentemente dal tipo di sequenza ASL (single o multi-TI) per il calcolo del valor medio all'interno delle suddette ROI i due passi fondamentali sono: l'eliminazione dei valori di CBF negativi (non fisiologici) e l'effettivo calcolo di media e deviazione standard all'interno della ROI.

I dati della sequenza multi-TI permettono invece di rendere la valutazione più accurata eliminando, oltre ai dati negativi, anche quelli la cui stima non è affidabile.

5.6.1 Multi-TI: selezione dei voxel

Nelle mappe di CBF ottenute con la sequenza ASL multi-TI, la selezione dei voxel validi per il processo di valutazione del CBF medio, viene fatta attraverso l'eliminazione di quei voxel che hanno una stima di CBF non affidabile. Per la selezione ci si basa sulle mappe degli indici di precisione della stima, in particolare: mappa dei WRSS e mappe dei CV del CBF (no componente arteriale). Per quanto riguarda i WRSS, vengono eliminati quei voxel il cui valore di WRSS risulta superiore a 1 e uguale a 0, quindi i voxel selezionati per l'analisi sono quelli con $0 < WRSS < 1$. L'analisi dei CV, invece, richiede di valutarne la distribuzione per definire una soglia decisionale. In particolare, vengono eliminati quei voxel con CV superiore al 60-esimo percentile. Dunque i voxel selezionati sono quelli con $0 < CV < CV_{60-esimopercentile}$.

Attraverso queste selezioni, sia la sequenza di partenza single o multi-TI, si arriva al dato quantificato di CBF all'interno delle 26 ROI, punto che rappresenta il prodotto finale della pipeline sviluppata.

5.6.2 Analisi protocollo test-retest

Il protocollo test-retest, descritto dettagliatamente nella sezione 5.2.3, mette a disposizione sia i dati relativi alla sequenza single-TI che multi-TI. In questo lavoro sono stati studiati i soli dati single-TI per motivi di tempo. L'analisi dei risultati del protocollo, intesi come valori medi del CBF delle 26 regioni per ogni soggetto per le 4 ripetizioni dell'esperimento, sono stati studiati attraverso due metodiche:

- **Analisi di regressione lineare e correlazione:** utilizzata per confrontare tra di loro le varie sessioni di misura. Viene eseguita indipendentemente sulle due misure acquisite il giorno 1 (sessione 1), sulle due misure acquisite il giorno 2 (sessione 2) e sulle medie delle misure della prima giornata e della seconda (sessione 1 vs sessione2). Per ognuno di questi casi vengono stimati i parametri della retta di regressione (m e q) e il coefficiente di correlazione di Pearson (r^2). Considerando, ad esempio, la sessione 1, si studiano i valori calcolati su tutti i soggetti durante la prima misura della giornata contro i valori della seconda misurazione.
- **Valutazione ICC:** utilizzata per valutare la riproducibilità della misura del CBF medio all'interno ogni singola ROI. L'*Interclass Correlation Coefficient* ICC è un coefficiente che permette di valutare il grado di accordo, su di una stessa misura, di due rilevatori diversi, oppure dello stesso rilevatore con misurazioni fatte in più istanti diversi. Questo secondo caso è l'ambito in cui si trova il nostro dataset. L'equazione con cui si calcola questo coefficiente è:

$$ICC = \frac{MSB - MSW}{MSB + (k - 1) \cdot MSW}$$

dove MSB è la media al quadrato tra i soggetti (*mean square between subject*), MSW la media quadrata intra-soggetto (*mean square within-subject*)

e k è il numero di ripetizioni dell'acquisizione per soggetto. Alla fine dell'analisi si avrà un valore di ICC per ogni ROI. Questo dato viene inoltre correlato con il coefficiente di variazione della ROI in percentuale, che aggiunge informazioni sul grado di variabilità.

Capitolo 6

Risultati

In questo capitolo verranno presentati i risultati ottenuti con le elaborazioni e le analisi descritte nel Capitolo 5. Innanzitutto si porrà l'attenzione sulla pipeline sviluppata e saranno esposti i suoi prodotti principali per un soggetto esemplificativo. In seguito saranno presentati lo studio di riproducibilità del protocollo test-retest e i risultati del protocollo demenze.

6.1 Prodotti principali della pipeline

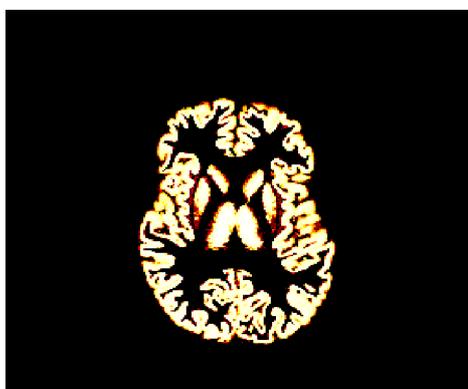
In questa sezione si riportano degli esempi di quelli che sono i prodotti principali della pipeline sviluppata. Il risultato del lavoro svolto per la generazione di questo flusso di lavoro è un'insieme di script che consente, date le sequenze descritte nel Capitolo 5, di ottenere in modo semi automatico dei dati direttamente usufruibili dal medico (valor di CBF). Infatti, la pipeline richiede di preparare manualmente solo i volumi di riferimento per lo step di correzione del movimento (single-TI) e la maschera per le lesioni della materia bianca (step per altro opzionale).

6.1.1 Elaborazione immagini strutturali

I prodotti principali del blocco di elaborazione delle immagini relative alle sequenze strutturali sono tre: le mappe di probabilità di appartenenza ai tessuti (segmen-

tazione), la mappa di parcellizzazione della sostanza grigia e la maschera delle lesioni della materia bianca. Gli esempi di seguito riportati servono per permettere una valutazione qualitativa delle operazioni implementate.

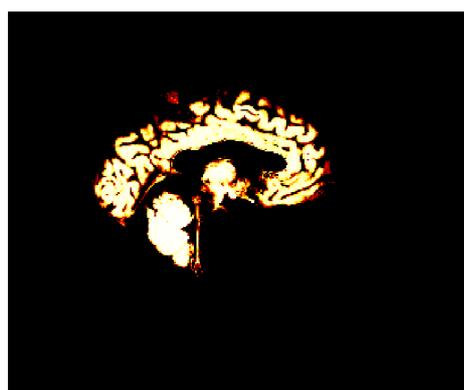
Di quanto prodotto dalla fase di segmentazione dei tessuti, ciò che risulta immediatamente utile sono le tre mappe di probabilità relative all'appartenenza dei voxel ai tessuti di grigia corticale, grigia profonda e cervelletto. Le immagini vengono fuse a formare un'unica mappa per la selezione dei voxel appartenenti alla sostanza grigia, poi sogliata con una soglia pari a 0.1 (Figura 6.1).



(a) *Piano assiale (fetta 153)*



(b) *Piano coronale*



(c) *Piano sagittale*

Figura 6.1: *Mappa di sostanza grigia per il soggetto 3 del protocollo test-retest.*

In Figura 6.1 è rappresentato un esempio della mappa di sostanza grigia per il soggetto 3 del protocollo test-retest (piano assiale: fetta 153). Si fa notare che la regione del cervelletto comprende sia la sostanza grigia che la bianca: la difficoltà

di segmentazione di questa regione ha suggerito di realizzare la separazione delle due componenti solo nella fase di parcellizzazione.

Un esempio del risultato che si ottiene attraverso lo script *antsMalfLabeling.sh* è visibile in Figura 6.2.

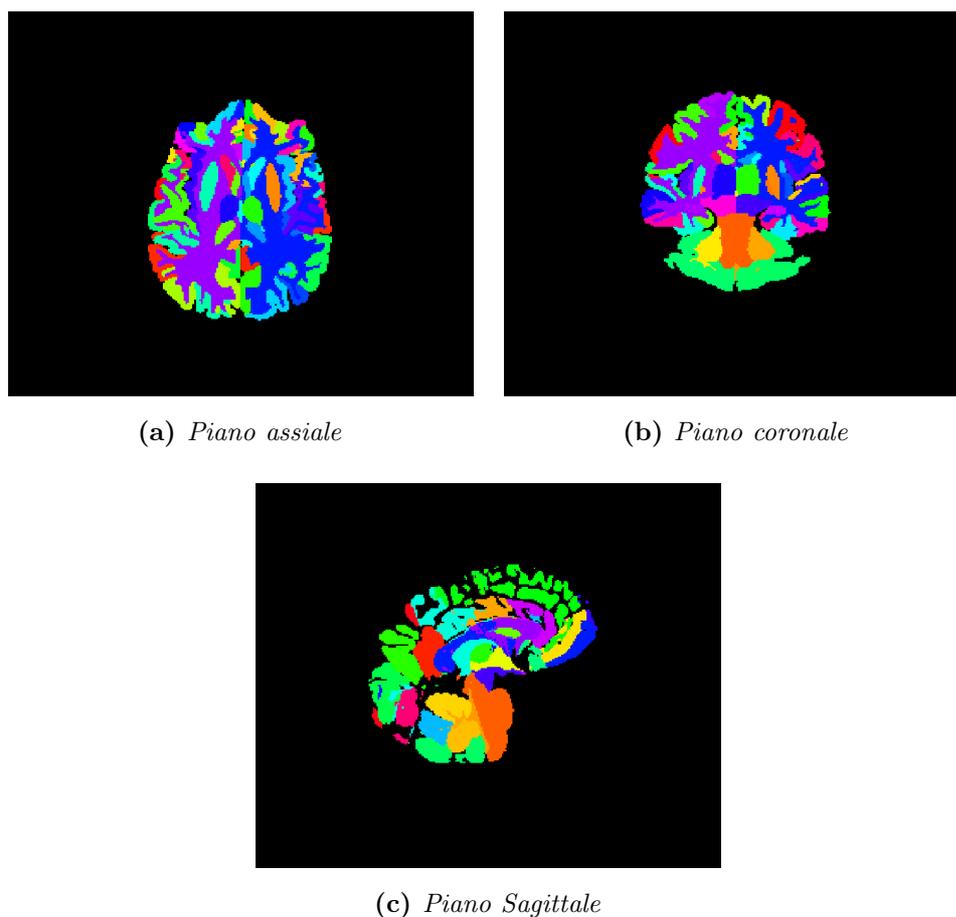


Figura 6.2: Esempio del risultato del processo di parcellizzazione con *antsMalfLabeling.sh* (soggetto 1 prot. test-retest).

Si riporta qui anche un esempio della maschera di parcellizzazione che si crea per la valutazione della perfusione all'interno della sostanza grigia: la maschera è il risultato dell'intersezione tra la mappa di appartenenza alla materia grigia e la maschera di parcellizzazione di tutto l'encefalo. In Figura 6.3 è riportato un esempio del risultato di questa intersezione. In riferimento a quanto detto per la mappa di appartenenza alla materia grigia, si vuole far notare l'avvenuta

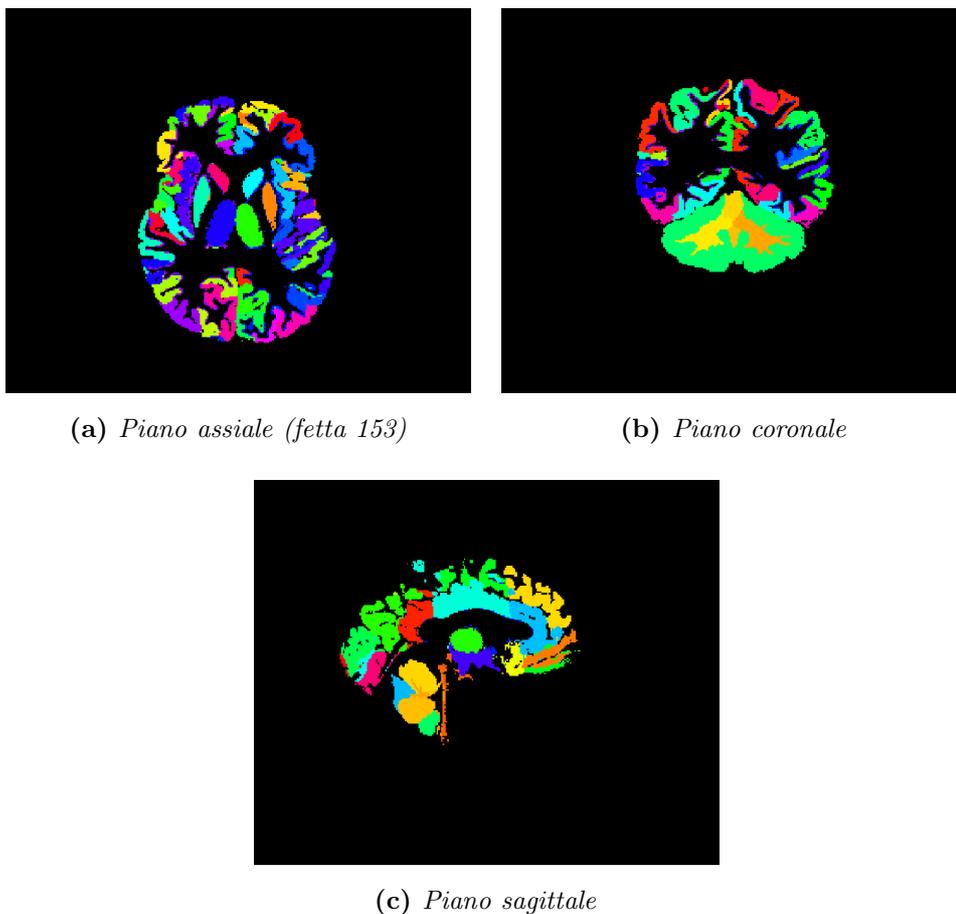


Figura 6.3: *Maschera di parcellizzazione della sostanza grigia per il soggetto 3 del protocollo test-retest.*

suddivisione delle componenti del cervelletto. Sul piano coronale, pannello b) Figura 6.3, si può osservare la suddivisione tra componente esterna del cervelletto, sostanza grigia, e quella interna, sostanza bianca.

La fase di segmentazione delle lesioni della materia bianca, come spiegato in sezione 5.5, chiama in causa le immagini acquisite con protocollo FLAIR. In Figura 6.4 si può vedere un esempio della ROI selezionata manualmente con il software Mango. Si presenta qui anche la maschera delle lesioni già coregistrata sull'immagine T_1 , immagine di riferimento per le informazioni strutturali (Figura 6.5). Le intersezioni tra questa maschera e quella di parcellizzazione della sostanza grigia indicano voxel di sostanza bianca erroneamente categorizzati come grigia a causa delle lesioni. Queste saranno quindi escluse dall'analisi del CBF.

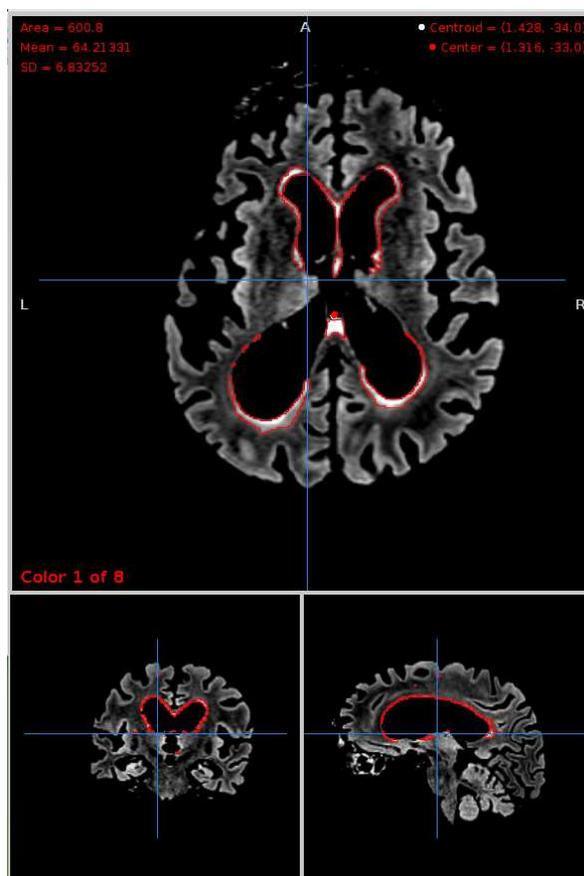


Figura 6.4: Segmentazione delle lesioni della materia bianca eseguita con Mango. Le regioni incluse all'interno delle linee rosse rappresenta proprio la ROI corrispondente alla maschera delle lesioni. In questo soggetto (sogg. 1 prot. demenze) si può notare una marcata lesione periventricolare.

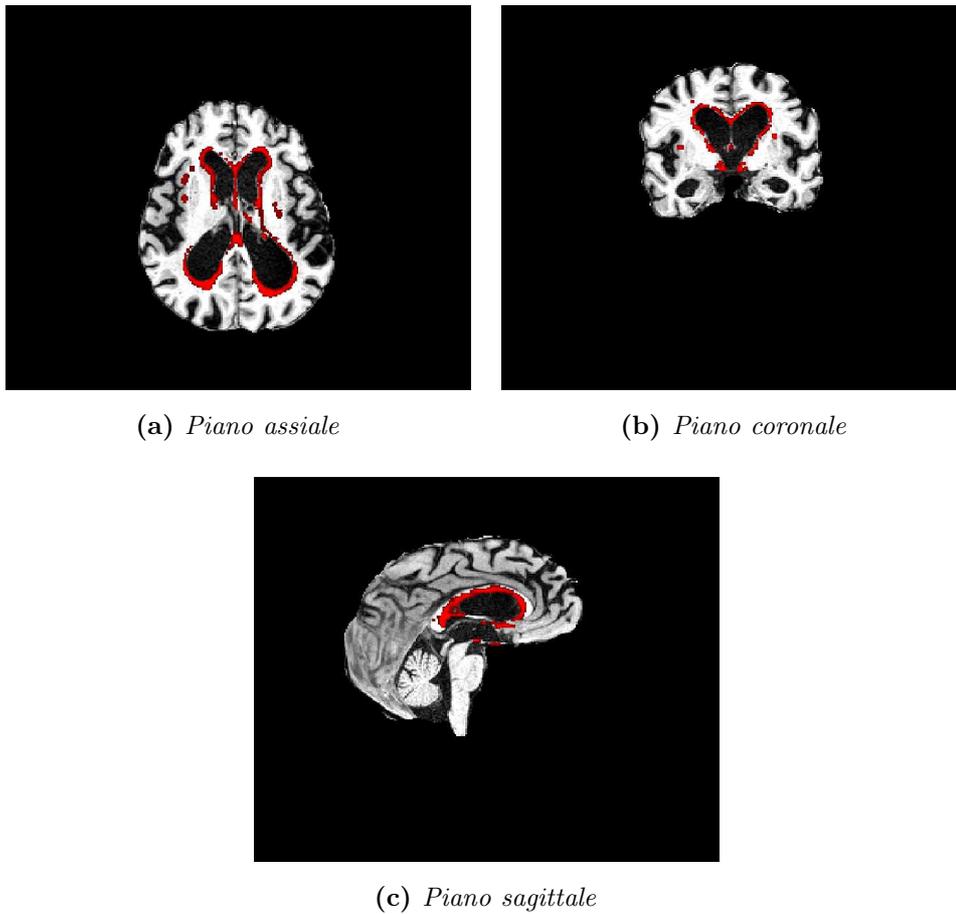


Figura 6.5: Maschera delle lesioni della materia bianca (in rosso) sopra immagini strutturale pesata T_1 . Soggetto 1 protocollo demenze, soggetto patologico afflitto da Alzheimer. Si nota chiaramente la presenza di atrofia cerebrale.

6.1.2 Elaborazione immagini ASL

I prodotti principali del blocco di elaborazione delle immagini ASL, chiaramente, sono le mappe quantificate di CBF e, per la versione multi-TI, la mappa del tempo di arrivo del tracciante (AAT) e la stima della componente intra-vascolare arteriale (*arterial Blood Volume, aBV*).

Single TI

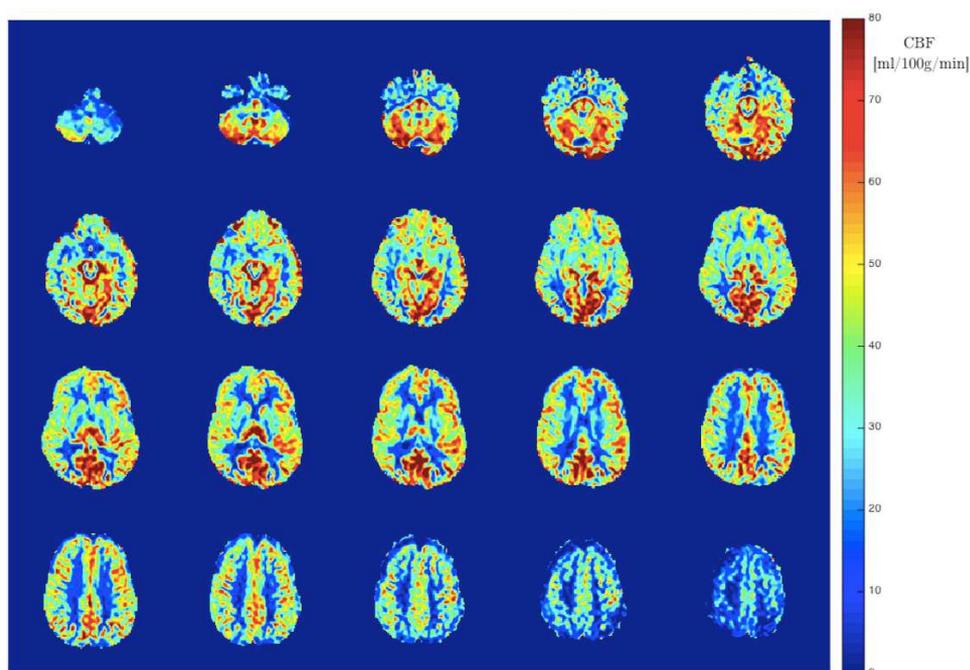


Figura 6.6: Mappa di CBF single-TI del soggetto 3 del protocollo test-retest vista sul piano assiale.

In Figura 6.6 è riportata la mappa quantificata di CBF del soggetto 3 del protocollo test-retest sequenza single-TI, prima acquisizione. La colorbar a lato evidenzia il range fisiologico delle stime, mentre si può notare come la stima della prima e delle ultime due slice sia compromessa.

Multi TI

Uno degli aspetti più interessanti della sequenza multi-TI è la possibilità di stimare la componente di segnale relativa al sangue marcato ancora racchiuso all'interno delle grandi arterie. L'algoritmo di calcolo ne restituisce una maschera che permette di valutare la bontà della stima. In Figura 6.7 è illustrato un esempio di questa maschera. Confrontando questo esempio con quanto riportato in Figura 5.4 si apprezza la bontà del risultato di questo processo. In particolare si può notare come il processo riesca fornire stime accettabili, che ricordano la forma del circolo di willis, visibile nell'immagine TOF di Figura 6.8.

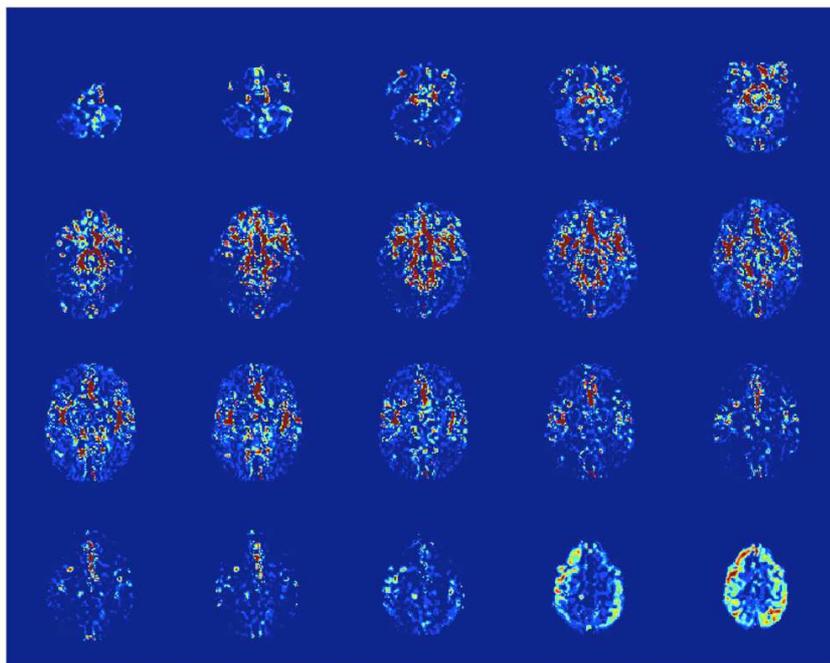


Figura 6.7: *Mappa della componente intra-vascolare arteriale stimata dai dati multi-TI del soggetto 3 protocollo test-retest. La componente arteriale è rappresentata dalla parte in rosso scuro; si può vedere come questa segue bene il circolo di willis, comparto principale delle arterie cerebrali*

Il risultato finale di stima della mappa di CBF nell'esperimento ASL multi-TI è esemplificato in Figura 6.9. Considerazioni simili a quelle fatte per il caso single-TI posso essere fatte anche per questa mappa. Si nota che qualità e range di valori delle due mappe non si equivalgono.



Figura 6.8: Immagine di risonanza magnetica ottenuta con sequenza TOF a livello del poligono di willis.

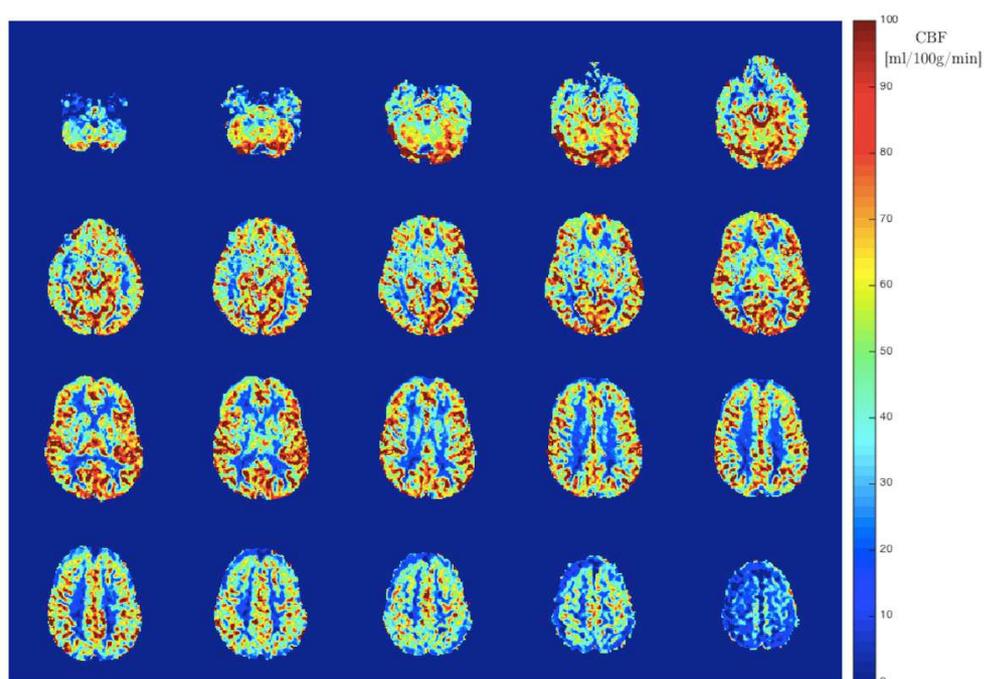


Figura 6.9: Mappa di CBF multi-TI del soggetto 3 del protocollo test-retest vista sul piano assiale.

Per questo tipo di sequenza la pipeline restituisce un altro importantissimo prodotto: la mappa della stima del tempo di arrivo del bolo (AAT). Anche per questa mappa la colorbar conferma un range fisiologico di valori ([20 80]) ed è possibile osservare la simmetria tra gli emisferi con cui il parametro si distribuisce.

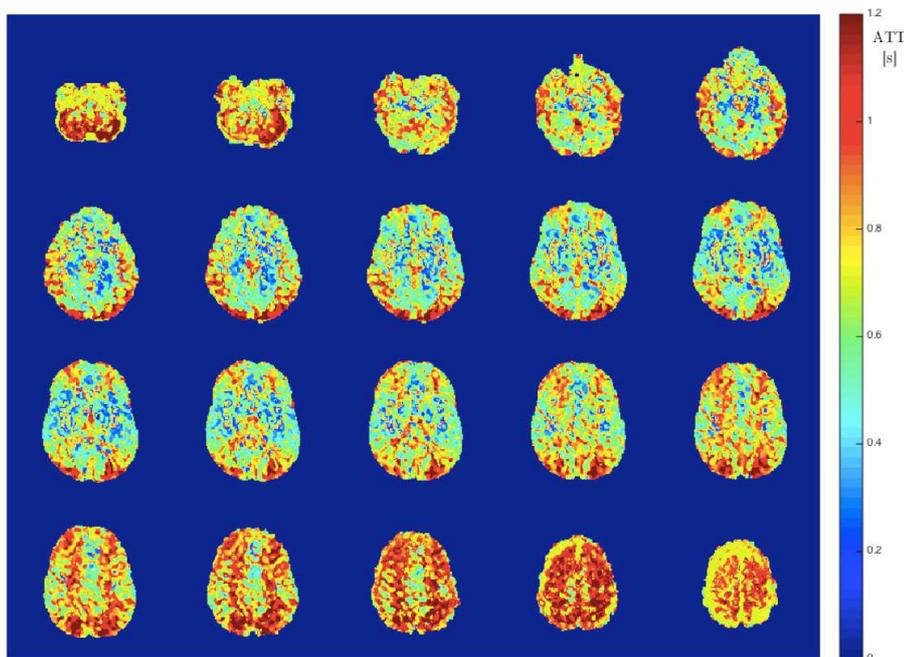


Figura 6.10: Mappa del AAT (Arterial Arrival Time) del soggetto 3 del protocollo test-retest vista sul piano assiale.

6.1.3 Coregistrazione

Con le operazioni di coregistrazione, si portano in spazio ASL tutte le immagini legate al processo di valutazione della perfusione all'interno delle ROI stabilite. I prodotti principali di questo step, dunque, sono rappresentati dalla maschera delle lesioni di sostanza bianca coregistrata in spazio T_1 e dalla maschera di parcellizzazione di grigia coregistrata in spazio ASL. Dal momento che della prima è già stato riportato un esempio nel corso di questo capitolo (Figura 6.5), si mostra qui un esempio di maschera di parcellizzazione di grigia in spazio ASL (Figura 6.11). Le fette esemplificative riportate in Figura 6.11 evidenziano come il risultato del processo di coregistrazione possa considerarsi più che soddisfacente. Si può notare come sia corteccia che aree della grigia profonda riescano a seguire le intensità della mappa di CBF.

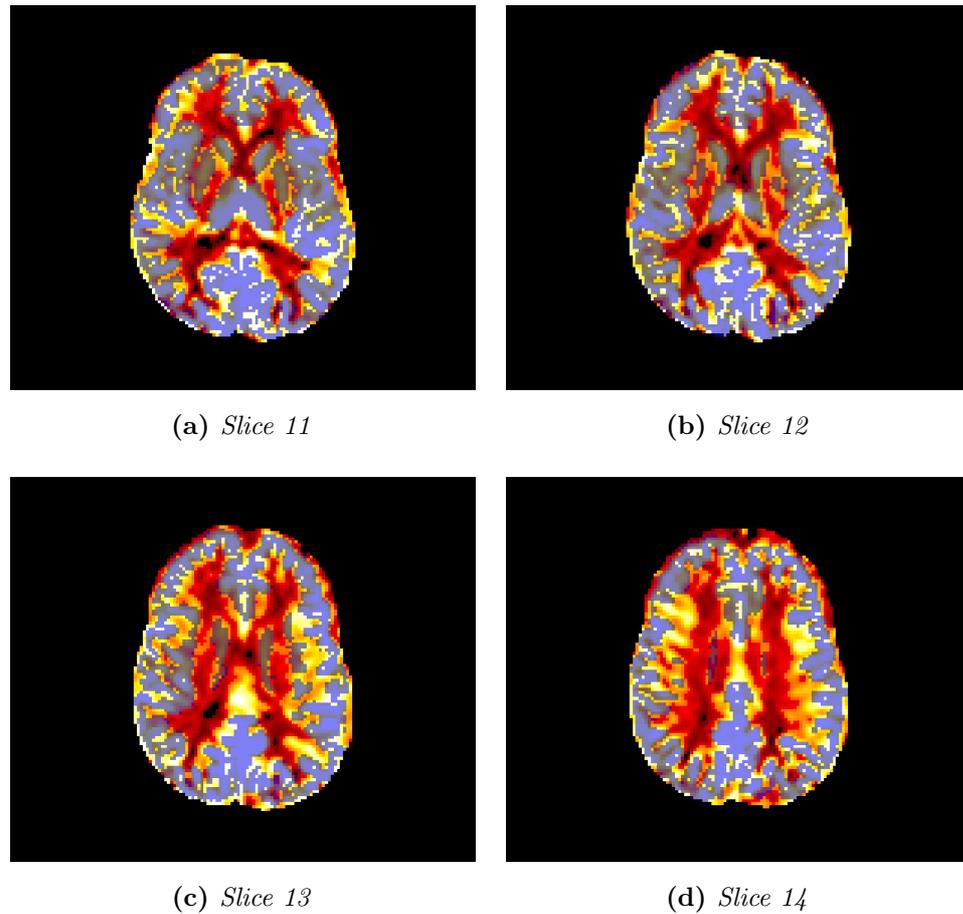


Figura 6.11: Esempio di coregistrazione: overlay mappa di CBF (in rosso)-maschera di parcellizzazione della grigia (in blu) in spazio ASL del soggetto 3 protocollo test-retest.

6.1.4 Analisi a livello di ROI

L'analisi della perfusione a livello di ROI è l'ultimo step della pipeline, di conseguenza i prodotti principali di questa fase sono i valori medi del CBF calcolati sulle 26 regioni d'interesse. Le grandi differenze che intercorrono tra l'approccio single-TI e multi-TI, sia modellistiche che a livello di elaborazioni, si traducono in valori finali differenti. Di seguito si riportano i risultati finali della pipeline per il soggetto 3 del protocollo test-retest sia per la sequenza single-TI che multi-TI.

Single TI

I valori medi di CBF all'interno delle regioni di interesse per i dati dell'approccio a singolo TI sono riportati in Tabella 6.1. In Figura 6.12 si può osservare il grafico a barre risultante da tale tabella.

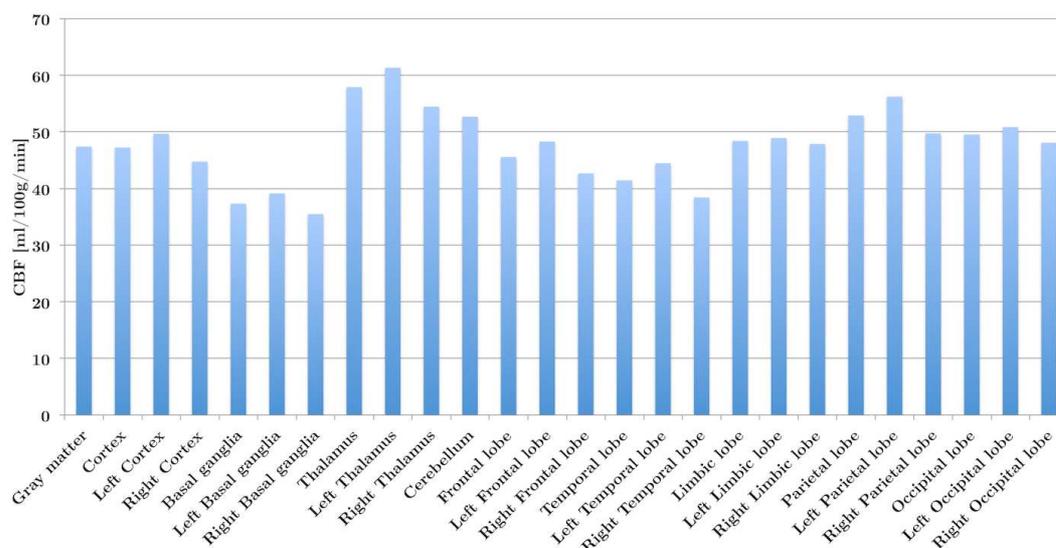


Figura 6.12: Grafico a barre dei valori medi di CBF delle 26 regioni di interesse per i dati single-TI del soggetto 3 del protocollo test-retest, prima misurazione.

Come dato di riferimento per una prima valutazione di questi risultati si può concentrare l'attenzione sulla ROI della materia grigia di tutto l'encefalo (prima colonna della grafico, *Gray matter*). Per questa ROI il CBF medio è pari a $47,42 \pm 16,76 \left[\frac{mL}{100g\ min} \right]$. Rispetto a quanto riportato in letteratura, questo dato risulta leggermente sottostimato [29]. Osservando il grafico, la stessa considerazione vale anche per le altre ROI.

Multi TI

I valori finali per la sequenza multi-TI sono, anch'essi, riportati in Tabella 6.1 e in Figura 6.13 si può vedere il grafico a barre risultante da questa. In riferimento alla stessa regioni di grigia vista sopra, il valor medio di CBF nel caso multi-TI è $68,40 \pm 26,81 \left[\frac{mL}{100g\ min} \right]$. IL risultato, dunque è maggiormente in linea con

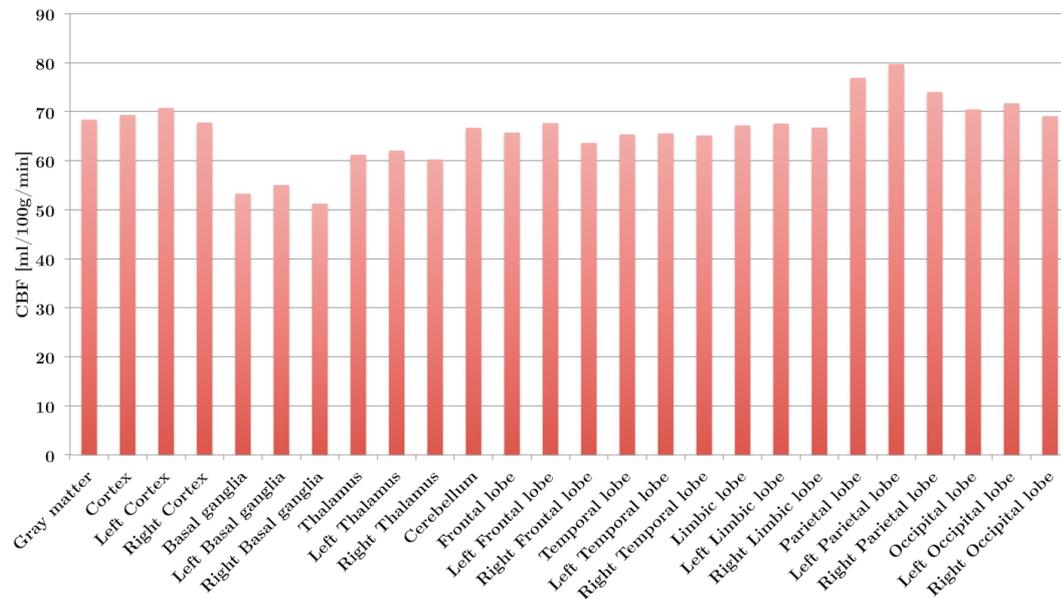


Figura 6.13: Grafico a barre dei valori medi di CBF delle 26 regioni di interesse per i dati multi-TI del soggetto 3.

i valori di letteratura che, ricordiamo, attesta il valore medio di CBF in grigia a $60 \left[\frac{mL}{100g \text{ min}} \right]$. Rispetto ai valori ottenuti con la sequenza single-TI, inoltre, questi risultano più uniformi. In particolare, si evidenzia un differente andamento del CBF nelle ROI della materia grigia profonda: a differenza di quanto avviene nell'approccio multi-TI, infatti, nella sequenza a singolo TI i valori aumentano sensibilmente rispetto alle altre ROI.

6.2 Risultati protocolli di acquisizione

Come illustrato nel Capitolo 5, dopo lo sviluppo delle pipeline il lavoro presso il *Brain MRI 3T Mondino Research Center* è proseguito nell'ottica di validare le sequenze disponibili e il processo di quantificazione sviluppato e di analizzare i dati relativi alle acquisizioni del protocollo demenze. In questa sezione verranno esposti i risultati relativi a questi ulteriori step di analisi.

ROI	Single TI		Multi TI	
	Media	SD	Media	SD
Gray matter	47,42	16,76	68,40	26,81
Cortex	47,26	16,68	69,34	27,37
Left Cortex	49,68	16,94	70,78	26,54
Right Cortex	44,76	16,03	67,79	28,15
Basal ganglia	37,35	8,35	53,29	16,46
Left Basal ganglia	39,15	8,20	55,05	16,00
Right Basal ganglia	35,50	8,12	51,25	16,74
Thalamus	57,91	19,36	61,23	20,69
Left Thalamus	61,34	20,95	62,09	16,97
Right Thalamus	54,47	16,95	60,28	24,14
Cerebellum	52,70	16,06	66,73	19,14
Frontal lobe	45,59	11,57	65,76	22,50
Left Frontal lobe	48,31	11,16	67,68	22,42
Right Frontal lobe	42,69	11,30	63,64	22,40
Temporal lobe	41,46	14,86	65,38	28,09
Left Temporal lobe	44,48	15,41	65,58	25,74
Right Temporal lobe	38,43	13,61	65,18	30,32
Limbic lobe	48,42	14,51	67,21	24,29
Left Limbic lobe	48,92	14,38	67,59	23,65
Right Limbic lobe	47,89	14,64	66,78	24,98
Parietal lobe	52,91	20,63	76,92	30,41
Left Parietal lobe	56,25	21,11	79,73	27,28
Right Parietal lobe	49,75	19,65	74,02	33,08
Occipital lobe	49,57	17,63	70,46	28,46
Left Occipital lobe	50,86	18,44	71,73	30,18
Right Occipital lobe	48,10	16,54	69,10	26,42

Tabella 6.1: Valori medi di CBF all'interno delle ROI fissate per i dati single e multi-TI del soggetto 3 del protocollo test-retest. Si può notare la differenza tra le stime nei due casi: la quantificazione single-TI mostra valori più bassi sia di CBF, leggera sottostima, sia di SD.

6.2.1 Studio di riproducibilità

Lo studio di riproducibilità, basato sul protocollo test-retest, è stato eseguito solo sulla sequenza ASL single-TI. I 6 soggetti, dopo aver verificato che non avessero lesioni in sostanza bianca, sono stati tutti utilizzati per le analisi. L'analisi di regressione effettuata per gruppi di misurazioni ha restituito i valori auspicati all'inizio dello studio. La Tabella 6.2 riassume i valori di coefficiente angolare e intercetta della retta di regressione lineare e del coefficiente di correlazione di Pearson per i tre gruppi di confronto: misurazioni del giorno 1 (sessione 1), misurazioni del giorno 2 (sessione 2) e media delle misurazioni del giorno 1 contro media delle misurazioni del giorno 2 (sessione 1 vs 2).

Sessione	Coef. angolare	Intercetta	Coef. di correlazione
	m	q	r^2
1	0,95	3,35	0,95
2	1,01	0,97	0,89
1vs2	0,84	6,99	0,90

Tabella 6.2: Rette di regressione lineare e coefficiente di correlazione di Pearson per i dati delle diverse sessioni a confronto.

La correlazione tra tutti i gruppi di misurazione è molto elevata, indice di una buona ripetibilità della misura. Il dato è confermato dai coefficienti dalle rette di regressione che sono illustrate in Figura 6.14.

Si vede come l'andamento delle rette dei dati intra-sessione sia molto vicino alla retta della bisettrice del primo e terzo quadrante (situazione ideale $m = 1$, $q = 0$). Anche la retta inter-sessione, si attesta in un range accettabile di valori.

La valutazione della riproducibilità della quantificazione del dato ASL restituisce anch'essa dati molto buoni. In Tabella 6.3 sono riassunti i valori medi e le deviazioni standard di CBF nelle singole ROI lungo tutte le ripetizioni e le medie

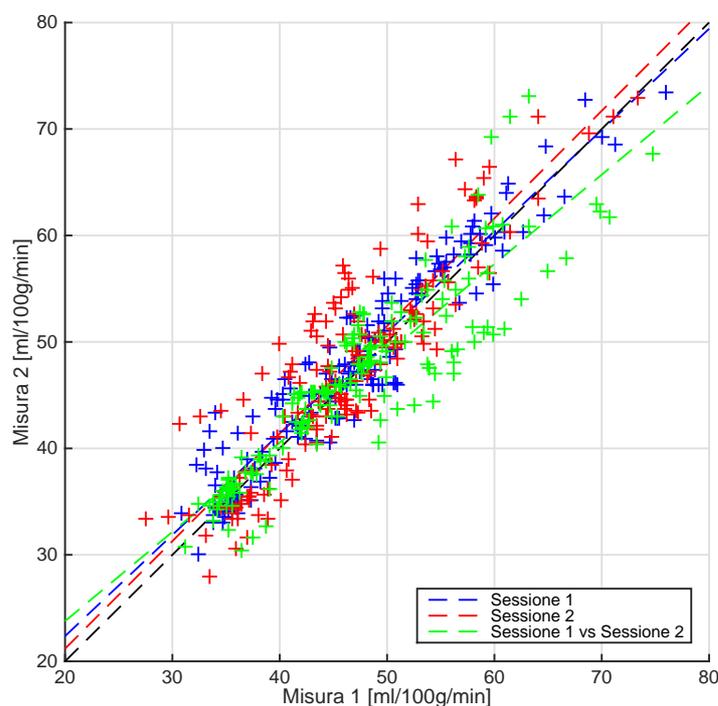


Figura 6.14: Scatter plot dei valori medi di CBF a livello di ROI ottenuto con il confronto tra le misurazioni della sessione 1 (blu), della sessione 2 (rosso) e tra le sessioni (verde). In aggiunta, dei corrispettivi colori, le rette di regressione ricavate dai dati.

dei soggetti, i corrispettivi CV in percentuale, i valori di ICC e corrispettivo p value, calcolati sui valori medi e sui valori medi pesati per le deviazioni standard e infine i valori medi e le deviazioni standard calcolati, però, sui voxel di tutti i soggetti e tutte le prove.

I valori di ICC calcolati sulle medie semplici, elevati per la maggior parte delle ROI, rivelano due regioni per cui la riproducibilità sembra essere compromessa: i gangli della base e il lobo limbico. I valori di ICC di queste due regioni, considerando la ROI completa, sono $ICC = 0,5$ per la prima e $ICC = 0,38$ per la seconda. Tuttavia, prendendo in considerazione il valore di questo coefficiente calcolato sulle medie pesate, le sole ROI che rimangono a valori non del tutto soddisfacenti sono quelle riferite ai gangli della base (tra 0,67 e 0,76, boarderline, Figura 6.15). Il dato è confermato dal coefficiente di variazione CV: questo si

ROI	CBF ¹		CV [%]	ICC _{medie}		ICC _{medie/sd}		CBF _{allvox} ¹	
	Media	SD		coef.	p-value	coef.	p-value	Media	SD
Gray matter	46,33	0,71	2	0,84	0	0,96	0	46,31	19,04
Cortex	46,10	0,69	1	0,82	0	0,97	0	46,10	18,83
Left Cortex	46,31	0,64	1	0,83	0	0,98	0	46,33	18,23
Right Cortex	45,88	0,80	2	0,82	0	0,93	0	45,85	19,42
Basal ganglia	37,77	1,66	4	0,50	0,005	0,75	0	37,93	10,62
Left Basal ganglia	39,01	1,55	4	0,53	0,003	0,67	0	39,18	10,42
Right Basal ganglia	36,50	1,86	5	0,46	0,009	0,76	0	36,67	10,67
Thalamus	58,72	1,14	2	0,79	0	0,95	0	58,62	21,65
Left Thalamus	58,98	1,26	2	0,66	0	0,94	0	58,90	20,65
Right Thalamus	58,44	1,06	2	0,87	0	0,94	0	58,34	22,61
Cerebellum	49,23	0,61	1	0,94	0	0,98	0	48,69	20,94
Frontal lobe	43,25	0,89	2	0,82	0	0,94	0	43,23	12,84
Left Frontal lobe	44,20	0,83	2	0,83	0	0,94	0	44,19	12,85
Right Frontal lobe	42,29	0,97	2	0,79	0	0,92	0	42,27	12,77
Temporal lobe	41,08	0,78	2	0,78	0	0,96	0	41,15	16,91
Left Temporal lobe	41,24	0,53	1	0,81	0	0,97	0	41,36	16,98
Right Temporal lobe	40,93	1,21	3	0,75	0	0,95	0	40,94	16,84
Limbic lobe	47,32	0,89	2	0,38	0,023	0,85	0	47,34	16,06
Left Limbic lobe	48,49	0,76	2	0,32	0,045	0,86	0	48,52	16,03
Right Limbic lobe	46,03	1,06	2	0,44	0,011	0,81	0	46,05	16,00
Parietal lobe	53,11	0,51	1	0,88	0	0,93	0	53,10	23,91
Left Parietal lobe	52,65	0,41	0,8	0,85	0	0,95	0	52,84	22,49
Right Parietal lobe	53,60	0,65	1	0,90	0	0,89	0	53,35	25,19
Occipital lobe	47,51	0,80	2	0,81	0	0,95	0	47,39	19,73
Left Occipital lobe	47,27	0,93	2	0,83	0	0,97	0	47,01	19,20
Right Occipital lobe	47,77	0,70	1	0,76	0	0,92	0	47,81	20,28

Tabella 6.3: Tabella riassuntiva per la valutazione dell'Intraclass Correlation Coefficient (ICC). I dati contenuti si riferiscono alle ROI lungo tutti i soggetti e tutte le ripetizioni ($1 \left[\frac{mL}{100g \text{ min}} \right]$).

attesta attorno al 1 – 2 % in tutte le ROI (compreso il lobo limbico) ad eccezione dei gangli della base, dove sale al 4 – 5 %.

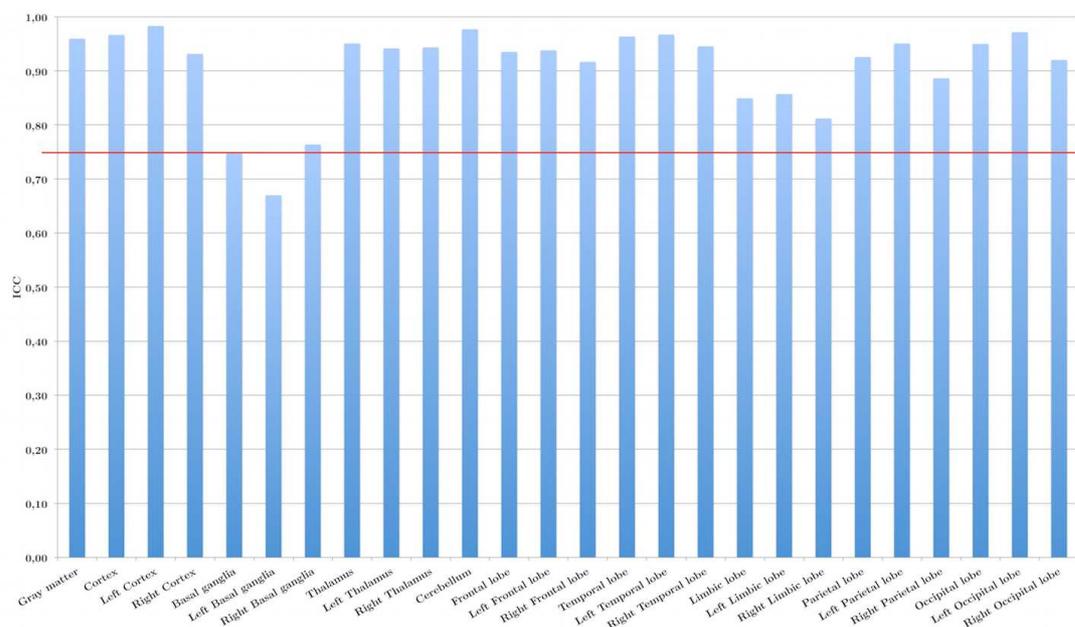


Figura 6.15: Grafico a barre del valore ICC pesato (media/sd) per tutte le ROI lungo soggetti e ripetizioni. La linea rossa individua il valore di 0,75, valore indicativo di minimo per ripetibilità accettabile.

6.2.2 Protocollo demenze

I dati dei soggetti sottoposti al protocollo demenze con immagini ASL single-TI valide per un'analisi, sono stati elaborati con lo scopo di effettuare un confronto tra i valori medi dei tre gruppi di interesse. Degli 11 soggetti del data-set presentato nella sezione 5.1 solo 10 sono entrati in questa fase di post-processing. Per uno dei quattro soggetti AD, infatti, la quantificazione ha restituito valori tanto elevati (superiori ai $100 \left[\frac{ml}{100g \cdot min} \right]$) da far sospettare una possibile compromissione del dato e da definirne l'esclusione. Sui soggetti selezionati si è calcolato media e deviazione standard per ROI sui soggetti costituenti ogni gruppo. Il lavoro, in questa sede, vuole dare una prima valutazione qualitativa dei risultati del protocollo. In Tabella 6.4 sono riportati i valori per ognuno dei tre gruppi. Per facilitarne la lettura si effettua un confronto mediante grafici a barre: in Figura 6.16 sono riportati i valori da riga 2 a riga 5, in Figura 6.17 i valori da riga 6 a riga 12 e, infine, in Figura 6.18 i valori da riga 13 a riga 27. Ad una prima valutazione i valori trovati rispecchiano le aspettative: i valori di perfusione per i gruppi AD e

ROI	HC CBF ¹		AD CBF ¹		VaD CBF ¹	
	Media	SD	Media	SD	Media	SD
Lesion load	601	289,35	2780	1496,86	3543,5	14,85
Gray matter	42,44	7,93	35,91	8,69	35,29	2,56
Cortex	41,73	8,24	34,27	8,01	33,26	2,93
Left Cortex	41,29	8,52	32,23	7,21	34,44	4,69
Right Cortex	42,15	8,13	36,10	8,83	32,06	1,13
Basal ganglia	42,21	10,65	53,76	16,23	42,07	0,72
Left Basal ganglia	42,33	11,34	54,15	17,07	42,21	1,73
Right Basal ganglia	42,11	10,13	53,35	16,00	42,02	3,07
Thalamus	59,53	18,47	58,12	23,67	48,32	5,81
Left Thalamus	60,65	18,70	54,07	21,94	52,52	8,93
Right Thalamus	58,41	18,28	62,37	25,85	44,03	2,80
Cerebellum	42,71	8,83	36,55	8,79	45,48	1,18
Frontal lobe	41,52	8,55	32,30	10,34	32,48	0,35
Left Frontal lobe	41,49	8,98	30,66	9,70	32,80	2,19
Right Frontal lobe	41,57	8,44	33,82	11,01	32,16	1,50
Temporal lobe	41,22	10,06	34,33	7,75	35,25	1,99
Left Temporal lobe	40,94	10,81	31,94	5,56	35,39	3,11
Right Temporal lobe	41,45	9,51	36,26	9,86	35,14	0,95
Limbic lobe	50,31	12,18	44,62	6,44	41,92	0,78
Left Limbic lobe	50,47	12,10	45,55	6,43	41,72	4,01
Right Limbic lobe	50,15	12,35	43,73	6,67	41,92	2,83
Parietal lobe	42,91	8,08	37,31	7,75	33,89	3,79
Left Parietal lobe	41,45	8,31	33,61	6,47	37,87	6,53
Right Parietal lobe	44,25	8,19	40,62	9,10	30,03	1,46
Occipital lobe	38,13	7,75	27,65	8,43	27,99	8,11
Left Occipital lobe	38,02	8,27	26,45	8,11	28,73	8,29
Right Occipital lobe	38,27	7,45	28,75	8,75	27,13	7,83

Tabella 6.4: Tabella riassuntiva analisi valori medi di CBF per i gruppi del protocollo demenze.

VaD sono più bassi di quelli del gruppo di controllo. Per il gruppo AD, tuttavia, le regioni di grigia profonda (Figura 6.17) presentano valori medi ben al di sopra delle aspettative. Non si vedono, invece, regioni nelle quali la perfusione media tra

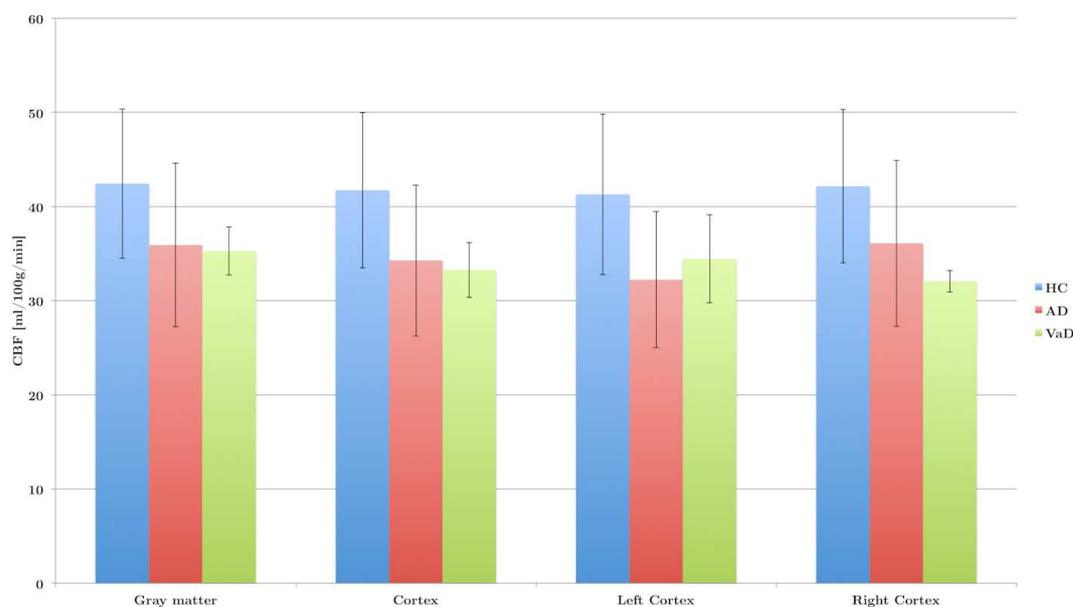


Figura 6.16: Grafico a barre dei valori medi si CBF per i tre gruppi di soggetti: HC controlli sani, AD patologici Alzheimer, VaD patologici vascolari/degenerativi.

AD e VaD sia diversificato. Dato di conferma della scarsa numerosità del data-set sono le deviazioni standard, che presentano anche un andamento molto variabile: molto elevato per il gruppo degli Alzheimer, più contenuta invece per i vascolari.

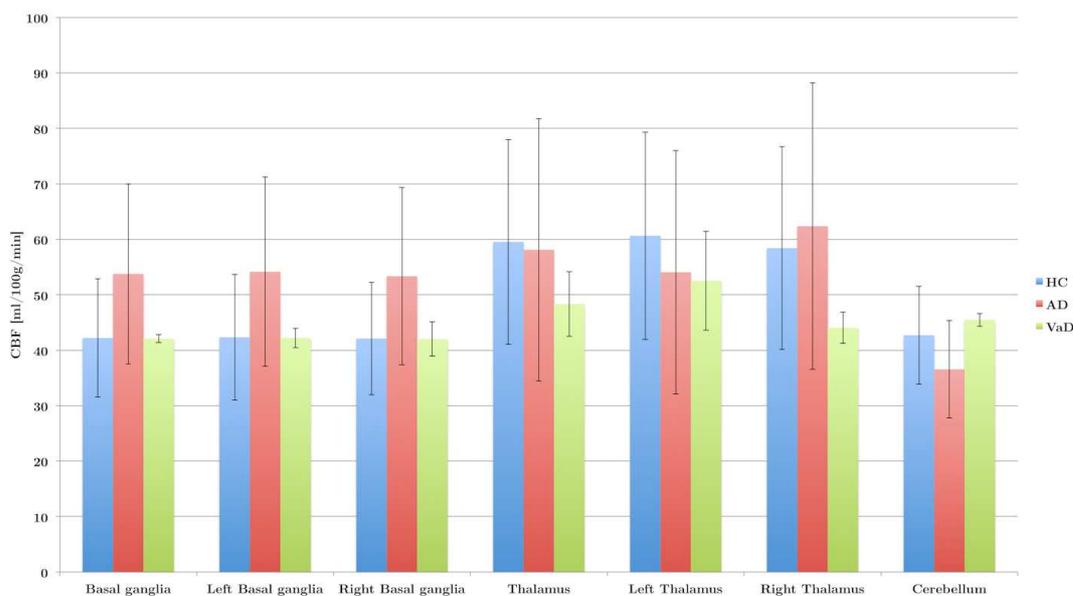


Figura 6.17: Grafico a barre dei valori medi si CBF per i tre gruppi di soggetti: HC controlli sani, AD patologici Alzheimer, VaD patologici vascolari/degenerativi.

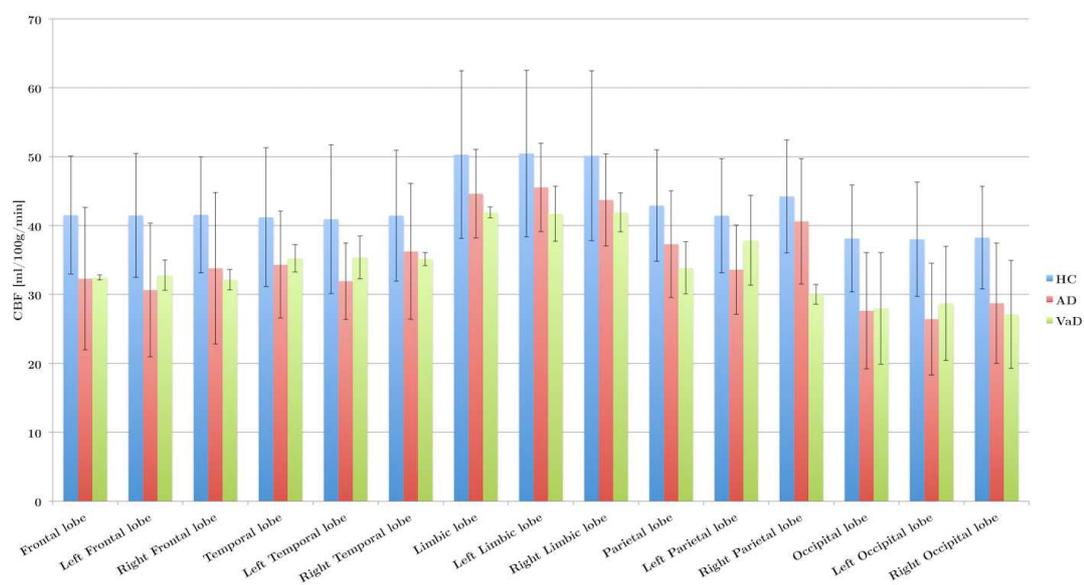


Figura 6.18: Grafico a barre dei valori medi di CBF per i tre gruppi di soggetti: HC controlli sani, AD patologici Alzheimer, VaD patologici vascolari/degenerativi.

Capitolo 7

Discussioni

In questo capitolo verranno discussi i punti chiave della pipeline implementata e i risultati presentati in precedenza. Prima di affrontare le criticità della pipeline, tuttavia, si porrà l'attenzione sulle sequenze ASL a disposizione.

7.1 Sequenze ASL: originale Siemens versus ottimizzate

Le specifiche tecniche delle sequenze ASL originale Siemens e single-TI ottimizzata sono riportate in Tabella 7.1. Come si può vedere, la sequenza originale Siemens restituisce 4 immagini, due label e due control, a due istanti di campionamento, con una risoluzione sul piano assiale molto inferiore a quella della versione ottimizzata. Inoltre, lo scanner acquisisce una sola ripetizione per ogni TI non permettendo un processo di media per la riduzione del rumore gaussiano. Nonostante il z-blurring in questa sequenza sia minore, il read-out ha un numero di segmenti 3 volte superiore rispetto alla sequenza ottimizzata, la qualità delle mappe di CBF che si possono ottenere è molto bassa. In Figura 7.1 è possibile vedere un esempio di queste mappe, $TI = 2140 [ms]$. La sequenza originale, oltretutto, non è corredata da nessuna sequenza supplementare per il calcolo dei parametri di calibrazione e, dal momento che implementa impulsi di BS, non è

Specifiche	Sequenza ASL originale	Sequenza ASL ottimizzata
Labeling	FAIR (PASL)	FAIR (PASL)
Read-out	3D GRASE segmented	3D GRASE segmented
Numero segmenti	12	4
Numero TI	2	1
TI	1990/2140 [ms]	2020 [ms]
Durata del bolo	700[ms] (Q2TIPS)	700[ms] (Q2TIPS)
BS	si	si
EPI factor	21	31
TR	5000 [ms]	3500 [ms]
TE	36, 34 [ms]	21, 1 [ms]
Measurements (medie)	1	8
FOV	192 [mm]	240 [mm]
Spessore slice	3, 00 [mm]	5, 25 [mm]
Dimensione voxel	27 [mm ³]	19, 13 [mm ³]
Dimensioni matrice	3, 0 × 3, 0 × 3, 0 [mm]	1, 9 × 1, 9 × 5, 3 [mm]
Tempo di acquisizione	4, 05 [min]	9, 27 [min]

Tabella 7.1: Specifiche tecniche delle sequenze ASL originale Siemens e ASL ottimizzata single-TI.

nemmeno possibile utilizzare l'immagine control come M_0 . In altre parole, le stime di CBF non sono stime assolute, ma bensì relative, dunque non è possibile confrontare direttamente valori di CBF di soggetti diversi. I valori riportati nella colorbar di Figura 7.1 danno conferma di questo fatto. In aggiunta a quanto detto fin'ora sulle immagini estraibili dalla sequenza originale Siemens, c'è da sottolineare l'impossibilità di coregistrare con successo le immagini anatomiche in spazio ASL. Infatti, la bassa qualità di immagini e mappe porta gli algorit-

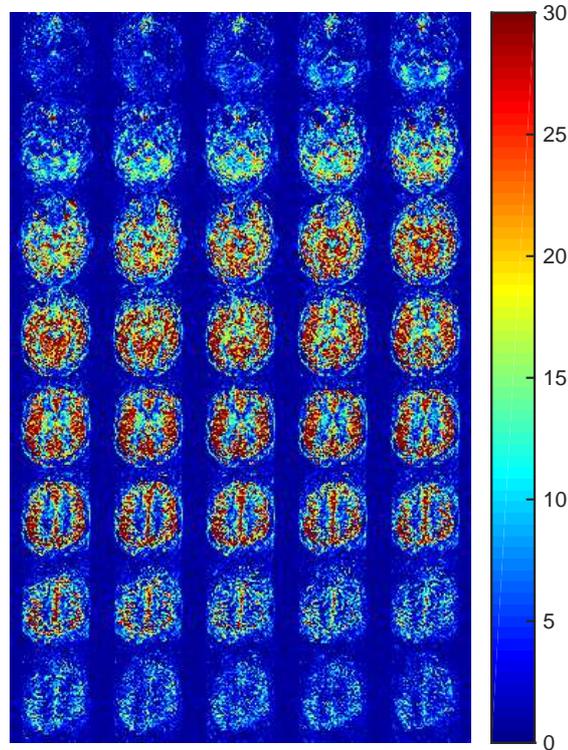
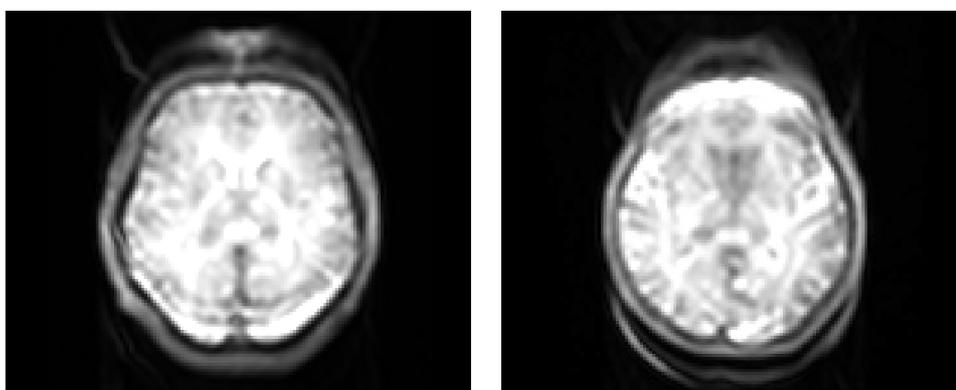


Figura 7.1: Mappa di CBF da immagini acquisite con sequenza originale Siemens, $TI = 2140$ [ms]. Si nota la bassa qualità sul piano assiale e il ristretto range di valori assunti dalle stime: la mappa non è in unità di misura assoluta.

mi a grossolane approssimazioni e l'assenza di sequenze specifiche per i parametri di calibrazione impedisce di attuare una strategia simile a quella adottata nella pipeline sviluppata.

A seguito delle considerazioni qui presentate, si è deciso di abbandonare l'utilizzo di questa sequenza per metterne a punto una che potesse superare i forti limiti che la caratterizzavano. Il risultato sono le due sequenze presentate in sezione 5.2 già presenti in macchina all'inizio di questa tesi. Tuttavia, nel corso del lavoro si è riusciti ad apportare un ulteriore miglioramento delle sequenze. A causa delle caratteristiche della sequenza e della bobina ricevente le immagini restituite dallo scanner sono afflitte da considerevole ghosting, ben visibile sul

piano assiale nella parte posteriore dell'encefalo (Figura 7.2 pannello a). Grazie alla collaborazione con il fisico Enrico De Vita, ricercatore dell'*University College of London*, che ha lavorato per lo sviluppo delle sequenze, l'influenza di questo artefatto è stata sensibilmente ridotta: invertendo il verso di lettura del PE, da AP (anterior-posterior) a PA, l'artefatto si muove verso il basso uscendo quasi completamente dal cervello. L'abbassamento è tale da far sì che l'artefatto entri nell'immagine nella parte superiore (Figura 7.2 pannello b), mantenendosi, però, più periferico ed entrando minimamente in contatto con il segnale utile.



(a) Direzione PE: AP

(b) Direzione PE: PA

Figura 7.2: Confronto immagini acquisite con Phase Encoding AP e PA. Si vede che l'artefatto (iperintensità semicircolare), originariamente sulla parte posteriore del cervello (pannello a), non si elimina, ma si sposta verso il basso, intersecandosi con l'encefalo nella parte anteriore (pannello b).

7.2 Prodotti principali della pipeline

La pipeline implementata è frutto di un lavoro di studio del modello del dato ASL e di ricerca delle migliori soluzioni possibile per il trattamento delle informazioni strutturali a disposizione. Di seguito verrà presentato il lavoro svolto sul lato strutturale e saranno analizzati i prodotti del lato ASL.

7.2.1 Elaborazioni immagini ASL

Il blocco di elaborazione delle immagini strutturali ha visto la maggior parte degli sforzi impiegati per la ricerca della miglior soluzione raggiungibile nell'ambito della segmentazione dei tessuti. A differenza degli step di parcellizzazione, dove la scelta è da subito caduta sull'approccio multi atlas, e di segmentazione delle lesioni, dove la soluzione manuale era l'unica percorribile in questo momento, la segmentazione dei tessuti ha visto testati differenti algoritmi e set di parametri.

Lo script *antsCorticalThickness.sh*, utilizzato per la segmentazione dei tessuti, restituisce di certo un ottimo risultato ed inoltre, in ottica futura, genera delle mappe di grande interesse. Il prezzo da pagare per questa qualità è un costo computazionale molto elevato che, nella macchina a disposizione per le elaborazioni, richiede tra le 4 e le 6 ore di lavoro. In prima battuta, si è tentato di implementare nella pipeline delle soluzioni meno dispendiose. Per la precisione sono stati testati due diversi software:

- **Atropos**: comando del pacchetto ANTs che richiede in ingresso i prior ed il peso da dare a quest'ultimi. Sono stati provati due set di parametri, entrambi con soli tre prior (grigia, bianca e CSF) e due differenti pesi: 0,8 e 0,6;
- **FAST**: comando del pacchetto FSL che possiede al suo interno i prior: testato, anch'esso, con 3 prior.

Il primo software provato è stato Atropos con un peso dei prior pari a 0,8. L'ispezione visiva dei risultati ha fatto emergere, dopo una sogliatura delle mappe pari al 90 %, l'incapacità di questo set di segmentare con precisione la sostanza grigia profonda. Un'osservazione più accurata ha portato alla luce che l'algoritmo non si spostava abbastanza dai prior impostati. Conseguentemente è stato ridotto il peso dato ai prior, portandolo a 0,6, ottenendo una miglior stima delle mappe di probabilità di appartenenza dei voxel ai tessuti. Tuttavia, la segmentazione della grigia profonda, anche se migliorata rispetto al caso precedente, restava debole. Parallelamente, è stato provato l'algoritmo FAST della suite FSL, utilizzando set

di parametri di default. Le mappe di materia grigia risultavano maggiormente robuste nella parte della sostanza profonda, ma anche eccessivamente larghe nelle sue zone limitrofe. In Figura 7.3 viene mostrato un confronto tra una delle mappe ottenute con la metodica implementata nella pipeline e con quelle appena descritte per il soggetto 3 del protocollo test-retest.

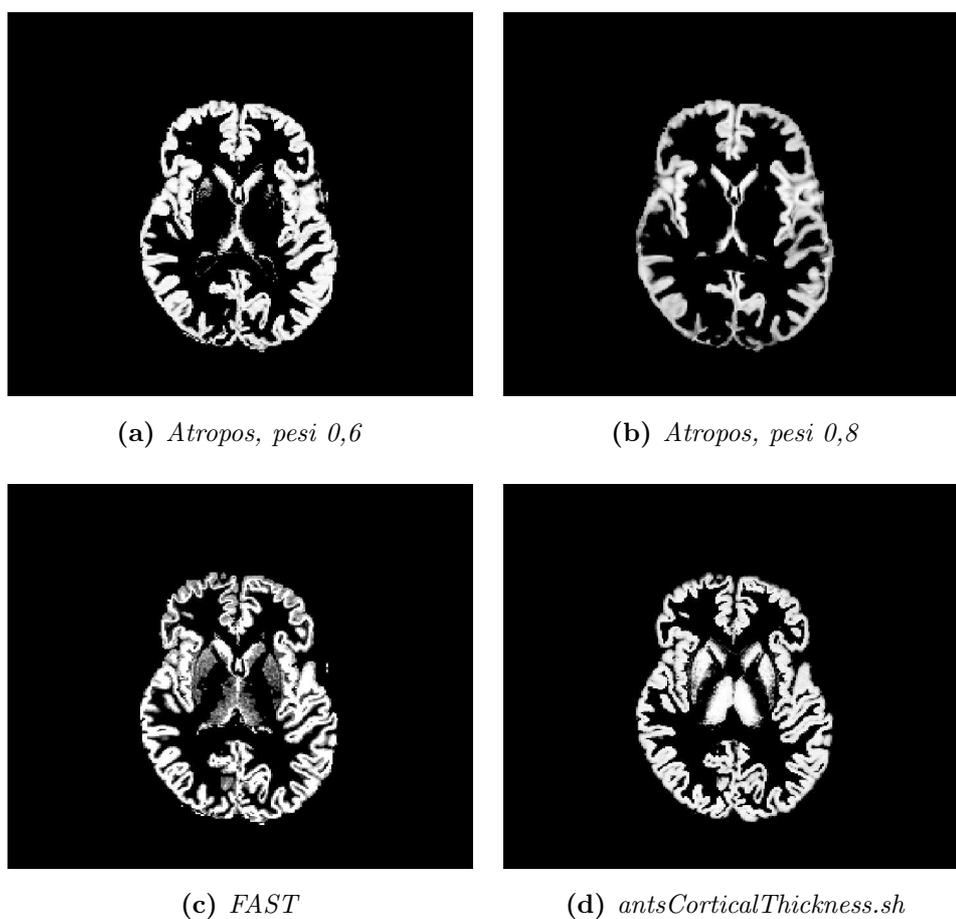


Figura 7.3: Confronto segmentazione materia grigia, slice 150, eseguito con : Atropos pesi 0,6 (pannello a) e 0,8 (pannello b), FAST (pannello c) e *antsCorticalThickness.sh* (pannello d). Si nota immediatamente la maggior robustezza della mappa del pannello d e dell'approccio a 6 prior.

I fallimenti degli algoritmi testati hanno suggerito l'utilizzo dello script poi implementato nella pipeline. Le informazioni raccolte mediante questo studio, comunque, sono state utilizzate per implementare una starda alternativa ad an-

tsCorticalThickness.sh nel caso le sue richieste temporali diventassero, per qualche motivo, insostenibili. All'interno delle pipeline, infatti, è compresa la possibilità di eseguire la segmentazione dei tessuti mediante l'utilizzo dell'algoritmo Atropos con 6 prior e pesi uguali a 0,6.

7.2.2 Elaborazione immagini ASL

Single TI

Dalle mappe di CBF è possibile ricavare le prime informazioni sulle qualità delle sequenze ASL ottimizzate. Dal punto di vista strettamente qualitativo, le mappe sono di gran lunga migliori di quelle restituite dalla sequenza originale. L'introduzione di 8 medie ha permesso di eliminare molto di quell'effetto sale e pepe visibile in Figura 7.1, con conseguente miglioramento di visualizzazione e stima. Inoltre, l'introduzione delle sequenze M_0 , come confermato dal range di valori delle stime, ha permesso di raggiungere una quantificazione assoluta. Le mappe, tuttavia, evidenziano anche quelli che sono i limiti delle sequenze. In particolare emerge una scorretta stima sulla prima e sulle ultime due slice del FOV, errore dovuto a perdita di segnale in corrispondenza di queste slice. Il FOV rappresenta uno dei limiti maggiori di queste sequenze. Infatti, sia per la versione single che per quella multi-TI, le dimensioni del FOV si sono rivelate insufficienti alla copertura di tutto l'encefalo causando, per come sono state acquisite le immagini, maggiori difficoltà nelle operazioni di coregistrazione. Nonostante questo, il risultato raggiunto con la sequenza ASL single-TI, almeno dal punto di vista qualitativo, è molto buono. A conferma di ciò, in Figura 7.4, si riportano le slice dalla 9 alla 13 delle mappe di CBF di tre soggetti, ognuno appartenente ad uno dei gruppi del protocollo demenze: riga uno controllo sano, riga due patologico Alzheimer, riga tre patologico vascolare/degenerativo. L'ispezione visiva permette di apprezzare le differenze nel livello di perfusione senza difficoltà e, con un'osservazione più attenta, anche di cogliere delle differenze nei due soggetti patologici. Ad esempio,

qui emerge che il soggetti di riga 2 (AD) soffre di un'ipoperfusione marcatamente parietale, mentre il soggetto di riga tre soffre maggiormente sul lobo occipitale.

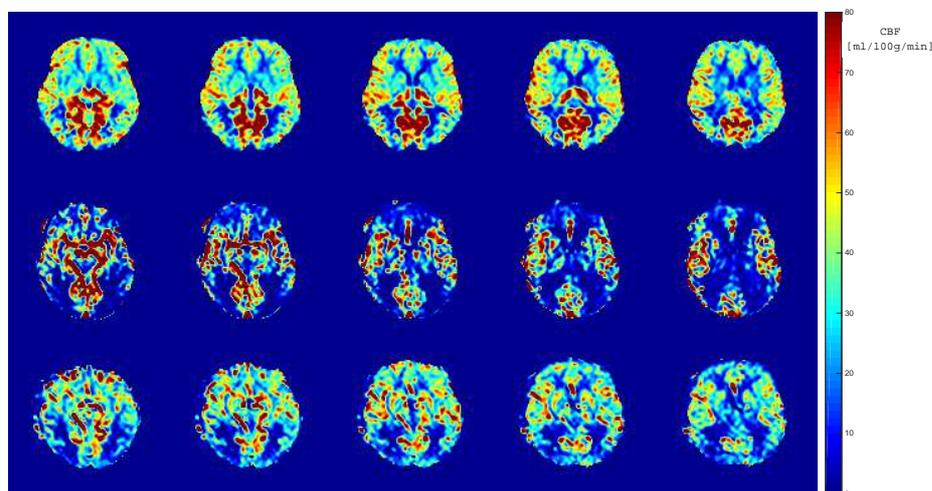


Figura 7.4: Confronto slice da 9 a 13 delle mappe di CBF di tre soggetti: controllo sano (riga 1), patologico Alzheimer (riga 2), patologico vasc./degen. (riga 3). Si nota l'ipoperfusione dei due soggetti patologici nei confronti del soggetto di controllo, in particolare: il soggetto di riga 2 soffre di un'ipoperfusione più parietale, mentre quello di riga 3 più occipitale.

Multi TI

Le considerazioni fatte per le mappe di CBF estratte dalla sequenza single-TI in linea di principio valgono anche per le mappe stimate dalle immagini dell'esperimento multi-TI. Queste ultime risultano più disturbate da rumore di fondo, dal momento che si mediano solamente due ripetizioni, ma presentano delle stime con devii valori più vicini a quelli di letteratura. Osservandole bene, tuttavia, vi sono delle zone per le quali il valore sembra essere anche eccessivamente elevato, ma la potenza del modello multi-TI permetterà, in fase di post-processing, di lavorare sugli indici di precisione per eliminare proprio questi tipi di stime molto incerte.

Per quanto riguarda la mappa di BAT presentata nel capitolo precedente, al momento valutata solo per un interesse futuro, dopo aver già confermato la buona qualità del dato, si concentra l'attenzione sull'informazione che fornisce.

La simmetria della distribuzione della stima nella mappa portata ad esempio in Figura 6.10 è proprio il dato che si vuole indagare attraverso questo parametro. Nel caso la simmetria venisse a mancare, questo evento potrebbe essere sintomo di patologie come stenosi carotidee o altri fenomeni che rallentano il flusso solamente in una determinata area.

7.2.3 Analisi a livello di ROI

Il prodotto conclusivo della pipeline creata in questo lavoro ci permette di effettuare delle valutazioni e dei confronti più quantitativi rispetto a quanto fatto in precedenza. I valori medi di CBF calcolati all'interno delle 26 ROI fissate evidenziano immediatamente due differenze nette tra l'approccio single-TI e multi-TI:

1. I dati quantificati dalle immagini single-TI risultano, nel complesso, sottostimati rispetto a quelli ricavati dalle immagini multi-TI e a quelli che sono i valori riportati in letteratura;
2. Le stime single-TI sono più omogenee all'interno delle singole ROI rispetto a quelle multi-TI. Infatti, le deviazioni standard delle ROI nel primo caso sono sempre costantemente inferiori a quelle del secondo caso.

I motivi della sottostima che affligge i dati single-TI non sono ancora stati indagati completamente, ma una possibile fonte di errore potrebbe essere il parametro τ (durata del bolo di tracciante). Quest'ultimo, come spiegato in sezione 5.4.3, per motivi legati allo scanner a disposizione, è settato in modo approssimativo a 1 secondo, invece che a 700 [ms] come dichiarato in macchina. Essendo il ruolo di questo parametro, nella formulazione del modello di Buxton per le acquisizioni single-TI, quello di mero fattore di scala, un errore di approssimazione influisce direttamente nel dato finale. I dati multi-TI, al contrario, data la possibilità di stimare il parametro τ dai dati, soffre meno di una possibile imprecisione. Le parti si invertono parlando delle deviazioni standard. Una possibile spiegazione alla differenza che intercorre tra i due approcci potrebbe risiedere nel numero

di ripetizioni che si mediano in fase pre-processing. Allora, la peggior qualità riscontrata visivamente dalle mappe multi-TI, si traduce in una maggior variabilità delle stime all'intero di ogni singola ROI a causa del rumore di fondo.

Al di là di quelle che sono le considerazioni sulle evidenze del dato finale, l'approccio più interessante è senza dubbio l'approccio multi-TI. Oltre alla possibilità di arrivare ad un maggior numero di parametri, permette in fase di post-processing di valutare la bontà di ogni singola stima e selezionare i soli voxel per i quali la stima si valuta accurata ed affidabile. In Figura 7.5 sono riportate le distribuzioni dei picchi dei voxel prima e dopo il processo di selezione implementato nella pipeline e descritto in sezione 5.6 per il soggetto 3 del protocollo test-retest.

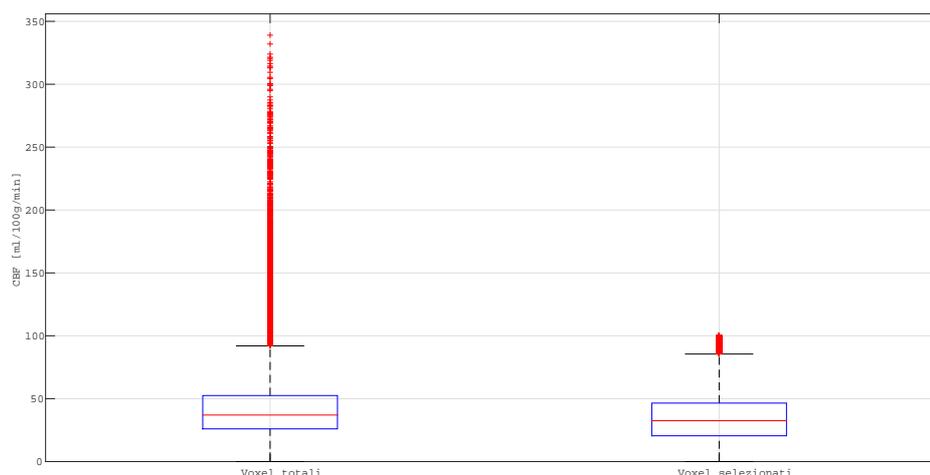


Figura 7.5: Distribuzioni dei picchi dei voxel appartenenti alla maschera di sostanza grigia del soggetto 3 del protocollo test-retest prima e dopo il processo di selezione. È immediato notare l'eliminazione della quasi totalità degli outliers.

I boxplot riportati in figura forniscono un feedback positivo del processo di selezione, evidenziando il gran numero di outliers esclusi dall'analisi a livello di voxel. In media per ogni soggetto lo step di selezione elimina dalla maschera il 15 – 20 % dei voxel. Rispetto a quanto descritto in sezione 5.6, la distribuzione dopo la selezione è ottenuta anche escludendo tutti quei voxel con valore di picco superiore

$100 \left[\frac{mL}{100g \min} \right]$. Questa scelta, suggerita da un valore comunque non fisiologico nonostante la bontà dei suoi indici di precisione, è stata presa dopo l'ispezione visiva delle maschere dei voxel che rispettano questa condizione, ancora presenti dopo la pulizia.

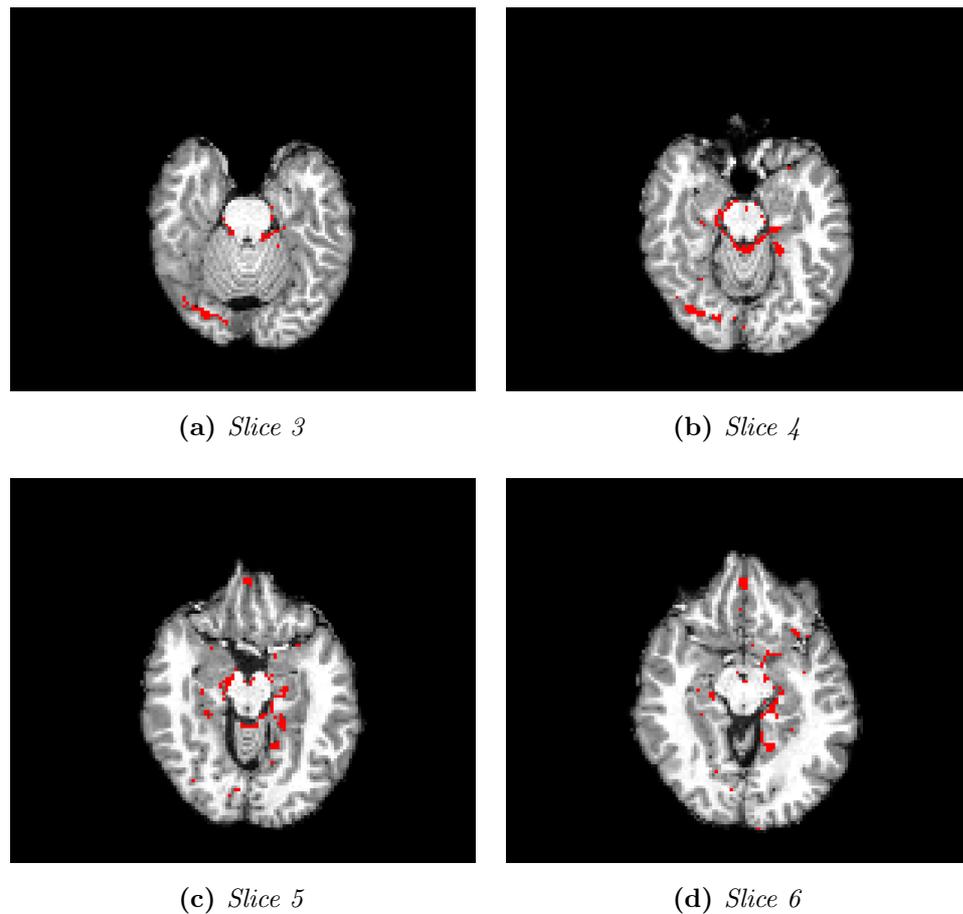


Figura 7.6: Maschera di voxel a valore di picco superiore a $100 \left[\frac{mL}{100g \min} \right]$ del soggetto 3 protocollo test-retest dopo la pulizia. I pannelli riportano 4 slice dell'immagine anatomica pesata T_1 con sovrapposta la maschera dei voxel a picco elevato (in rosso): la maggior parte di questi si colloca vicino al circolo di willis.

La maschera ha rivelato che, nella maggior parte dei casi, questi sono voxel limitrofi a vasi arteriali, dunque senza alcun dubbio il loro segnale è dovuto ad un'influenza da sangue arteriale non corretta. In Figura 7.6 sono riportate 4 slice per l'esemplificazione di questa maschera sovrapposte alle medesime slice

dell'anatomica pesata T_1 .

I risultati raggiunti in post-processing sui dati multi-TI sono da ritenersi molto soddisfacenti, tuttavia la fase di selezione dei voxel ha ancora dei margini di miglioramento. Vi sono infatti ancora dei voxel la cui stima desta qualche dubbio non risolto.

7.3 Risultati protocolli di acquisizione

7.3.1 Studio di riproducibilità

Lo studio di riproducibilità eseguito sulla sequenza single-TI ha restituito un esito nel complesso davvero molto soddisfacente. Se la ripetibilità della misura è emersa senza evidenti punti deboli (Figura 6.14), la riproducibilità della quantificazione ha portato alla luce qualche limite. I bassi valori di ICC, calcolati sulle medie semplici, riscontrati per le ROI relative ai gangli della base e al lobo limbico potrebbero essere dovuti alle dimensioni delle stesse ROI e alla difficoltà di segmentazione che si accentuano in caso di piccole regioni. Il calcolo dell'ICC sulle medie pesate per le deviazioni standard aveva proprio lo scopo di andare, almeno in minima parte, a correggere il dato per una parte dell'errore commesso. L'esito suggerisce infatti che nelle regioni del lobo limbico il basso valore di ICC semplice potrebbe essere più legato alle difficoltà di segmentazione e coregistrazione piuttosto che ad una variabilità accentuata tra le diverse ripetizioni. Questo non si verifica per le regioni dei gangli della base: benchè il nuovo ICC si avvicini molto alla soglia di accettabilità, si attesta a dei valori limite che evidenziano come, al momento, sia meglio considerare quelle ROI come non affidabili. Come riportato nel capitolo precedente, il CV percentuale conferma quanto detto riportando i valori più alti proprio per queste tre ROI. Infatti, il CV più elevato non è dovuto solamente ad un valore più basso di CBF, ma e soprattutto dall'aumento della sua deviazione standard: sintomo di più marcata variabilità tra i valori mediati. Oltre che a livello di ROI, l'ICC, nelle due versioni, è stato valutato anche a li-

vello di soggetto dove, ad eccezione del soggetto numero 1, ha sempre riportato valori soddisfacenti. L'ICC semplice del soggetto 1, invece, è risultato leggermente debole, anche se l'ICC pesato riporta poi il valore alla normalità. Per escludere ogni possibile fonte di variabilità inaspettata, la Tabella 6.3 è stata rivalutata senza includere il soggetto 1: i risultati hanno confermato la debolezza del dato medio nel tre ROI relative ai gangli della base.

7.3.2 Protocollo demenze

Prima di discutere i risultati esposti in sezione 6.2.2, si presentano alcune osservazioni relative al protocollo e alla sequenza utilizzata. Il tempo complessivo per l'esecuzione di tutte le acquisizioni previste dal protocollo è di circa 50 – 60 minuti, un dato che, unito all'età e allo stato patologico dei soggetti (non sempre collaboranti), rende molto pesante e difficoltosa la perfetta riuscita di tutto l'esame. A seguito di questo, dato che alcune sequenze sono più sensibili di altre al movimento, come ad esempio l'ASL, è opportuno organizzare l'ordine delle sequenze con grande attenzione. Tralasciando le sequenze necessarie ad un prima valutazione dello stato delle strutture del cervello, nell'ordine delle acquisizioni l'ASL è preceduta dalla sola fMRI resting state, altrettanto sensibile a movimenti da parte del paziente. Per quanto riguarda il numero di medie acquisite dalla sequenza ASL utilizzata, invece, visto quanto detto nel Capitolo 2, ci si aspetterebbe un numero di ripetizioni elevato (più sono le medie, più aumenta il rapporto segnale disturbo). In realtà in questo protocollo il numero di ripetizioni è solamente 8: questo numero permette di avere una buona qualità dell'immagine a fronte di un contenuto intervallo di acquisizione, elemento chiave in un protocollo così lungo come il protocollo demenze.

Alla valutazione dei primissimi dati del protocollo demenze fatta in sezione 6.2.2, data la scarsità di soggetti, poco può essere aggiunto se non un commento alla luce di quanto emerso dallo studio di riproducibilità. L'evidente dato di Figura 6.17, per cui il CBF medio dei soggetti AD sarebbe nettamente più elevato, rispetto a quello degli altri due gruppi, nelle ROI dei gangli della base,

è ovviamente dato da non considerarsi, dal momento che è stata discussa e confermata l'impossibilità di garantire la riproducibilità della misura in quelle stesse ROI.

Conclusioni

Questo lavoro ha avuto lo scopo di realizzare uno strumento che fosse in grado di quantificare dati di perfusione cerebrale partendo da immagini di Arterial Spin Labeling. L'obiettivo principale era proprio quello di implementare una pipeline che potesse restituire dati direttamente fruibili dal medico, ma si è anche lavorato per lo sviluppo e la validazione di un approccio di misura più ricco. Le richieste iniziali hanno fatto sì che questo lavoro coprisse un ampio spettro di tematiche, toccando lo sviluppo delle sequenze, l'elaborazione di immagini di risonanza magnetica, sia strutturali che funzionali, e l'approccio di stima parametrica.

Per prima cosa sono state studiate le sequenze ASL a disposizione. L'analisi ha portato all'abbandono della sequenza originaria proposta da Siemens ed al miglioramento delle sequenze ottimizzate, una delle quali già inserita in un protocollo di ricerca. La complessità del dato ASL ha reso necessario questo studio anche e soprattutto per la comprensione del modello di quantificazione da adottare. Parametri e strategie utilizzate sono state scelte seguendo le linee guida del *consensus paper* ASL [2].

Il lavoro è proseguito con l'elaborazione delle immagini ASL e l'ottenimento delle mappe di CBF quantificate, con grande impegno speso sui dati multi-TI. Il flusso di lavoro implementato per quest'ultimo approccio, ha reso possibile arrivare ad un dato più robusto ed in linea con i valori di letteratura rispetto al dato single-TI, oltre ad aver dato accesso alla stima di altri parametri validi per la caratterizzazione dell'emodinamica cerebrale.

Definiti i metodi di stima dei dati ASL è stata realizzata la pipeline definitiva di elaborazione. Le immagini strutturali acquisite, infatti, sono le medesi-

me per entrambe le sequenze ASL e di conseguenza lo saranno le operazioni di segmentazione, parcellizzazione e coregistrazione.

L'ultima parte della pipeline, costituita dalla fase di analisi, è stata sviluppata separatamente per i dati single e multi-TI. Questo ha permesso di sfruttare a pieno la potenza del modello a più istanti di campionamento, implementando un processo di pulizia delle stime poco affidabili.

Il lavoro svolto ha portato, così, alla realizzazione di un set di script semi-automatici che permettono di arrivare alle stime richieste. Tutto il processo richiede l'intervento manuale di un operatore in soli due momenti: la generazione delle immagini di riferimento per lo step di correzione del movimento e la segmentazione delle lesioni della sostanza bianca.

Inoltre, terminata la fase di implementazione della pipeline, si è messo in piedi un protocollo specifico per la valutazione della riproducibilità e quindi dell'affidabilità della misura e del processo di quantificazione della perfusione cerebrale con gli strumenti a disposizione. Si è anche riusciti ad iniziare l'analisi di questo protocollo, valutandone i risultati per la sequenza single-TI. I risultati hanno fatto emergere la consistenza della misura e incoraggiano al proseguimento del lavoro: delle 26 ROI analizzate solamente 3 sono emerse non affidabili.

Alla luce di quanto emerso da questo studio, si sono anche valutati un piccolo numero di soggetti acquisiti con il protocollo demenze, protocollo preesistente per la valutazione delle patologie neurodegenerative nel quale è stata inserita la sequenza ASL single-TI. I risultati, benchè su pochi dati, possono considerarsi incoraggianti.

L'interesse crescente verso il processo di perfusione cerebrale fa dell'Arterial Spin Labeling una potenziale tecnica di larghissimo uso data la sua naturale non invasività. In particolare, l'approccio multi-TI, da considerarsi nuovo al di fuori degli ambienti accademici, ha i presupposti per diventare fondamentale nello studio di determinate patologie. Il lavoro svolto con questa tesi permetterà al Brain MRI 3T Mondino Research Center di utilizzare tale tecnica e di poterla applicare a numerose patologie.

Sviluppi futuri

Gli sviluppi futuri del lavoro iniziato con questa tesi si possono dividere in due filoni: perfezionamento della pipeline sviluppata ed indagini cliniche mediante protocolli che sfruttino l'ASL.

Nell'immediato futuro il lavoro continuerà con il completamento dell'analisi dei risultati del protocollo test-retest per la valutazione della riproducibilità della sequenza multi-TI. Inoltre, questo protocollo potrebbe dare delle indicazioni sul confronto tra le due sequenze a disposizione e suggerire ulteriori modifiche delle sequenze stesse o del processo di quantificazione. In un'ottica più a lungo termine, un possibile lavoro potrebbe essere speso per il miglioramento della pipeline. Un punto debole di quanto messo a punto è, senza dubbio, lo step di segmentazione delle lesioni di materia bianca, sul quale potrebbe essere speso del lavoro di confronto dei software disponibili sul mercato, al fine di scegliere la soluzione migliore. Altro lavoro potrebbe essere impiegato per implementare un regressore che tenga conto di tutti quei dati che sono da considerarsi covariate del processo che si vuole misurare, come età o spessore corticale (dati già disponibili).

In ambito clinico, invece, la pipeline potrebbe già essere impiegata per la valutazione della perfusione. L'analisi preliminare sui soggetti del protocollo demenze, condotta in questo studio, verrà approfondita in futuro per permettere una caratterizzazione delle differenze di perfusione tra i tre tipi di soggetti coinvolti. In particolare, il primo obiettivo sarà quello di incrementare il numero di soggetti acquisiti per poter avere una base statistica più ampia su cui confermare i differenti pattern perfusionali. Se questi venissero confermati, l'informazione potrebbe essere utilizzata all'interno di un classificatore creato per la valutazione delle patologie vascolari/degenerative e di Alzheimer.

Di maggior interesse in ottica futura è senz'altro la sequenza multi-TI. Grazie al lavoro svolto, nell'immediato futuro sarà possibile mettere a punto diversi protocolli di ricerca incentrati su questa sequenza. Di interesse, non solo le patologie ipoperfusive, ma anche eventi che coinvolgono il flusso come stenosi, occlusioni o

stroke. La non invasività dell'approccio rende accessibili studi longitudinali prima impediti da costi e possibili controindicazioni. L'obiettivo potrebbe essere sia il tracciamento del decorso di una patologia, sia lo studio di flusso e perfusione in fenomeni transitori.

Appendice A

Strategia randomizzazione protocollo test-retest

Al fine di evitare bias dovuti all'operatore o all'abitudine del soggetto al tipo di sequenza, nel protocollo test-retest è stato introdotto un certo grado di randomizzazione dello schema di acquisizione. Infatti, l'ordine di esecuzione delle sequenze di interessa non è fisso per tutto il protocollo, ma viene fatto variare sia tra i due giorni di acquisizione di uno stesso soggetto, sia tra soggetti. Le combinazioni possibili sono sedici e sono riportate in Tabella A.1 (per motivi di spazio riportata a pagina seguente). Per ogni soggetto, prima dell'inizio del protocollo, l'operatore deve scegliere in modo del tutto casuale una delle possibili combinazioni e costruire l'esame secondo quello schema.

Comb.	Giorno 1							Giorno 2								
	Strut.	ASL	ASL	ASL	ASL	ASL	ASL	Strut.	ASL	ASL	ASL	pausa	Strut.	ASL	ASL	ASL
01	T_1 MPRAGE	Single	Multi	M_0	Single	Multi	M_0	T_2 SPC	Single	Multi	M_0	-	T_2 SPC	Single	Multi	M_0
02	T_1 MPRAGE	Single	Multi	M_0	Single	Multi	M_0	T_2 SPC	Multi	Single	M_0	-	T_2 SPC	Multi	Single	M_0
03	T_1 MPRAGE	Single	Multi	M_0	Single	Multi	M_0	T_2 SPC	Single	Multi	M_0	-	T_2 SPC	Multi	Single	M_0
04	T_1 MPRAGE	Single	Multi	M_0	Single	Multi	M_0	T_2 SPC	Multi	Single	M_0	-	T_2 SPC	Single	Multi	M_0
05	T_1 MPRAGE	Multi	Single	M_0	Multi	Single	M_0	T_2 SPC	Single	Multi	M_0	-	T_2 SPC	Single	Multi	M_0
06	T_1 MPRAGE	Multi	Single	M_0	Multi	Single	M_0	T_2 SPC	Multi	Single	M_0	-	T_2 SPC	Multi	Single	M_0
07	T_1 MPRAGE	Multi	Single	M_0	Multi	Single	M_0	T_2 SPC	Single	Multi	M_0	-	T_2 SPC	Multi	Single	M_0
08	T_1 MPRAGE	Multi	Single	M_0	Multi	Single	M_0	T_2 SPC	Multi	Single	M_0	-	T_2 SPC	Single	Multi	M_0
09	T_1 MPRAGE	Single	Multi	M_0	Multi	Single	M_0	T_2 SPC	Single	Multi	M_0	-	T_2 SPC	Single	Multi	M_0
10	T_1 MPRAGE	Single	Multi	M_0	Multi	Single	M_0	T_2 SPC	Multi	Single	M_0	-	T_2 SPC	Multi	Single	M_0
11	T_1 MPRAGE	Single	Multi	M_0	Multi	Single	M_0	T_2 SPC	Single	Multi	M_0	-	T_2 SPC	Multi	Single	M_0
12	T_1 MPRAGE	Single	Multi	M_0	Multi	Single	M_0	T_2 SPC	Multi	Single	M_0	-	T_2 SPC	Single	Multi	M_0
13	T_1 MPRAGE	Multi	Single	M_0	Single	Multi	M_0	T_2 SPC	Single	Multi	M_0	-	T_2 SPC	Single	Multi	M_0
14	T_1 MPRAGE	Multi	Single	M_0	Single	Multi	M_0	T_2 SPC	Multi	Single	M_0	-	T_2 SPC	Multi	Single	M_0
15	T_1 MPRAGE	Multi	Single	M_0	Single	Multi	M_0	T_2 SPC	Single	Multi	M_0	-	T_2 SPC	Multi	Single	M_0
16	T_1 MPRAGE	Multi	Single	M_0	Single	Multi	M_0	T_2 SPC	Multi	Single	M_0	-	T_2 SPC	Single	Multi	M_0

Tabella A.1: Combinazioni possibili ordine sequenze in protocollo test-retest. La pausa del giorno 2 prevede la discesa del soggetto dallo scanner ed un'attesa di 10 minuti.

Bibliografia

- [1] Alsop D.C. and Detre J.A., *Reduced transit-time sensitivity in non invasive magnetic resonance imaging of human cerebral blood flow*, J. Cereb. Blood Flow Metab., 16(6):1236-49, 1996. ISSN 0271-678X.
- [2] Alsop D.C., Detre J.A., Golay X., Gunther M., Hendrikse J., Hernandez-Garcia L., Lu H., MacIntosh B.J., Parkes L.M., Smits M., van Osch M.J.P., Wang D.J.J., Wong E.C. and Zaharchuk G., *Recommended Implementation of Arterial Spin-Labeled Perfusion MRI for Clinical Applications: A Consensus of the ISMRM Perfusion Study Group and the European Consortium for ASL in Dementia*, Magn. Reson. Med., 00:00-00, 2014.
- [3] Avants B.B., Epstein C.L., Grossman M. and Gee J.C., *Symmetric diffeomorphic image registration with cross-correlation: evaluating automated labeling of elderly and neurodegenerative brain*, Med. Image Anal., 12(1):26-41, 2008.
- [4] Balteau E., Vidorreta M., Fernandez-Seara M.A., De Vita E. and Thomas D.L., *New segmentation scheme for improved point spread function in multi-shot 3d-grase pcasl*, ESMRMB 2013, 30th Annu. Sci. Meet. Toulouse, Fr. 3-5 Oct. Abstr. Friday, Magn. Reson. Mater. Physics, Biol. Med., 26(S1):259-260, 2013.
- [5] Bernstein M.A., King K.F. and Zhou X.J. *Handbook of MRI Pulse Sequences*, Elsevier Academic Press, 2004.
- [6] Boscolo Galazzo I., Chappell M.A., Thomas D.L., Manganotti P. and De Vita E., *Evaluation of an improved framework for minimizing blurring artifacts*

- in 3D-GRASE Arterial Spin Labeling data*, ESMRMB 2013, 30th Annu. Sci. Meet. Toulouse, Fr. 3-5 Oct. Abstr. Friday, Magn. Reson. Mater. Physics, Biol. Med., 26(S1):258-259, 2013.
- [7] Buxton R.B., *Introduction to Functional Magnetic Resonance Imaging: Principles and Technique*, Cambridge University Press, Cambridge [UK], 2002.
- [8] Buxton R.B., Lawrence R.F., Wong E.C., Siewert B., Warach S. and Edelman R.R., *A General Kinetic Model for Quantitative perfusion Imaging with Arterial Spin Labeling*, Magn. Reson. Med., 40:383-396, 1998.
- [9] Castellaro M., *Quantitative neuroimaging of perfusion with arterial spin labeling: deconvolution and physiology-based models*, Department of Information Engineering, University of Padua, 2014.
- [10] Chappell M.A., Bradley M.J., Manus D.J., Günther M., Jezzard P. and Woolrich M.W., *Separation of Macrovascular Signal in Multi-inversion Time Arterial Spin Labelling MRI*, Magn. Reson. Med., 63:1357-1365, 2010.
- [11] Chappell M.A., Groves A.R., Whitcher B. and Woolrich M.W., *Variational Bayesian Inference for a Nonlinear Forward Model*, IEEE Transactions on Signal Processing, 57(1):223-236, 2009.
- [12] Chappell M.A., Woolrich M.W., Kazan S., Jezzard P., Payne S.J. and MacIntosh B.J., *Modeling dispersion in arterial spin labeling: validation using dynamic angiographic measurements*, Magn. Reson. Med., 69(2):563-70, 2013.
- [13] Dai W., Garcia D., de Bazelaire C. and Alsop D.C., *Continuous flow-driven inversion for arterial spin labeling using plused radio frequency and gradient fields*, Magn. Reson. Med., 60:1488-97, 2008.
- [14] Edelman R.R. and Chen Q., *EPISTAR MRI: Multislice mapping of cerebral blood flow*, Magn. Reson. Med., 40(6):800-805, 1998.

- [15] Edelman R.R., Siewert B., Darby D.G., Thangaraj V., Nobre A.C., Mesulam M.M. and Warach S., *Qualitative mapping of cerebral blood flow and functional localization with echo-planar MR imaging and signal targeting with alternating radiofrequency*, Radiology, 192(2):513-20, 1994. ISSN 0033-8419.
- [16] Garcia D.M., Duhamel G. and Alsop D.C., *Efficiency of inversion pulses for background suppressed arterial spin labeling*, Magn. Reson. Med., 54(2):366-72, 2005.
- [17] Golay X., Stuber M., Pruessmann K.P., Meier D. and Boesiger P., *Transfer insensitive labeling technique (TILT): application to multislice functional perfusion imaging*, Magn. Reson. Imaging, 9(3):454-61, 1999.
- [18] Günther M., Oshio K. and Feinberg D.A., *Single-shot 3D imaging techniques improve arterial spin labeling perfusion measurements*, Magn. Reson. Med., 54(2):491-8, 2005.
- [19] Helpert J.A., Branch C.A., Yongbi M.N. and Huang, N.C., *Perfusion imaging by un-inverted flow-sensitive alternating inversion recovery (UNFAIR)*, Magn. Reson. Imaging, 15(2):135-9, 1997.
- [20] Wang H. and Yushkevich P.A., *Multi-atlas segmentation with joint label fusion and corrective learning-an open source implementation*, Front Neuroinform, 7:27, 2013.
- [21] Hrabe J. and Lewis D.P., *Two analytical solutions for model of pulsed arterial spin labeling with randomized blood arrival times*, Journal of magnetic resonance imaging, 167(1):49-55, 2004.
- [22] Kim S.G., *Quantification of relative cerebral blood flow change by flow-sensitive alternating inversion recovery (FAIR) technique: Application to functional mapping*, Magn. Reson. Med., 34(3):293-301, 1995.
- [23] Kwong K.K., Chesler D.A., Weisskoff R.M., Donahue K.M., Davis T.L., Ostergaard L., Campbell T.A. and Rosen B.R., *Mr perfusion studies*

- witht1-weighted echo planar imaging*, Magn. Reson. Med., 34 (6):878-887, 1995.
- [24] Lu H., Clingman C., Golay X. and van Zijl P.C., *Determining the longitudinal relaxation time (T1) of blood at 3.0 Tesla*, Magn. Reson. Med., 52(3):679-82, 2004.
- [25] Luh W.M., Wong E.C., Bandettini P.A. and Hyde J. S., *QUIPSS II with thin-slice T1 periodic saturation: a method for improving accuracy of quantitative perfusion imaging using pulsed arterial spin labeling*, Magn. Reson. Med., 41(6):1246-54, 1999.
- [26] Mai V.M., Hagspiel K.D., Christopher J.M., Do H.M., Altes T., Knight-Scott J., Stith A.L., Maier T. and Berr S.S., *Perfusion imaging of the human lung using flow-sensitive alternating inversion recovery with an extra radiofrequency pulse (FAIRER)*, Magn. Reson. Imaging, 17 (3):355-61, 1999.
- [27] Oshio K. and Feinberg D.A., *GRASE (Gradient and spin-echo) imaging: a novel fast MRI technique*, Magn. Reson. Med., 20(2):344-9, 1991.
- [28] Pangman V.C., Sloan J. and Guse L., *An examination of psychometric properties of the mini mental state examination and the standardized mini mental state examination: implications for clinical practice*, Appl. Nurs. Res., 13(4):209-13, 2000.
- [29] Parkes L.M., Rashid W., Chard D.T. and Tofts P.S., *Normal cerebral perfusion measurements using arterial spin labeling: Reproducibility, stability, and age and gender effects*, Magn. Reson. Med., 51(4):736-743, 2004.
- [30] Parkes L.M. and Tofts P.S., *Improved accuracy of human cerebral blood perfusion measurements using arterial spin labeling: accounting for capillary water permeability*, Magn. Reson. Med., 48(1):27-41, 2002.

-
- [31] Tan H., Scott Hoge W., Hamilton C.A., Günther M. and Kraft R.A., *3D GRASE PROPELLER: Improved Image Acquisition Technique for Arterial Spin Labeling Perfusion Imaging*, Magn. Reson. Med., 66:168-173, 2011.
- [32] Tustison N.J., Avants B.B., Cook P.A., Song G., Das S., et al., *The ANTs cortical thickness processing pipeline*, Proc. SPIE 8672, Medical Imaging 2013: Biomedical Applications in Molecular, Structural, and Functional Imaging, 86720K, 2013.
- [33] Williams D., Detre J., Leigh J. and Koretsky A., *Magnetic resonance imaging of perfusion using spin inversion of arterial water*, Proc. Natl. Acad. Sci., 89(1):212-216, 1992.
- [34] Wong E.C., Buxton R.B. and Frank L.R., *Implementation of quantitative perfusion imaging techniques for functional brain mapping using pulsed arterial spin labeling*, NMR Biomed., 10(4-5):237-49, 1997.
- [35] Wong E.C., Buxton R.B. and Frank L.R., *Quantitative imaging of perfusion using a single subtraction (QUIPSS and QUIPSS II)*, Magn. Reson. Med., 39(5):702-8, 1998.
- [36] Ye F.Q., Frank J.A., Weinberger D.R. and McLaughlin A.C., *Noise reduction in 3D perfusion imaging by attenuating the static signal in arterial spin tagging (ASSIST)*, Magn. Reson. Med., 44(1):92-100, 2000.