

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA  
FACOLTÀ DI INGEGNERIA



Corso di Laurea in Bioingegneria

***Quantificazione dei tempi  $T_2$  e  $T_2^*$   
da immagini MRI cerebrali***

Relatore:

**Prof.ssa Alessandra Bertoldo**

Correlatore:

**Ing. Elisa Veronese**

Laureando:

**Sara Fanelli**

Anno accademico 2010-2011

25 ottobre 2011



# ***PREFAZIONE***

Le immagini di risonanza magnetica si sono dimostrate un potente mezzo per la diagnosi e il monitoraggio della sclerosi multipla. Tale malattia si manifesta con la presenza di placche nella materia bianca e nella materia grigia.

In questo studio si è dato particolare rilievo alle lesioni corticali e leuco-corticali, dato che solo recentemente ne è stata confermata la presenza e l'importanza. La prima parte del lavoro è stata quindi quella di individuare le lesioni nei soggetti a disposizione.

Successivamente, a partire da immagini gradient-echo e spin-echo si sono quantificati i parametri T2 e T2\* e si è cercato di determinare quale dei due permette di discernere meglio i tessuti malati dai sani.

Studi presenti in letteratura hanno mostrato un aumento locale della concentrazione di ferro in pazienti affetti da sclerosi multipla, quindi l'ultima parte della tesi riguarda proprio la valutazione della presenza di ferro nelle lesioni della materia grigia.



# *Abbreviazioni Utilizzate*

---

<b>Abbreviazione</b>	<b>Significato</b>
BBB	Blood-Brain Barrier
CNS	Central Nervous System
CSF	Cerebrospinal Fluid
DIR	Double Inversion Recovery
EDSS	Expanded Disability Status Scale
FEM	Forza elettro-motrice
FFE	Fast Field Echo
FID	Free Induction Decay
FLAIR	Fluid Attenuated Inversion Recovery
GM	Grey Matter
GNU	General Public Licence
GRE	Gradient Echo
IR	Inversion Recovery
MATLAB	Matrix Laboratory
MRI	Magnetic Resonance Imaging
MS	Multiple Sclerosis
NA	Normal Appearing
NAGM	Normal Appearing Gray Matter
NAWM	Normal Appearing White Matter
PD	Proton Density
PP	Primariamente Progressiva
ROI	Region of Interest
RP	A Ricaduta Con Progressione
RR	Recidivante-Remittente
SD	Standard Deviation
SE	Spin Echo
SP	Secondariamente Progressiva
SPM	Statistical Parametric Mapping
TE	Tempo di Eco
TI	Tempo di Inversione
TR	Tempo di Ripetizione
TSE	Turbo Spin Echo
WM	White Matter



# **INDICE**

Prefazione.....	i
Abbreviazioni Utilizzate .....	iii
Capitolo 1 Introduzione.....	1
1.1 Sclerosi multipla.....	1
1.1.1 Decorso clinico .....	1
1.1.2 Classificazione delle lesioni .....	3
1.2 Accumulo di Ferro.....	4
Capitolo 2 Teoria: MRI.....	7
2.1 Aspetti generali.....	7
2.1.1 Rilassamento spin-reticolo $T_1$ .....	9
2.1.2 Rilassamento spin-spin $T_2$ e $T_2^*$ .....	10
2.2 Sequenze di acquisizione .....	11
2.2.1 Fid.....	11
2.2.2 Spin echo .....	11
2.2.3 Tse .....	13
2.2.4 Gradient Echo.....	14
2.2.5 Inversion Recovery.....	16
2.2.6 Flair.....	17
2.2.7 Dir.....	17
2.3 Applicazioni .....	18
2.3.1 MRI e lesioni corticali .....	18
2.3.2 MRI e ferro .....	19
Capitolo 3 Materiali e Metodi .....	21
3.1 Soggetti e sequenze .....	21
3.2 Software.....	22
3.3 Schema generale.....	22
3.3.1 Correzione per movimento.....	23
3.3.2 Coregistrazione .....	25

3.3.3	Individuazione delle lesioni .....	26
3.3.4	Individuazione di regioni di confronto .....	28
3.3.5	Modelli per la stima di $T_2$ e $T_2^*$ .....	28
Capitolo 4	Risultati .....	30
4.1	Lesioni e Regioni di confronto .....	30
4.2	Stima del $T_2$ e $T_2^*$ .....	32
4.3	Valutazione di $T_2$ e $T_2^*$ sulle lesioni e regioni di confronto...34	
4.4	Valutazione di $T_2$ e $T_2^*$ su interno e bordo delle lesioni .....	37
Capitolo 5	Discussione e Conclusioni .....	41
5.1	$T_2$ o $T_2^*$ ? .....	41
5.2	Trend statistico nelle lesioni corticali .....	44
5.3	Conclusioni.....	45
Elenco delle Figure	.....	47
Elenco delle Tabelle.....		49
Bibliografia .....		51

---

# *CAPITOLO 1*

## ***INTRODUZIONE***

---

### **1.1 Sclerosi multipla**

La sclerosi multipla (MS) è la più comune malattia cronica neurologica che porta a disabilità nelle società occidentali, è una malattia infiammatoria demielinizzante del sistema nervoso centrale (CNS). Tradizionalmente, le lesioni nella materia bianca (WM) sono state considerate il più importante aspetto patologico nella MS ma studi recenti hanno confermato un estensivo cambiamento rispetto alla norma sia in bianca sia in grigia. Le lesioni corticali sono state sottostimate fino a poco tempo fa, perché difficili da individuare con le tecniche di colorazione e con immagini di risonanza magnetica (MRI) convenzionali. Tuttavia, la demielinizzazione corticale è un aspetto comune della MS <sup>(1)</sup>, e importante perché le lesioni in WM non permettono di spiegare tutti gli aspetti clinici della malattia, in particolare deficit cognitivi che affliggono il 45-65% dei pazienti affetti da MS <sup>(2)</sup>.

#### **1.1.1 Decorso clinico**

Nella maggior parte dei soggetti affetti da MS il decorso clinico della malattia si presenta in forma *recidivante-remittente (RR)*: le manifestazioni iniziali migliorano parzialmente o completamente, seguite dopo un intervallo variabile dal ripetersi delle stesse anomalie o dalla comparsa di nuove in altre parti del cervello. In alcuni la malattia ha un andamento costantemente progressivo, specialmente nei pazienti con più di 40 anni di età al momento dell'insorgenza (*MS primariamente progressiva, PP*). Oppure, accade spesso che un iniziale profilo recidivante diventi costantemente progressivo (*MS secondariamente progressiva, SP*) <sup>(3)</sup>. Esistono anche

## Sclerosi multipla

forme meno comuni, come quella *a ricaduta con progressione (RP)* che è generalmente di passaggio da una fase all'altra; o *la variante Marburg*, caratterizzata da un decorso rapido della malattia.

Il grado di severità della MS è attribuito tramite una serie di scale cliniche, tra cui la più utilizzata è quella proposta da Kurtzke nel 1983 e chiamata "Expanded Disability Status Scale" (EDSS).

**Tabella 1** Classificazione della disabilità neurologica attraverso la scala EDSS

EDSS	Livello di disabilità
0	Paziente con obiettività neurologica normale demielinizzante
Da 1 a 3.5	Il paziente è pienamente deambulante, pur avendo deficit neurologici evidenti in diversi settori (motorio, sensitivo cerebellare, visivo, sfinterico) di grado lieve o moderato, non interferenti sulla sua autonomia.
4	Paziente autonomo, deambulante senza aiuto e senza sosta, per circa 500 metri.
4.5	Paziente autonomo, con minime limitazioni nell'attività completa quotidiana e deambulazione possibile, senza soste e senza aiuto, per circa 300 metri.
5	Paziente non del tutto autonomo, con modeste limitazioni nell'attività completa quotidiana e deambulazione possibile, senza soste e senza aiuto, per circa 200 metri.
5.5	Paziente non del tutto autonomo, con evidenti limitazioni nell'attività completa quotidiana e deambulazione possibile, senza soste e senza aiuto, per circa 100 metri.
6	Il paziente necessita di assistenza saltuaria o costante da un lato (bastone, grucce) per percorrere 100 metri senza fermarsi.
6.5	Il paziente necessita di assistenza bilaterale costante, per camminare 20 metri senza fermarsi.
7	Il paziente non è in grado di camminare per più di 5 metri, anche con aiuto, ed è per lo più confinato sulla sedia a rotelle, riuscendo però a spostarsi dalla stessa da solo
7.5	Il paziente può solo muovere qualche passo. E' obbligato all'uso della sedia a rotelle, e può aver bisogno di aiuto per trasferirsi dalla stessa.
8	Il paziente è obbligato a letto non per tutta la giornata o sulla carrozzella. Di solito ha un uso efficiente di uno o di entrambi gli arti superiori.

8.5	Il paziente è essenzialmente obbligato a letto. Mantiene alcune funzioni di autoassistenza, con l'uso discretamente efficace di uno od entrambi gli arti superiori.
9	Paziente obbligato a letto e dipendente. Può solo comunicare e viene alimentato.
9.5	Paziente obbligato a letto, totalmente dipendente.
10	Morte dovuta alla patologia.

### 1.1.2 Classificazione delle lesioni

Sono stati proposti diversi sistemi di classificazione delle lesioni corticali, tra questi il sistema di Bo *et al* che è basato sull'osservazione anatomica di Dawson, questo sistema distingue le lesioni leuco-corticali (tipo 1), cioè a cavallo tra materia grigia (GM) e materia bianca, da quelle puramente intracorticali (tipo 2-4).

Tipo 1: lesioni che si estendono sia attraverso la GM che la WM, sono chiamate leuco-corticali. Sono le terze lesioni più diffuse, e le terze per dimensioni dell'area. Queste lesioni normalmente non si estendono fino alla superficie del cervello e il centro della lesione è spesso localizzato nella WM. In generale sono lesioni subcorticali di WM che attraversano il bordo tra WM e GM.

Tipo 2: lesioni all'interno della corteccia cerebrale che non si estendono né fino alla superficie del cervello né fino alla WM subcorticale. Queste sono le lesioni di dimensioni minori.

Tipo 3: sono le lesioni corticali più comuni, subpiali, interessano la più vasta area corticale. Spesso coinvolgono più circonvoluzioni adiacenti e in alcuni casi portano ad una generale demielinizzazione dello spazio subpiale corticale.

Tipo 4: lesioni che si estendono per tutta la larghezza della corteccia cerebrale, ma non raggiungono la WM subcorticale. Hanno un'elevata selettività per la corteccia cerebrale, spesso il bordo della lesione coincide con quello che separa bianca e grigia (anche per lunghi tratti).

In MRI è difficile determinare quali lesioni siano intracorticali, subcorticali o una combinazione di corticali-subcorticali, spesso si parla allora di lesioni iuxtacorticali (iuxta = vicino) <sup>(4)</sup> <sup>(5)</sup>.

Le lesioni possono essere anche classificate in base all'attività infiammatoria in *attive*, *croniche attive* e *croniche inattive*. Il grado

## Accumulo di Ferro

d'infiammazione è determinato dalla densità e dalla distribuzione di macrofagi o microglia. Le lesioni corticali attive sono caratterizzate dalla presenza lungo il bordo della lesione di macrofagi o microglia e da un aumento nel nucleo della densità degli stessi rispetto alla corteccia sana. Le lesioni corticali croniche attive hanno un bordo di macrofagi o microglia (normalmente più sottile rispetto alle lesioni attive) ma la loro densità all'interno diminuisce o è la stessa rispetto alla corteccia sana. Le lesioni corticali croniche inattive non mostrano un aumento della concentrazione di macrofagi o microglia né sul bordo né all'interno.<sup>(6)</sup>

Il sistema di classificazione delle lesioni corticali ha permesso una definizione dettagliata della localizzazione spaziale delle lesioni all'interno o in stretta vicinanza della corteccia. Questa distinzione è importante perché differenti tipi di lesioni corticali si comportano diversamente in termini di caratteristiche istopatologiche. Per esempio, lesioni puramente intracorticali (tipo 2-4), che sono difficili da visualizzare con MRI, non mostrano sostanziali infiltrazioni di linfociti T. D'altra parte le lesioni leuco-corticali, più facilmente rilevabili con MRI, mostrano una chiara reazione infiammatoria. Questo sta a indicare che il gruppo delle lesioni corticali è eterogeneo e che la sensibilità di MRI dipende dal tipo di lesione.<sup>(5)</sup>

## 1.2 Accumulo di Ferro

Il ferro è un elemento essenziale che gioca un ruolo vitale nel normale metabolismo del cervello, nel trasporto di ossigeno, nella produzione mielinica, nella sintesi dei neurotrasmettitori. Nel tessuto cerebrale, il ferro è immagazzinato in proteine di ferritina ed emosiderina, usata come tampone nel caso di carenza di ferro o di sovraccarico<sup>(7)</sup>. Il ferro non è presente al momento della nascita, e progressivamente i depositi di ferro in diverse strutture del cervello accompagnano la normale crescita<sup>(8)</sup>. Hallgren e Sourander<sup>(9)</sup> hanno dimostrato che la ferritina legata al ferro si accumula nel cervello fino ai 40 anni di vita durante il normale corso degli anni e che la più alta concentrazione di ferritina si trova tipicamente nei gangli della base. Successivamente il livello di ferro rimane costante ad eccezione del

talamo, dove è stato riportato un declino dopo i 35 anni. Inoltre il ferro si accumula maggiormente nella materia grigia rispetto alla bianca<sup>(8)</sup>.

In molte malattie neurodegenerative, come la sclerosi multipla, si è osservato un locale aumento di ferro grazie a esami istologici e immagini di risonanza magnetica. I meccanismi che provocano questo accumulo non sono ancora completamente chiari. Da una parte si è visto che lo stress ossidativo mediato dal ferro ne è una causa e la formazione di aggregati proteici citotossici può innescare o promuovere la neurodegenerazione. Dall'altra, i processi infiammatori, come nella MS, causano un locale accumulo di ferro mediante la rottura della barriera emato-encefalica (BBB) e l'attrazione di macrofagi ricchi di ferro. Recentemente si è visto che l'incremento nell'accumulo di ferro compromette il drenaggio venoso dal cervello, si parla di Insufficienza Venosa Cronica Cerebro-Spinale (CCSVI), patologia diagnosticata in soggetti affetti da MS<sup>(7)</sup>.



## *CAPITOLO 2*

# *TEORIA: MRI*

In questo capitolo saranno esposti i principi alla base della risonanza magnetica e alcuni tipi di sequenze per la generazione di diversi tipi d'immagini.

### **2.1 Aspetti generali**

Il corpo umano è costituito principalmente da acqua e grasso, entrambi ricchi d'idrogeno, per cui nelle applicazioni cliniche di MRI si sfruttano le proprietà di questo elemento.

Il nucleo di idrogeno possiede un singolo protone (numero di massa e atomico pari a 1) ed è caratterizzato da un momento magnetico relativamente grande <sup>(10)</sup>. Normalmente i momenti magnetici dei singoli idrogeni sono orientati in maniera casuale, per cui la magnetizzazione complessiva risulta nulla. Se si applica un campo magnetico  $B_0$  a elevata intensità (il campo magnetico terrestre non è abbastanza intenso), i nuclei allineano il loro momento magnetico lungo la direzione del campo. Si hanno due possibili orientazioni corrispondenti ai due livelli energetici dell'idrogeno, i nuclei con energia minore si allineano parallelamente al campo esterno e sono detti spin-up, mentre quelli con energia maggiore si allineano in direzione anti-parallela e sono detti spin-down. In realtà gli spin soggetti allo stesso campo magnetico non si allineano lungo di esso ma formano un certo angolo  $\theta$  per cui sono soggetti ad un moto di precessione intorno a  $B_0$ . La velocità di rotazione è determinata dalla legge di Larmor

$$\Omega_0 = \gamma B_0$$

$\Omega_0$  pulsazione di Larmor e  $\gamma$  rapporto giromagnetico.

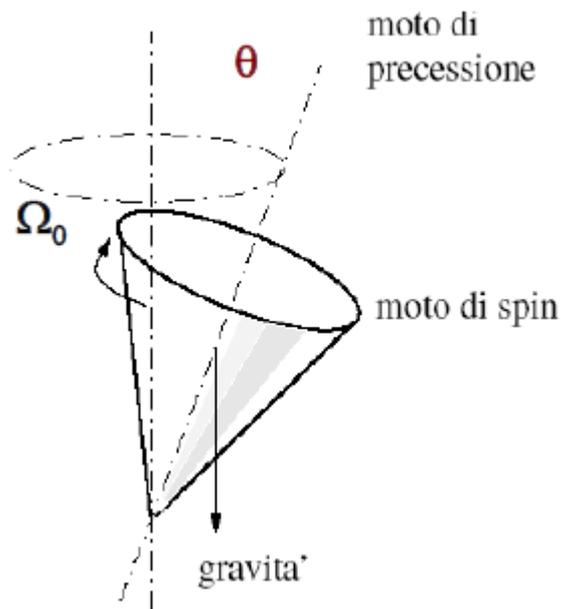


Figura 1 Moto precessione degli spin intorno a  $B_0$

Dal punto di vista macroscopico all'interno di un voxel gli spin sono soggetti allo stesso campo magnetico, per cui la loro magnetizzazione risultante può essere rappresentata con un vettore di magnetizzazione macroscopica  $M$ . Se consideriamo un sistema di riferimento in cui l'asse  $z$  è orientato lungo il campo magnetico e il piano  $xy$  perpendicolare ad esso, il vettore  $M$  avrà componente

- $M_z$  (componente longitudinale) diverso da 0 e orientato parallelamente a  $B_0$ , poiché il numero degli spin-up supera quello degli spin-down ( $N_{UP} > N_{DOWN}$ )
- $M_{xy}$  (componente trasversale) = 0 perché la fase con cui ruotano gli spin è casuale.

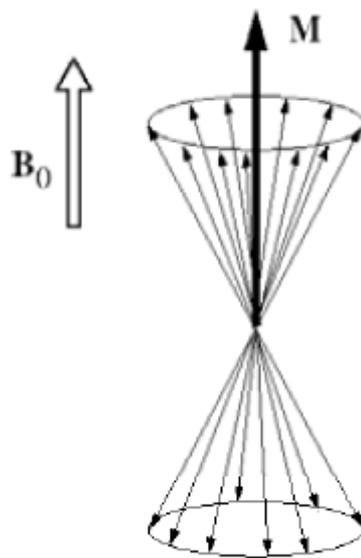


Figura 2 Magnetizzazione risultante  $M$

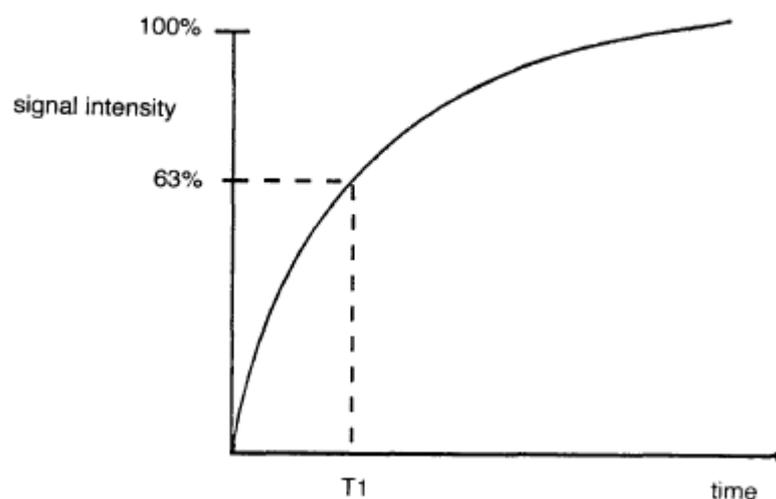
Nella situazione creata da  $B_0$ , si applica una perturbazione aggiuntiva per un certo intervallo di tempo. Tale perturbazione  $B_1$  deve essere perpendicolare a  $B_0$  e tale da annullare il contributo di quest'ultimo. Se  $B_1$  ha una pulsazione  $\Omega_{RF}$  coincidente con la pulsazione di Larmor  $\Omega_0$ , che per i protoni è nell'intervallo delle radio frequenze, si ha il fenomeno di risonanza, condizione nella quale si ha il massimo trasferimento di energia tra la perturbazione e il sistema. L'azione di  $B_1$  modifica il rapporto tra spin-up e spin-down, per cui  $M$  si inclina verso il piano  $xy$  di un angolo  $\alpha$  (flip angle) legato alla durata di applicazione di  $B_1$ . Da una parte la differenza tra  $N_{UP}$  e  $N_{DOWN}$  diminuisce fino ad annullarsi per cui scompare  $M_z$ , dall'altra gli spin che inizialmente avevano fasi diverse sono in concordanza per cui compare la componente  $M_{xy}$ .

### 2.1.1 Rilassamento spin-reticolo $T_1$

Al termine della perturbazione, il sistema tende a tornare nella situazione di equilibrio precedente. Ricompare la componente  $M_z$  con costante di tempo  $T_1$ , si parla di rilassamento spin-reticolo, il processo ha un andamento esponenziale

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

Con  $M_0 = M_z$  prima di applicare  $B_1$

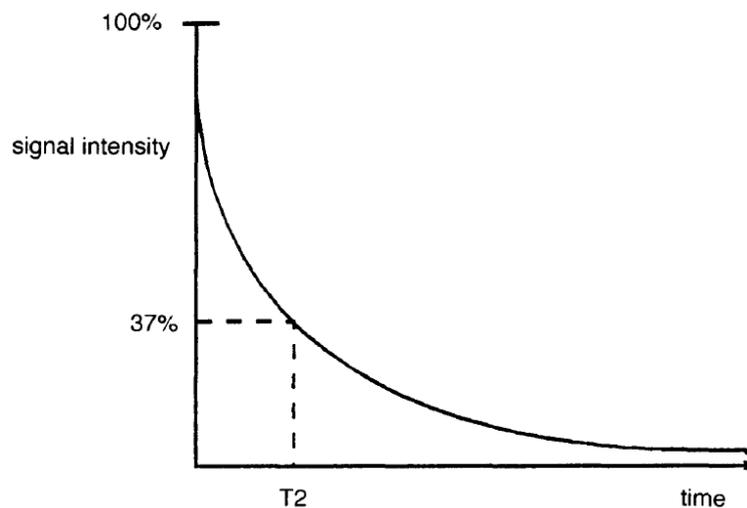


**Figura 3** Andamento della magnetizzazione longitudinale con costante di tempo  $T_1$

### 2.1.2 Rilassamento spin-spin $T_2$ e $T_2^*$

$T_2$  è la costante di tempo legata alla scomparsa di  $M_{xy}$  a causa della dispersione di fase nel piano  $xy$ . Quello che accade è che i nuclei scambiano energia con i loro adiacenti, per cui gli spin precessono con frequenze diverse: alcuni ruotano più velocemente, altri più lentamente e si ha una perdita nella coerenza di fase. Si parla di rilassamento spin-spin ed è dovuto al decadimento e alla perdita di coerenza della magnetizzazione trasversale, il fenomeno ha un andamento esponenziale decrescente:

$$M_{xy} = M_0 e^{-\frac{t}{T_2}}$$



**Figura 4** Andamento della magnetizzazione trasversale con costante di tempo  $T_2$

In realtà la scomparsa totale della magnetizzazione trasversale è dovuta a due fenomeni:

- Decadimento  $T_2$ , appena visto
- Sfasamento dovuto a disomogeneità del campo  $B_0$

Questo secondo aspetto può essere dovuto a cause macroscopiche o microscopiche. Tra le prime la presenza di deossiemoglobina nei piccoli vasi, l'interfaccia aria tessuto, impianti metallici. Le seconde includono agenti di contrasto paramagnetici, i prodotti del sangue, i depositi di ferro (11). Si può parlare quindi di tempo totale di rilassamento trasversale  $T_2^* < T_2 < T_1$ , dato da:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_{2dis}} = \frac{1}{T_2} + \gamma \frac{\Delta B_0}{2}$$

## 2.2 Sequenze di acquisizione

### 2.2.1 Fid

Per leggere il segnale di risonanza viene posta una bobina per radiofrequenze nel piano trasversale  $xy$ .

La variazione temporale di  $M$  dà luogo a un flusso magnetico variabile che a sua volta, in base alla legge di Faraday, induce una forza elettro-motrice (FEM) e quindi un campo elettrico che viene misurato quando attraversa la bobina. Si parla di free induction decay (FID): un segnale sinusoidale con frequenza  $f = \Omega_0/2\pi$  e ampiezza data da un esponenziale decrescente.

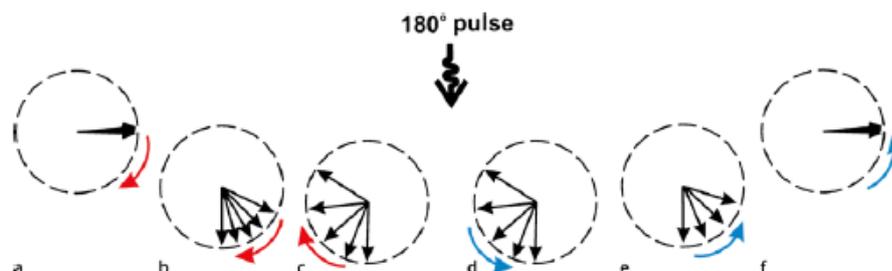
La misura del FID dipende dai tre parametri  $T_1$ ,  $T_2$ ,  $\rho$  (PD densità protonica) e in base al tipo di sequenza utilizzata si può enfatizzare l'uno o l'altro parametro.

Una sequenza è costituita dall'applicazione di una serie di impulsi RF. Un parametro comune a tutte le sequenze è  $T_R$  cioè il tempo di ripetizione della sequenza. Tra le sequenze esistenti si focalizzerà l'attenzione su quelle base e su quelle che sono state utilizzate in questo studio.

### 2.2.2 Spin echo

La spin echo (SE) ha la caratteristica di compensare gli effetti di disomogeneità di  $B_0$ .

Utilizza un impulso a  $90^\circ$  che ribalta la magnetizzazione sul piano trasversale. Man mano si ha una perdita di fase della magnetizzazione longitudinale, per compensare questo sfasamento si applica un impulso a  $180^\circ$ : la magnetizzazione ritorna in fase e genera un segnale detto eco.

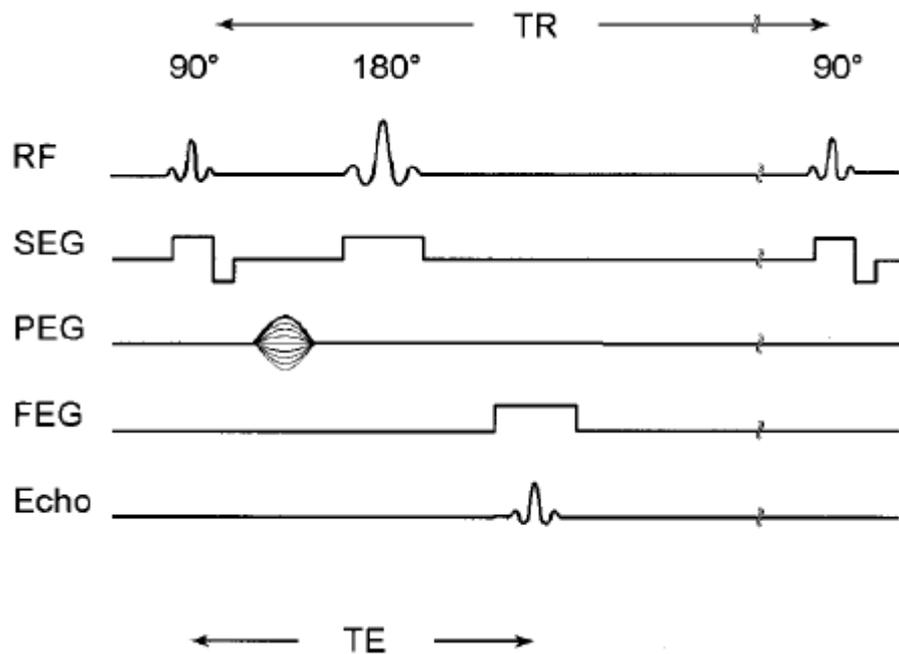


**Figura 5** Spin echo. **a-c** al termine dell'applicazione dell'impulso a  $90^\circ$  c'è una progressiva perdita di coerenza di fase. **d-f** L'impulso a  $180^\circ$  ribalta la fase degli spin. La velocità relativa non viene modificata e gli spin dopo un tempo  $T_E$  convergono.

## Sequenze di acquisizione

Lo svantaggio di questa sequenza è che i tempi di scansione possono divenire lunghi perché per avere il massimo del segnale bisogna aspettare che M ritorni nella posizione iniziale di equilibrio lungo z prima di ripetere la sequenza.

Per la formazione dell'immagine, se si utilizza il metodo di Fourier è necessario usare tre gradienti: SEG per la selezione della slice, FEG per la codifica in frequenza e PEG per la codifica in fase.



**Figura 6** diagramma temporale di una sequenza spin-echo

In applicazioni cliniche in cui  $T_E/2 \ll T_R$ , dove  $T_E$  è il tempo di eco ossia il tempo tra l'impulso a 90° e la massima ampiezza dell'echo, il segnale misurato è pari a

$$S \propto \rho \left(1 - e^{-\frac{T_R}{T_1}}\right) e^{-\frac{T_E}{T_2}}$$

In base alla scelta di  $T_R$  e  $T_E$  è possibile avere immagini  $T_1$ ,  $T_2$  o  $\rho$  pesate:

- Se  $T_R \gg T_1$  si ottengono immagini  $T_2$ -pesate

$$S \propto \rho e^{-\frac{T_E}{T_2}}$$

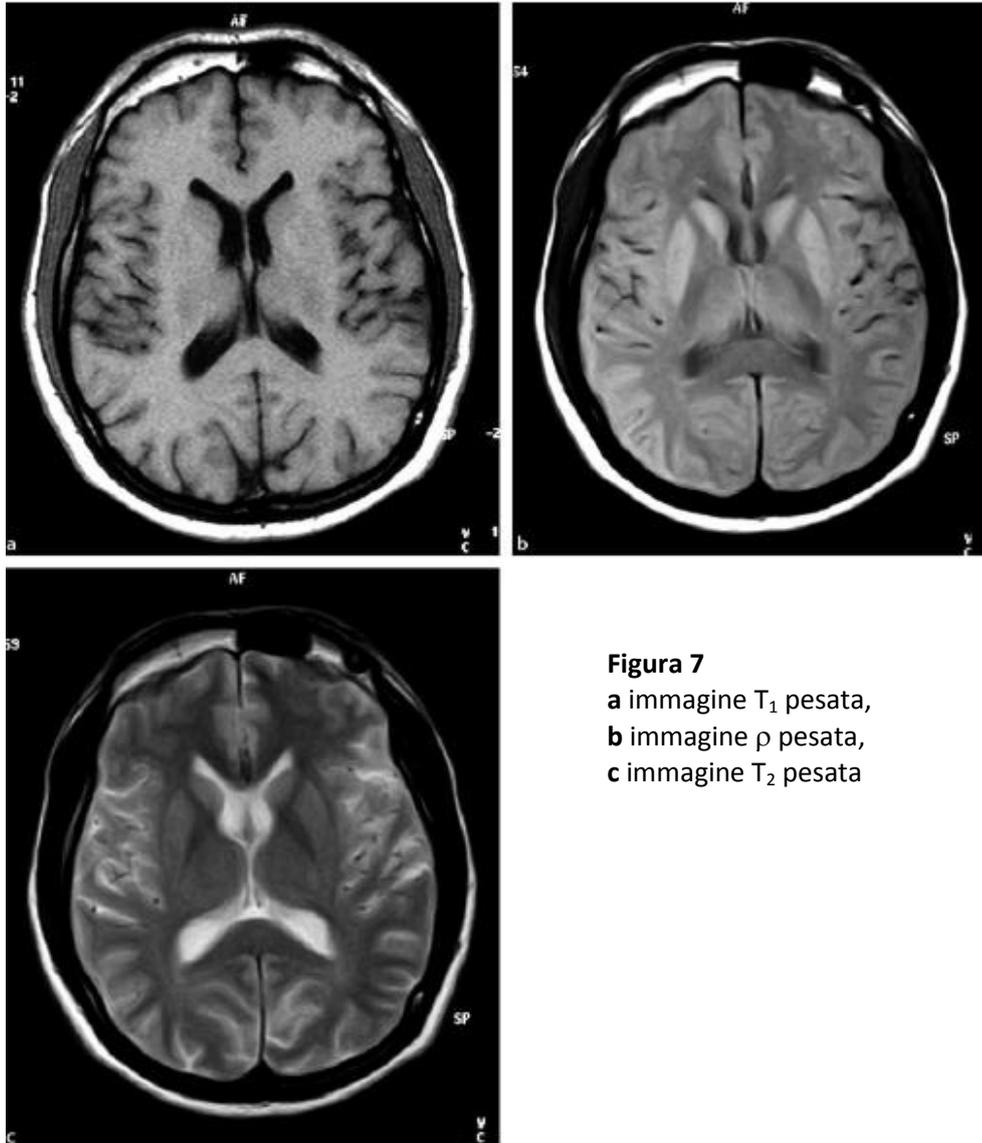
- Se  $T_E \ll T_2$  si ottengono immagini  $T_1$ -pesate

$$S \propto \rho \left(1 - e^{-\frac{T_R}{T_1}}\right)$$

- Se  $T_R \gg T_1$  e  $T_E \ll T_2$  si ottengono immagini  $\rho$ -pesate

$$S \propto \rho$$

In figura è possibile vedere in cosa si differenziano i tre tipi di immagini. Nella  $T_1$  pesata il fluido cerebro-spinale (CSF) risulta ipointenso rispetto al cervello e la materia bianca ha un segnale più elevato della materia grigia, questo tipo di immagine fornisce molte informazioni dal punto di vista anatomico. Nell'immagine  $\rho$  pesata la WM è ipointensa rispetto alla GM e al CSF. Infine nella  $T_2$  pesata il CSF è molto più intenso degli altri tessuti (12).



**Figura 7**  
**a** immagine  $T_1$  pesata,  
**b** immagine  $\rho$  pesata,  
**c** immagine  $T_2$  pesata

### 2.2.3 Tse

È un'evoluzione della spin echo convenzionale. La novità introdotta dalla TSE (turbo spin echo) è che accelera l'acquisizione degli eco senza alterarne l'eccitazione. Per ogni singolo  $T_R$  sono generati eco multipli, ognuno con un differente valore del gradiente di codifica di fase, si parla di treno di eco.

## Sequenze di acquisizione

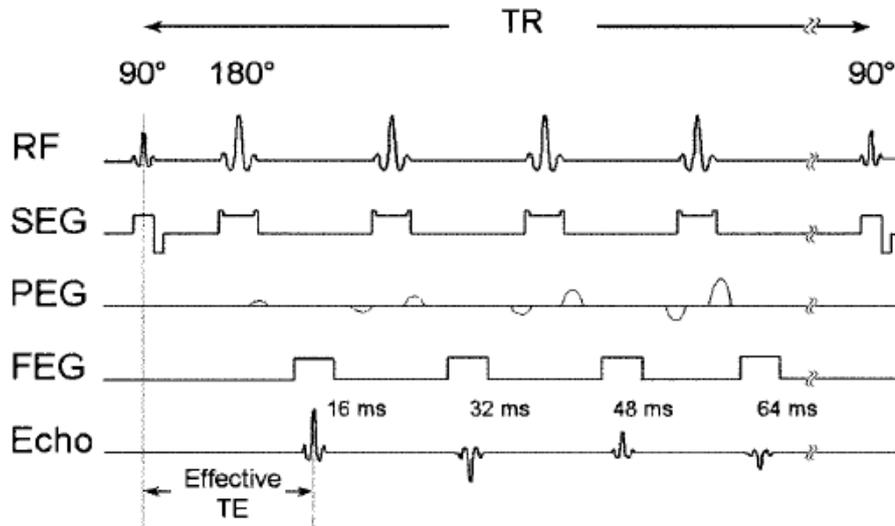


Figura 8 Diagramma temporale di una sequenza turbo spin echo

### 2.2.4 Gradient Echo

L'idea alla base della gradient echo (GE) è di rendere il contrasto dei tessuti indipendente da  $T_R$  utilizzando dei flip angle  $< 90^\circ$ . In questo modo solo una parte di  $M_z$  viene ribaltata sul piano trasversale, la restante è già disponibile per i successivi  $T_R$ . In GE si utilizza un gradiente per riallineare gli spin, invece di un impulso a  $180^\circ$ , così facendo non vengono eliminati gli effetti di defasamento e il FID che si ottiene decade con costante di tempo  $T_2^*$ .

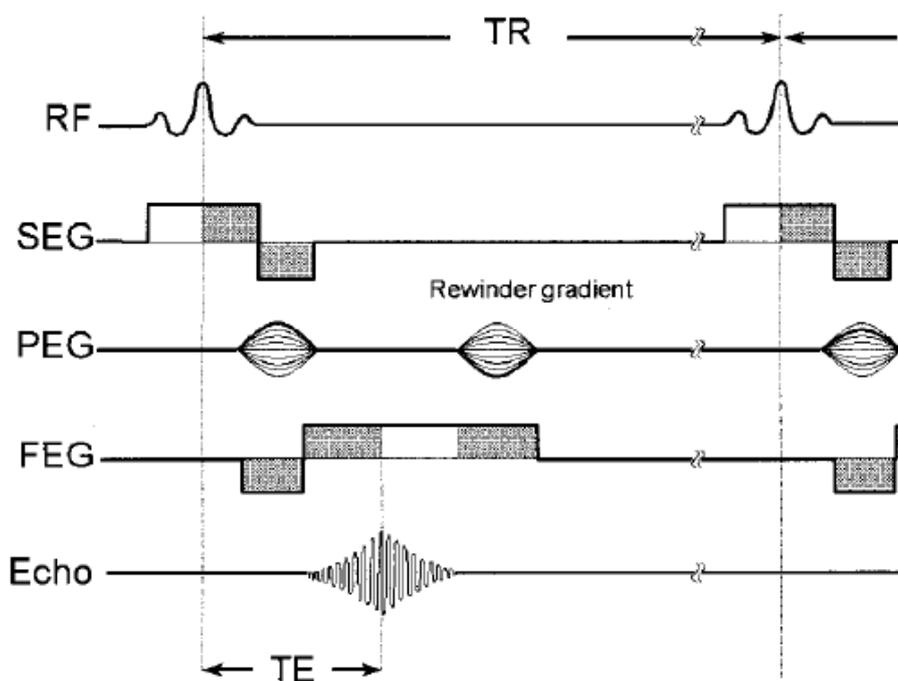


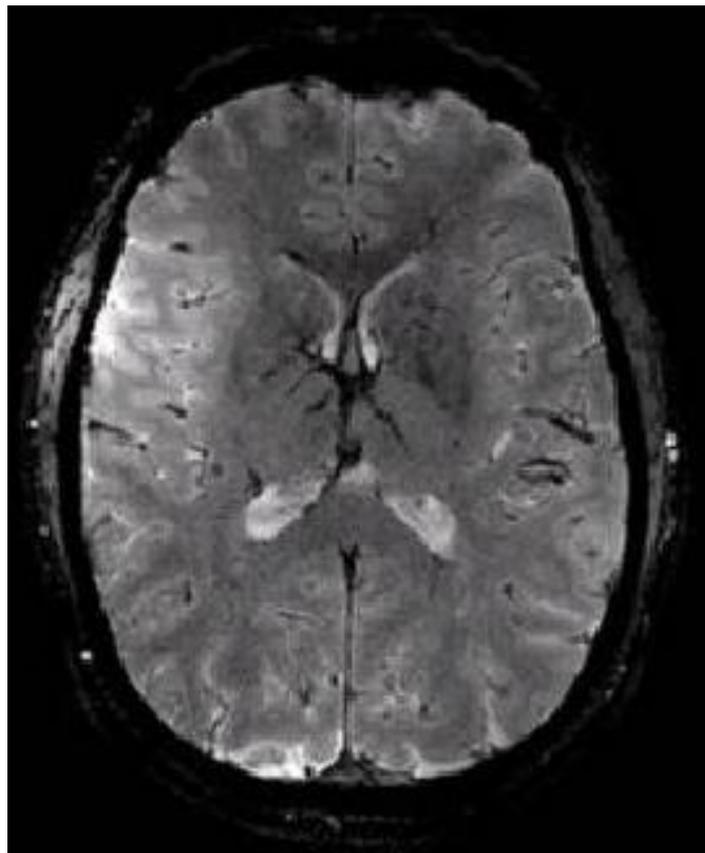
Figura 9 Diagramma temporale di una sequenza gradient echo

Questo tipo di sequenza permette di raggiungere  $T_R$  brevi e quindi di ridurre la durata complessiva della scansione, a svantaggio dell'ampiezza del segnale che risulta ridotta.

Agendo su  $\alpha$  e  $T_E$  (tempo che intercorre tra l'inizio dell'impulso RF e il massimo del segnale), si possono ottenere immagini pesate diversamente:

- con flip angle elevati ( $70-90^\circ$ ) e  $T_E$  brevi (5-10ms) immagini  $T_1$  pesate
- con  $\alpha$  piccoli e lunghi  $T_E$  (20-35ms) immagini  $T_2^*$  pesate.

Si è osservato che le immagini GE  $T_2^*$  pesate presentano delle disomogeneità all'interno di tessuti dello stesso tipo, aspetto dovuto alle caratteristiche stesse della sequenza. Gli effetti di suscettibilità macroscopica causano una perdita di segnale, gli artefatti nell'area frontale del cervello sono aggravati dalla vicinanza con i seni nasali. Gli artefatti peggiorano all'aumentare dei  $T_E$  e dei campi magnetici.



**Figura 10** Immagine gradient echo  $T_2^*$ -pesate a 3T

### 2.2.5 Inversion Recovery

L'Inversion Recovery (IR) permette di aumentare il contrasto tra i tessuti o di annullare il contributo del segnale proveniente da un tessuto.

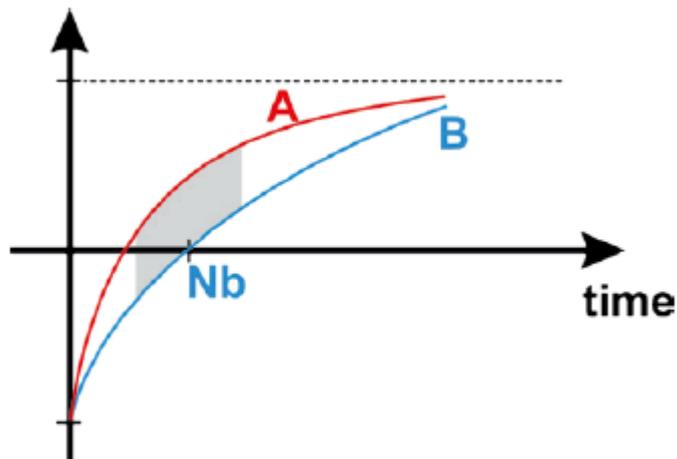


Figura 11 contrasto di due tessuti A e B nell' inversion recovery

La sequenza è costituita da un impulso iniziale a  $180^\circ$  che inverte  $M_z$ . Dopo un intervallo TI (tempo di inversione) si applica un impulso a  $90^\circ$  seguito a sua volta da uno a  $180^\circ$  di rifasamento applicato dopo  $T_E$ . La sequenza può essere riassunta in un impulso di inversione seguito da una spin-echo.

Nell'immagine risultante il contrasto tra due tessuti è principalmente legato alla scelta di TI.

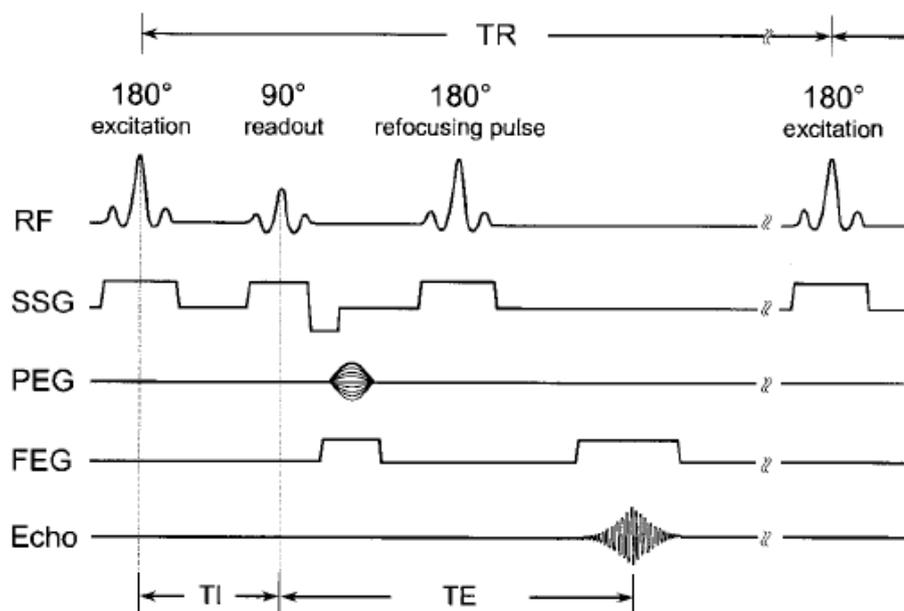


Figura 12 diagramma temporale di una sequenza inversion recovery

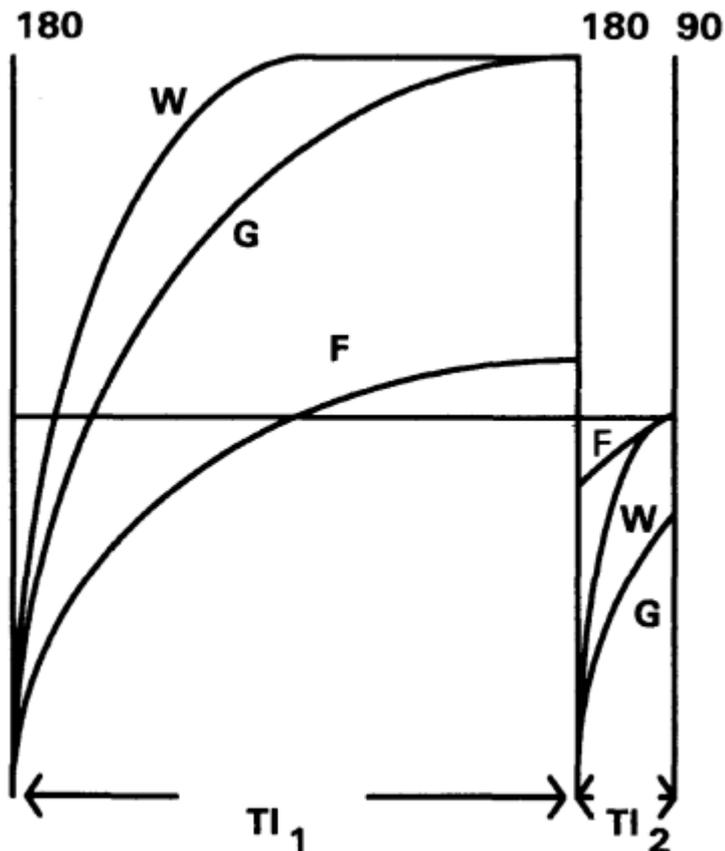
### 2.2.6 Flair

La sequenza Fluid Attenuated Inversion Recovery (FLAIR) è una variazione dell'inversion recovery. Si annulla il segnale proveniente dal fluido cerebro-spinale scegliendo un TI che permetta alla  $M_z$  del CSF di tornare al valore nullo prima della spin-echo.

### 2.2.7 Dir

Come si è visto l'inversion recovery può essere utilizzata per annullare il segnale di un singolo tessuto mediante la scelta appropriata del tempo di inversione TI.

L'uso di un impulso di inversione aggiuntiva permette di annullare contemporaneamente il contributo di 2 tessuti, questo tipo di sequenza è chiamata Double Inversion Recovery (DIR). Per esempio se si fosse interessati al solo contributo del segnale GM, la DIR permette di annullare il segnale proveniente da WM e CSF. Viene applicato un impulso iniziale di  $180^\circ$ , nel successivo intervallo  $T_{I1}$  i tessuti del cervello recuperano completamente la magnetizzazione, mentre il CSF, che ha un  $T_1$  più lungo, recupera solo una piccola frazione di  $M_0$ . In seguito viene applicato un altro impulso di  $180^\circ$  e il secondo intervallo di inversione è scelto in modo da annullare la magnetizzazione della WM. La materia grigia, caratterizzata da un  $T_1$  più lungo, rimane negativa e genera un segnale. Nella pratica il tutto si complica perché il cervello ha una struttura complessa. Per esempio, nei solchi all'interno di un singolo voxel è possibile trovare tutti i tipi di tessuti: GM, WM, CSF. La tecnica DIR offre un metodo per segmentare i tessuti cerebrali, senza il bisogno di utilizzare algoritmi di post-processing, come invece accade per altre sequenze. La Dir non è limitata in prima misura dalla risoluzione spaziale, ma dall'efficienza di soppressione degli impulsi.



**Figura 13** andamento della magnetizzazione  $M_z$  negli intervalli di inversione  $TI_1$  e  $TI_2$  riferito a CSF (F), WM (W) e GM (G).

## 2.3 Applicazioni

Tra le possibili applicazioni delle immagini di risonanza magnetica, sono di seguito illustrate quelle legate all'individuazione delle lesioni corticali e alla quantificazione del sovraccarico di ferro nel cervello in soggetti affetti da sclerosi multipla.

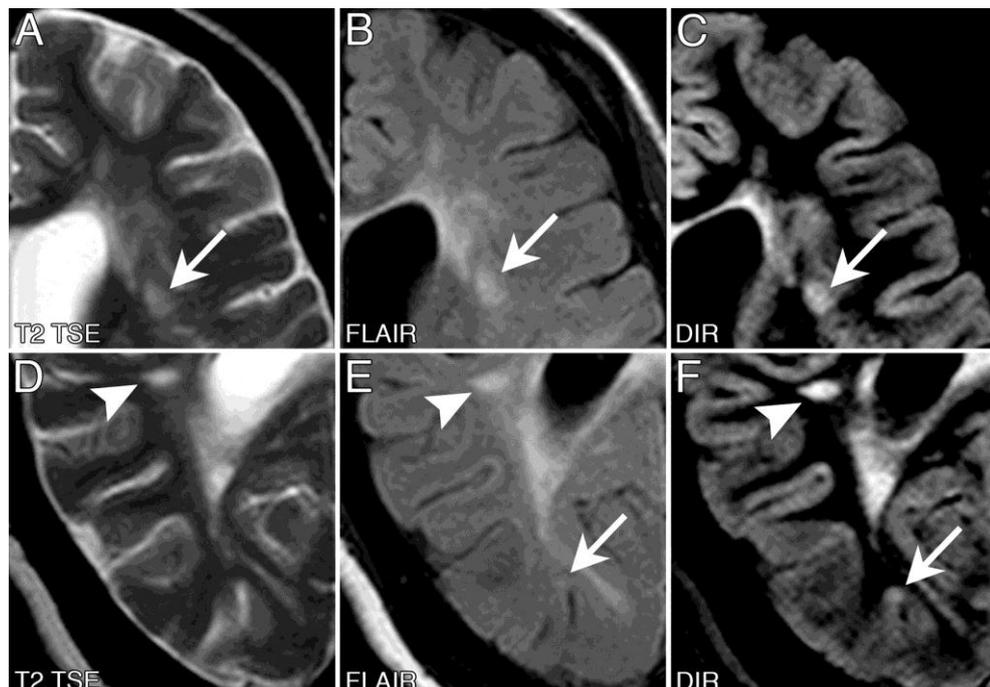
### 2.3.1 MRI e lesioni corticali

Le diverse sequenze hanno sensibilità differenti nell'individuare le lesioni in base alla loro collocazione anatomica.

Le immagini FLAIR sono altamente sensibili alle lesioni prossime al CSF, come iuxtacorticali e periventricolari della WM. Le immagini  $T_2$  pesate, con SE convenzionale o TSE, sono più sensibili all'individuazione delle lesioni infratentoriali, ma hanno difficoltà con quelle iuxtacorticali. Invece, la DIR fornisce un contrasto maggiore tra le lesioni e la Normal Appearing White Matter (NAWM) in tutte le regioni anatomiche se paragonata a FLAIR e  $T_2$  TSE. Questo porta ad un'elevata sensibilità nella determinazione delle lesioni

sopratentoriali e delle leuco-corticali. Tuttavia, la DIR ha prestazioni minori nell'individuazione delle lesioni iuxtacorticali della WM.

La ragione preponderante della diversa identificazione delle lesioni tra DIR e FLAIR è data dal fatto che nella prima c'è una netta delineazione tra WM e GM, il che permette una rigorosa differenziazione tra le lesioni puramente iuxtacorticali e quelle che già toccano l'area corticale. Alcune delle lesioni che con FLAIR e T2 TSE erano state classificate come iuxtacorticali, nella DIR sono categorizzate come leuco-corticali.<sup>(13)</sup>



**Figura 14** esempio di come le lesioni leuco-corticali siano meglio visibili nella sequenza DIR. La lesione indicata con la freccia (nel riguardo di sopra) era stata classificata come lesione iuxtacorticale in base alle immagini FLAIR E T2 TSE. Mentre grazie alla miglior delineazione della GM e WM presente nella DIR, la lesione è stata riclassificata come leuco-corticale. La lesione indicata dalla freccia nel riguardo inferiore è un esempio di lesione corticale visibile solo in DIR. Mentre la lesione indicata dalla freccia aperta, se osservata nell'immagine DIR, è facilmente classificabile come lesione iuxtacorticale che non tocca la corteccia.

### 2.3.2 MRI e ferro

La MRI potenzialmente permette una valutazione qualitativa e quantitativa della distribuzione e della concentrazione di ferro. La presenza di quest'ultimo altera ampiezza e fase del segnale di risonanza<sup>(14)</sup>. Le interazioni tra i complessi di ferro a elevato peso molecolare (come ferritina ed emosiderina) e le molecole di acqua provocano un defasamento più veloce della magnetizzazione

## Applicazioni

trasversale ( $T_2$  e  $T_2^*$  ridotti), che si riflette in una perdita d'intensità del segnale proporzionale alla concentrazione di ferro <sup>(11)</sup>.

Drayer e al <sup>(15)</sup> sono stati i primi a descrivere una riduzione dell'intensità del segnale nel talamo e nel putamen in immagini  $T_2$  pesate di pazienti affetti da MS, aspetto che loro ritenevano dovuto a un aumento del livello di ferritina. La maggior limitazione in questo tipo di approccio è legata al fatto che l'intensità del segnale  $T_2$  non varia linearmente con la concentrazione di ferro <sup>(7)</sup>.

Più recentemente è stato mostrato l'andamento lineare di  $R_2^*$  ( $R_2^* = 1/T_2^*$ ) in relazione alla concentrazione di ferro, con il vantaggio che questo parametro è meno influenzato dal contenuto di acqua dei tessuti rispetto a  $T_2$ .  $T_2^*$  è potenzialmente il parametro che potrebbe essere utilizzato come indice della misura del ferro <sup>(14)</sup>. Da queste considerazioni deriva l'uso della gradient echo per ottenere immagini che siano sensibili all'individuazione e alla quantificazione del sovraccarico di ferro.

# *CAPITOLO 3*

## *MATERIALI E METODI*

### 3.1 Soggetti e sequenze

I dati a disposizione per questo studio sono stati forniti dal Poliambulatorio Euganea Medica, sito a S. Agostino di Albignasego e facente parte del gruppo Data Medica.

Dal data-set iniziale sono stati selezionati, grazie ad una prima ispezione visiva, i pazienti affetti da sclerosi multipla che presentavano possibili lesioni corticali o leuco-corticali.

Dopo questa scrematura si è lavorato su 11 soggetti di cui in Tabella 2 sono riportate in breve le informazioni riguardanti età, sesso, avanzamento della malattia e forma di MS.

Età	38,5 ± 6,9
Sesso	8 F / 3 M
EDSS	1.4 ± SD
Forma MSO	1 RP / 8 RR / 1 Possibile SM / 1 Marburgh

**Tabella 2** Dati relativi ai pazienti del data-set

Per ogni paziente si hanno a disposizione diverse immagini di risonanza magnetica, tra cui quelle utilizzate sono:

1. Immagini  $T_2$  *pesate* con TSE
2. Immagini  $T_2^*$  *pesate* con gradient-echo, in particolare con protocollo Fast Field Echo (FFE)
3. Immagini *FLAIR*
4. Immagini *DIR*

In Tabella 3 sono riportate le caratteristiche per ogni sequenza. Va notato che i 4 tempi di echo dell'immagine  $T_2^*$  non sono acquisiti tutti durante una singola scansione, ma i  $T_E$  pari a 50 e 100 ms in una seconda acquisizione. Quest'aspetto avrà le sue conseguenze come si vedrà in seguito.

immagine	T <sub>2</sub>	T <sub>2</sub> *	FLAIR	DIR
sequenza	TSE	FFE	IR	IR
Sigla	TSET2	FFET2	3DFLAIR	GMMODRL
N° slice	20	20	50	50
Dimensioni slice	256x256	256x256	288x288	256x256
N° echi	3	4	1	1
TE (ms)	20-55-90	10-25; 50-100	120	25
TR (s)	3.6	2.5	10	14.13

**Tabella 3** Parametri delle sequenze utilizzate

## 3.2 Software

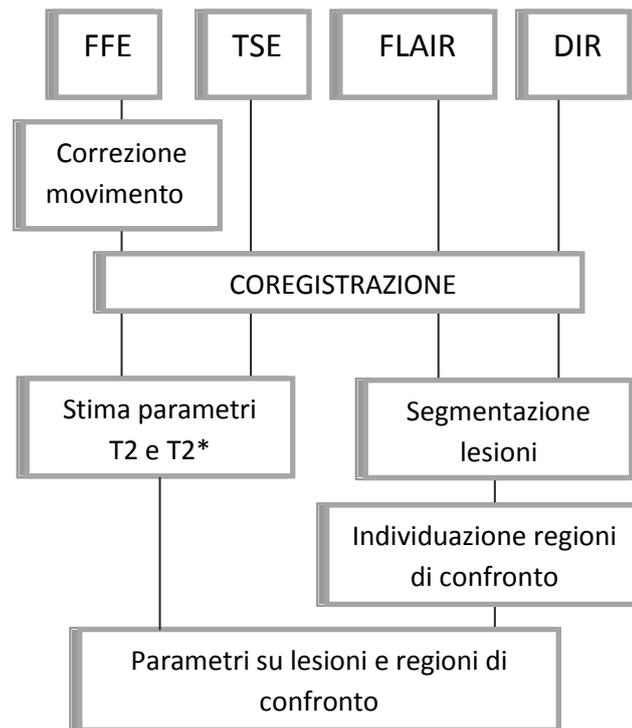
Tutte le analisi sono state svolte utilizzando:

- MatLab (abbreviazione di **Matrix Laboratory**), ambiente interattivo e linguaggio di calcolo tecnico di alto livello, versione 7.11 (R2010b) prodotta da *The MathWorks, Inc.* © 1984-2010;
- SPM (Statistical Parametric Mapping), versione 8, prodotto dalla *Wellcome Trust Centre for Neuroimaging*. È un toolbox di MatLab utilizzato per organizzare e interpretare i dati provenienti da neuro-immagini funzionali. È un free software, coperto da copyright, distribuito secondo licenza GNU (General Public Licence).

## 3.3 Schema generale

Durante lo svolgimento di questo studio si è lavorato, almeno inizialmente, su due fronti: da una parte l'individuazione delle lesioni corticali dall'altra la quantificazione dei parametri T<sub>2</sub> e T<sub>2</sub>\*. In seguito i risultati ottenuti sono stati elaborati insieme.

In Figura 15 è riportato uno schema che spiega in breve le operazioni svolte, i vari passaggi sono poi illustrati nei paragrafi e capitoli successivi.



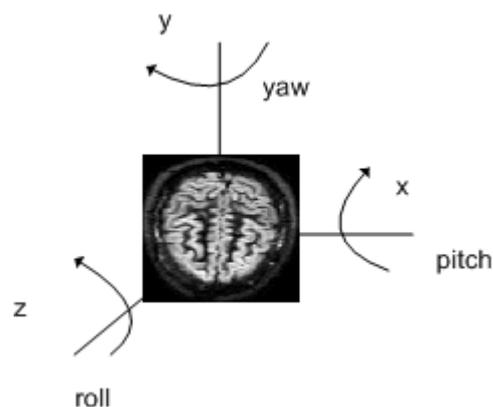
**Figura 15** Schema delle operazioni svolte

### 3.3.1 Correzione per movimento

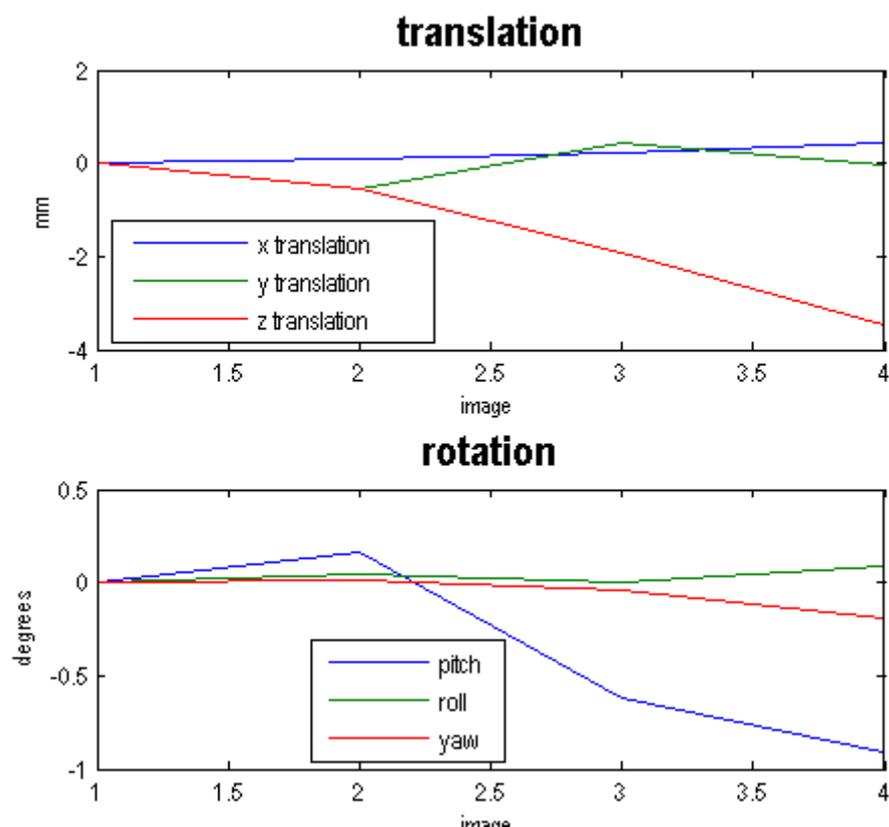
Il primo passo è stato valutare la necessità o meno di allineare le immagini  $T_2^*$  relative allo stesso paziente acquisite nei diversi tempi di echo, poiché ci possono essere artefatti dovuti al movimento del paziente. Si è eseguita cioè una coregistrazione rigida o correzione da movimento basata su algoritmi che prevedono come trasformazioni possibili solo traslazioni e rotazioni, per farlo si è utilizzato il comando di SPM Realign. Questa routine si basa su un approccio ai minimi quadrati e su 6 parametri di trasformazione spaziale, la prima immagine specificata dall'utente è presa come riferimento e su di essa sono riallineate tutte le scansioni successive.

Si è utilizzato come riferimento il volume corrispondente al primo tempo di echo e il risultato ottenuto è visualizzato in Figura 17.

## Schema generale



**Figura 16** immagine con sistema di riferimento e nomi delle rotazioni



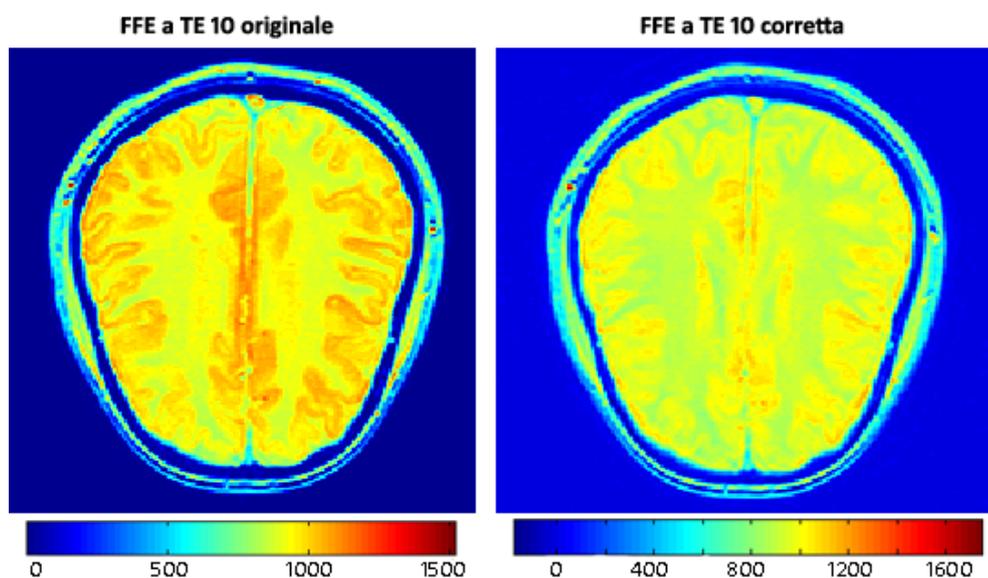
**Figura 17** Risultato della stima della correzione per movimento effettuata con SPM

C'è una traslazione significativa soprattutto del quarto volume ( $T_E = 100\text{ms}$ ) lungo la direzione z e una rotazione dello stesso intorno a x, per cui si è proseguito con l'applicazione della trasformazione (per capire il significato delle rotazioni vedere la Figura 16). Nelle immagini ottenute si perde l'ultima fetta (presenta valore nullo in ogni voxel), quest'aspetto non può essere trascurato perché come vedremo in seguito alcune lesioni corticali sono presenti proprio nella ventesima slice. Si è provato a cambiare interpolatore ma non si sono

ottenuti miglioramenti significativi, allora si è pensato di utilizzare come riferimento il volume al  $T_E = 100\text{ms}$ , con i seguenti esiti:

- Si perde la prima slice, non è importante
- Ci sono problemi legati al fatto che la FFE a  $T_E = 100\text{ms}$  è molto rumorosa.

Se si confronta una slice presa dal volume originale e una da quello corretto, si osserva come in quest'ultimo siano presenti valori negativi e i bordi tra WM e GM siano meno definiti (Figura 18).



**Figura 18** Confronto tra immagine originale e immagine corretta

Ai fini di questo lavoro si è visto che la traslazione misurata non era così rilevante, quindi si è preferito non effettuare la correzione per movimento dati i problemi sopra elencati.

### 3.3.2 Coregistrazione

Il secondo passo è stato quello di coregistrare DIR e FLAIR su FFE, perché, come si può vedere dalla tabella, hanno numero e dimensione delle slice diversi tra loro. Per *coregistrazione* si intende un insieme di metodi che permettono di allineare ad uno spazio comune dataset acquisiti in tempi diversi o con tecniche diverse.

Si è sempre utilizzato SPM, in particolare la routine Coregister, lasciando le impostazioni di default. La FFE al tempo di echo 10ms è usata come riferimento e su di essa si coregistra la DIR, ottenendo così immagini DIR a 20 slice con risoluzione 256x256. Quest'ultima poi viene presa come riferimento per la coregistrazione della FLAIR,

## Schema generale

ottenendo immagini a 20 slice con risoluzione 256x256. D'altro canto si è coregistrata la FLAIR di partenza sulla DIR a 50 fette, si hanno così immagini FLAIR sempre a 50 fette ma con risoluzione 256x256. Tutti i passaggi sono riassunti nello schema di Figura 19

Riassumendo le immagini sulle quali si andrà a lavorare sono:

- FFE 20 slice 256x256
- DIR 50 slice 256x256: DIR50
- DIR 20 slice 256x256: DIR20
- FLAIR 50 slice 256x256: FLAIR50
- FLAIR 20 slice 256x256: FLAIR20

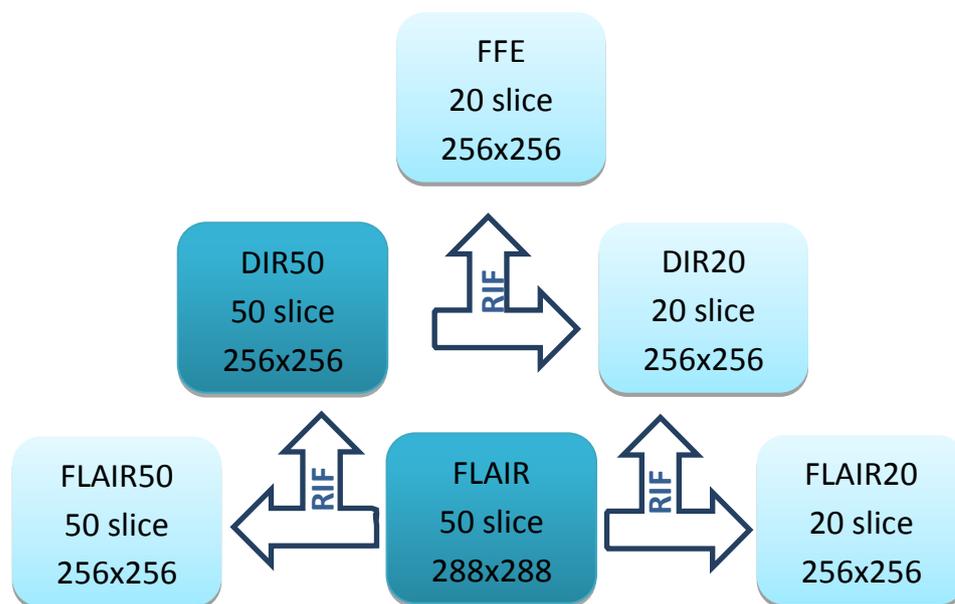


Figura 19 Schema delle coregistrazioni

### 3.3.3 Individuazione delle lesioni

Le lesioni sono state individuate mediante un algoritmo che lavora con immagini DIR e FLAIR e fornisce in uscita diverse maschere di segmentazione tra cui quella per l'estrazione dell'encefalo e quella per le lesioni corticali e leuco-corticali <sup>(16)</sup>. L'algoritmo sovrastima il numero di lesioni e dà falsi positivi, per cui bisogna procedere a un controllo visivo.

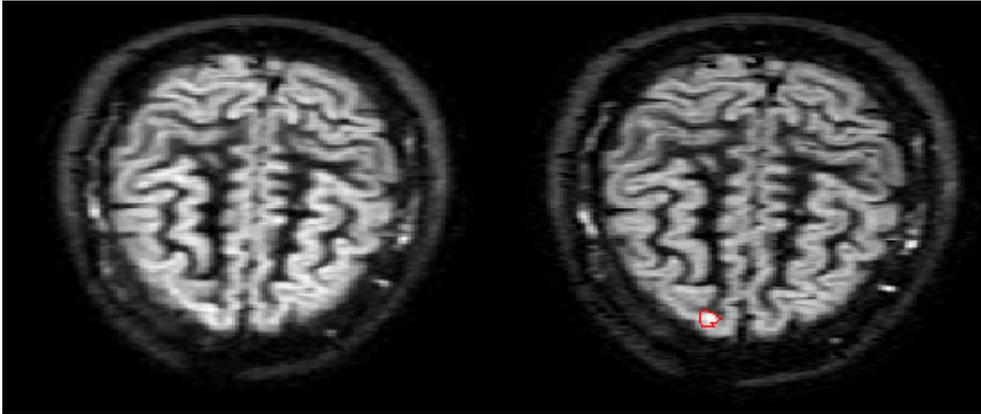
Per ogni soggetto l'algoritmo è stato fatto girare su DIR50 e FLAIR50, ed è stato adattato per sequenze a 20 fette in modo da poter lavorare con DIR20 e FLAIR 20. Questo passaggio è stato realizzato cercando una corrispondenza visiva tra ogni singola slice della FFE e la DIR50, nel seguente modo:

FFE	DIR
1	7
2	8
3	10
4	12
5	14
6	15
7	17
8	20
9	23
10	24
11	27
12	28
13	31
14	33
15	34
16	36
17	39
18	41
19	43
20	45

**Tabella 4** corrispondenze tra le 20 slice della FFE e le 50 della DIR

La Tabella 4 permette anche di dire che una lesione visibile nella slice 24 della DIR50 dovrebbe orientativamente trovarsi nella slice 10 della DIR20, costituisce quindi un modo per valutare se la coregistrazione ha avuto come effetto collaterale la perdita di alcune lesioni. Ad esempio in Figura 20 si può notare come la lesione visibile nella DIR50 (a destra) scompare poi nella DIR20 (a sinistra).

Tutte le lesioni, avute come risultato dall'algoritmo, sono state poi validate da un neurologo.



**Figura 20** Soggetto 659, la lesione visibile nella DIR50 sulla destra non lo è più nella DIR20 sulla sinistra

### 3.3.4 Individuazione di regioni di confronto

Per vedere se effettivamente le lesioni si differenziano in termini di  $T_2$  e  $T_2^*$  da altre zone dell'encefalo, si è pensato di selezionare altre regioni di interesse (ROI) con cui effettuare un confronto.

Sulla base della segmentazione delle lesioni effettuata e sulle immagini DIR e FLAIR, si sono selezionate manualmente le seguenti regioni di

- GM sana (scelte in modo da essere strettamente vicine a lesione in GM o in posizione controlaterale per evitare fenomeni di disomogeneità) o NAGM (Normal Appearing Gray Matter)
- WM malata (se presente)
- NAWM

Si hanno così a disposizione delle maschere che permettono di selezionare le varie ROI all'interno del volume cerebrale.

### 3.3.5 Modelli per la stima di $T_2$ e $T_2^*$

Si vogliono quantificare i parametri  $T_2$  e  $T_2^*$  rispettivamente dalle immagini TSE e FFE. L'analisi è stata eseguita, almeno inizialmente, su tutto l'encefalo senza considerare una particolare regione di interesse.

Per descrivere l'andamento dei due parametri è stato utilizzato un modello mono-esponenziale con standard deviation (SD) sui dati costante non nota e quindi stimata a posteriori. Il modello, già testato e validato in precedenza, è il seguente:

$$S_{FFE}(T_E) = PD_{FFE} e^{-\frac{T_E}{T_2^*}} \quad S_{TSE}(T_E) = PD_{TSE} e^{-\frac{T_E}{T_2}}$$

I modelli sono non lineari nei parametri per cui è stato necessario utilizzare uno stimatore non lineare, in particolare i minimi quadrati pesati non lineari (WNLLS), che in MatLab possono essere implementati con la function lsqnonlin. La function minimizza la seguente funzione costo:

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

---

## *CAPITOLO 4*

# *RISULTATI*

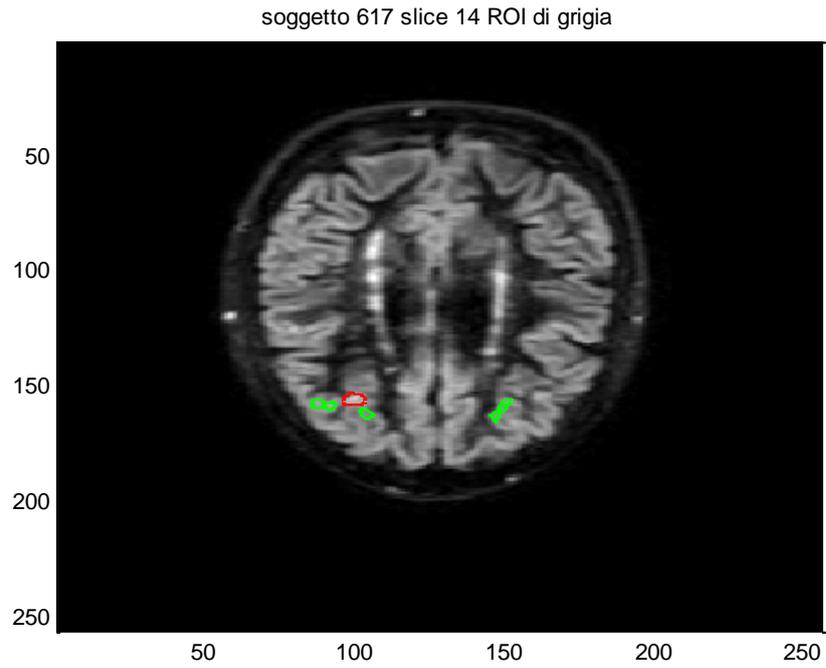
### **4.1 Lesioni e Regioni di confronto**

Tra tutti i soggetti, quelli che presentano lesioni di interesse per lo studio sono elencati in tabella.

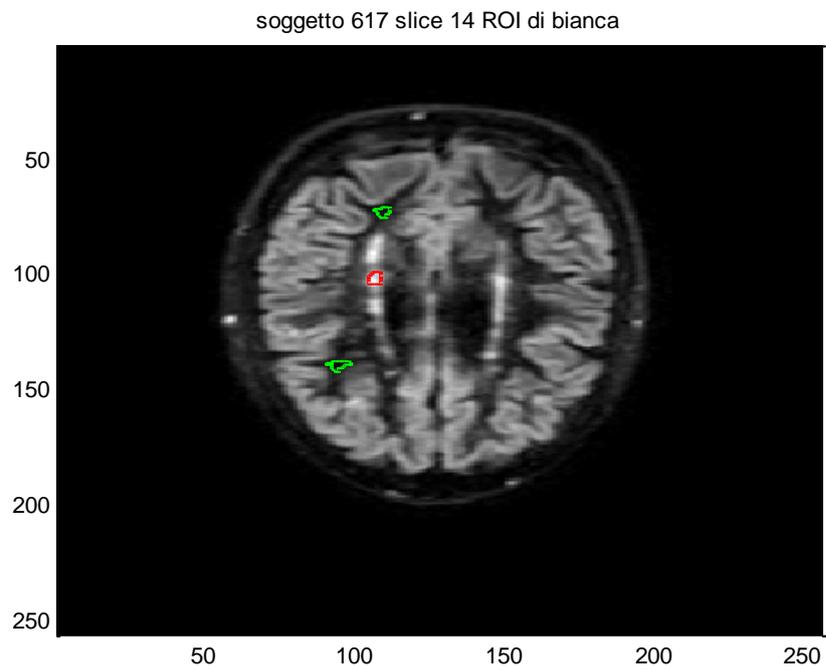
<b>soggetto</b>	<b>Slice con lesione</b>
030	13
	18
	19
187	15
	20
617	14
	16
	17
653	15
658	16
	18
	19

**Tabella 5** Elenco delle slice che presentano lesioni in GM

Come spiegato nel paragrafo 3.3.4 per ogni lesione si sono individuate delle regioni di confronto. In figura 21 e 22 sono mostrate su immagini DIR le lesioni di WM e GM nella slice 14 del soggetto 617 e le rispettive regioni di riferimento.



**Figura 21** Lesione in GM (rosso) e regioni di NAGM (verde) nella slice 14 del soggetto 617



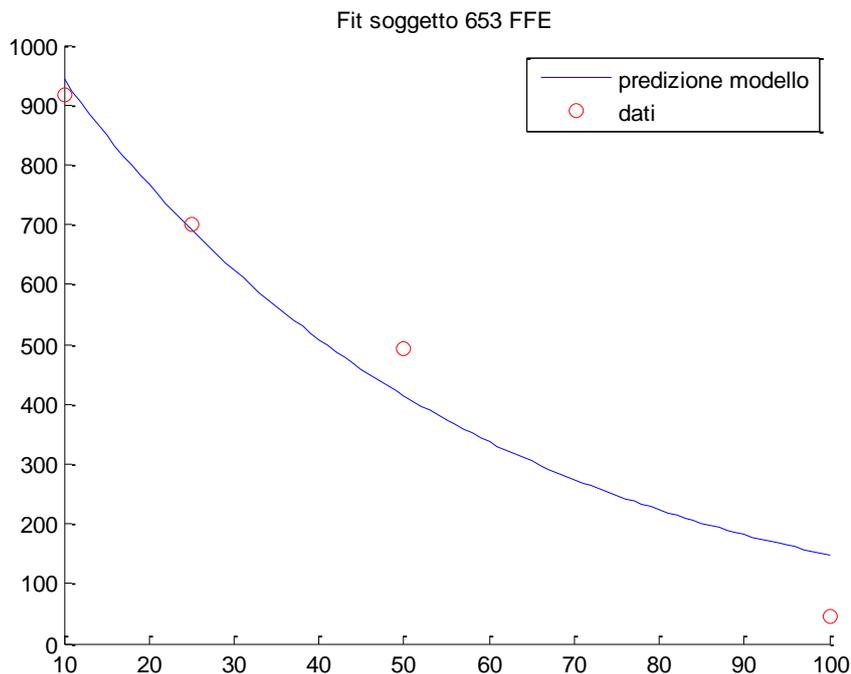
**Figura 22** Lesione in WM (rosso) e regioni di NAWM (verde) nella slice 14 del soggetto 617

## 4.2 Stima del $T_2$ e $T_2^*$

In questa sezione si riportano i risultati ottenuti nel calcolo dei parametri  $T_2$  e  $T_2^*$ , con i rispettivi CV.

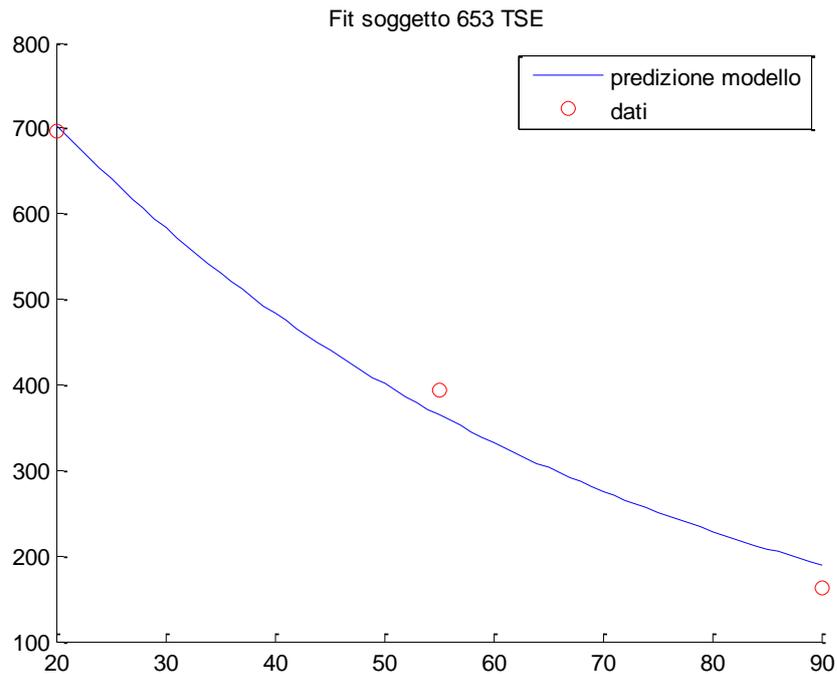
Nel commentare, va ricordato che nel caso di  $T_2$  si è utilizzato un numero inferiore di dati per la stima parametrica per cui il confronto tra i risultati risente di questa condizione.

Per prima cosa sono riportati in Figura 23 Figura 24 i fit dei dati provenienti dalle immagini FFE e TSE.



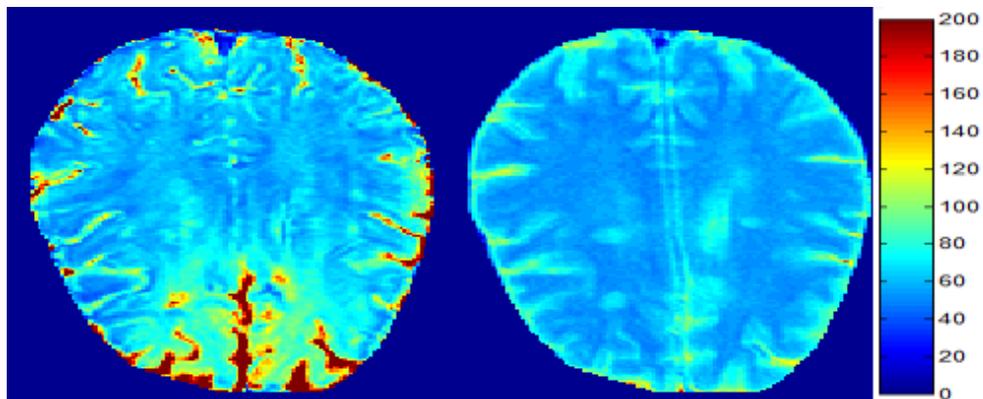
**Figura 23** Dati e predizione del modello ottenuta da immagini FFE

Avendo scelto un modello con SD sui dati costante, la predizione del modello (Figura 23) è più fedele ai primi campioni e meno agli ultimi, il che non è un problema perché si è visto come gli ultimi volumi siano i più rumorosi.



**Figura 24** Dati e predizione del modello ottenuta da immagini TSE

In Figura 25 sono mostrate le mappe di  $T_2^*$  e  $T_2$  per la slice 15 del soggetto 653, riportate con la stessa scala.

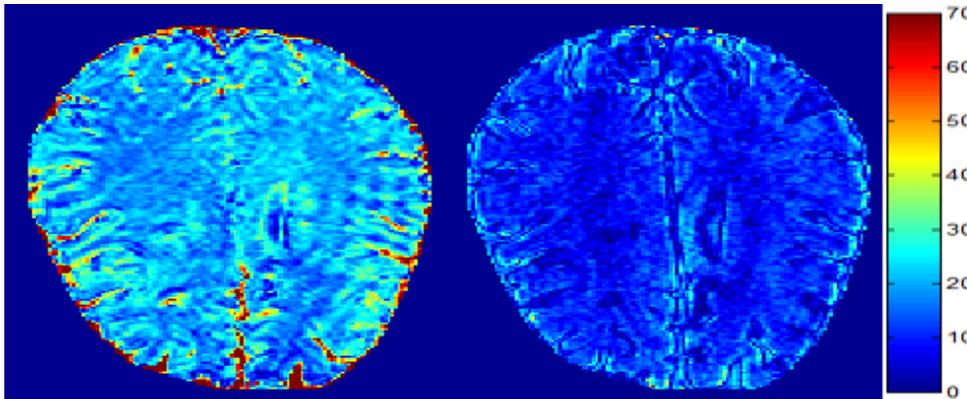


**Figura 25** mappa di  $T_2^*$  (a sinistra) e mappa di  $T_2$  (a destra) per il soggetto 653, slice 15

I valori di  $T_2^*$  risultano meno omogenei all'interno della stessa regione, come si può vedere se si osserva la materia grigia che assume valori elevati nella parte frontale, questo aspetto è legato a caratteristiche proprie della gradient-echo. Mentre nella mappa di  $T_2$  queste disomogeneità non sono riscontrate e le regioni di GM e WM sono facilmente individuabili.

## Valutazione di $T_2$ e $T_2^*$ sulle lesioni e regioni di confronto

La Figura 26 mostra i CV dei parametri stimati, sempre per il soggetto 653 anche in questo caso i valori sono stati riportati alla stessa scala.  $T_2$  assume CV inferiori a  $T_2^*$  e più omogenei.



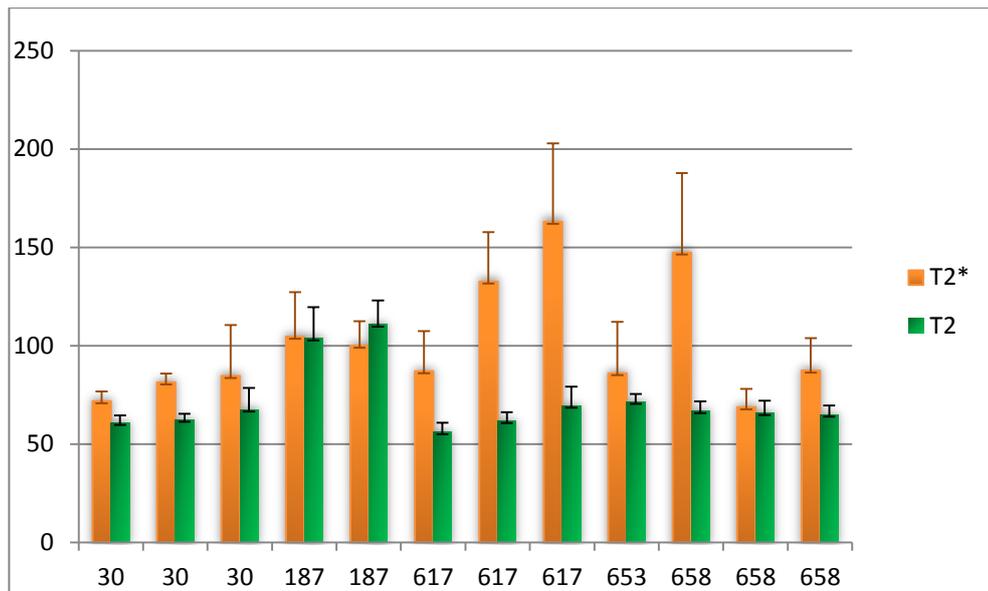
**Figura 26** mappa del CV di  $T_2^*$  (a sinistra) e di  $T_2$  (a destra) per il soggetto 653, slice 15

### 4.3 Valutazione di $T_2$ e $T_2^*$ sulle lesioni e regioni di confronto

Sulle ROI individuate in precedenza si sono quantificati i due parametri con le rispettive precisioni.

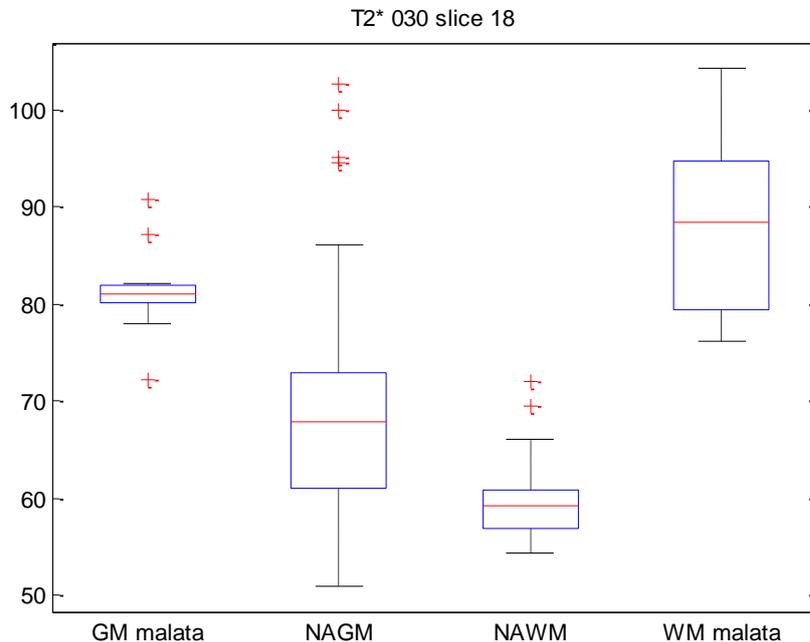
In Figura 27 sono rappresentati i valori medi e le rispettive deviazioni standard delle lesioni di GM: in verde quelli relativi a  $T_2$  e in arancione a  $T_2^*$ . Si può notare come i valori medi di  $T_2$ , fatta eccezione per il soggetto 187, oscillino intorno 65 ms, con standard deviation piuttosto piccole. Invece per il parametro  $T_2^*$ , le standard deviation crescono fino a raggiungere un picco di 40 ms nel soggetto 658; i valori medi non sono prossimi ad un valore comune, ma si possono osservare gruppi di lesioni che assumono valori simili tra loro. Questo fatto può essere giustificato dal tipo di sequenza usata: infatti una sequenza  $T_2^*$ -weighted è intrinsecamente soggetta a inomogeneità intra slice, che causano variazioni importanti del segnale i.e. tra la zona frontale e la zona occipitale.

Non avendo a disposizione un valore di  $T_2$  o di  $T_2^*$  “vero”, le stime fatte sulla lesioni sono state di volta in volta confrontate con regioni di NAGM che fossero adiacenti alle lesioni stesse, in modo da minimizzare i sopracitati problemi di inomogeneità.



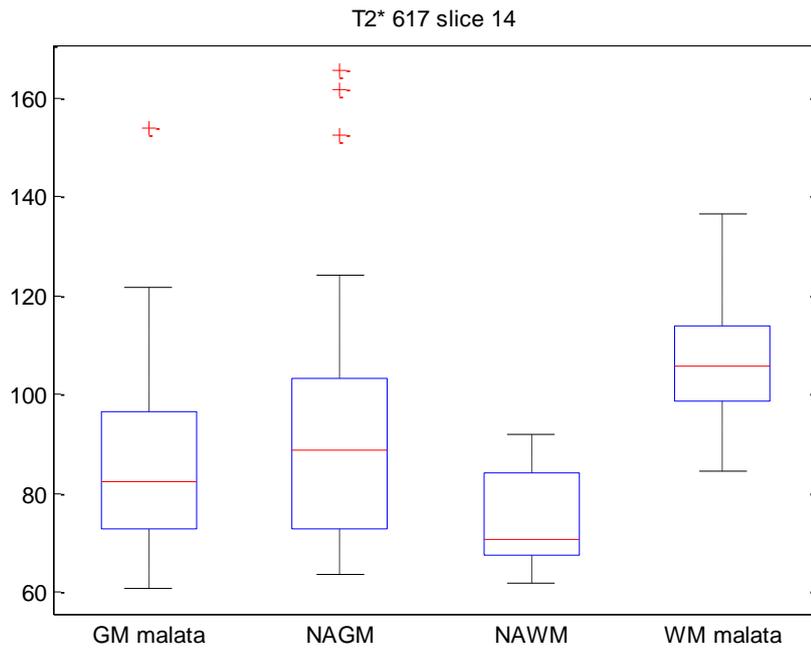
**Figura 27** Medie e standard deviation di  $T_2$  e  $T_2^*$  per le lesioni in GM

Ci si è soffermati sull'andamento di  $T_2^*$  nelle regioni di confronto elencate al paragrafo 3.3.4. Si sono osservati almeno tre andamenti possibili e sono stati riportati nei grafici seguenti. Ogni boxplot rappresenta la distribuzione del parametro all'interno dei voxel di GM malata, NAGM, WM malata e NAWM.

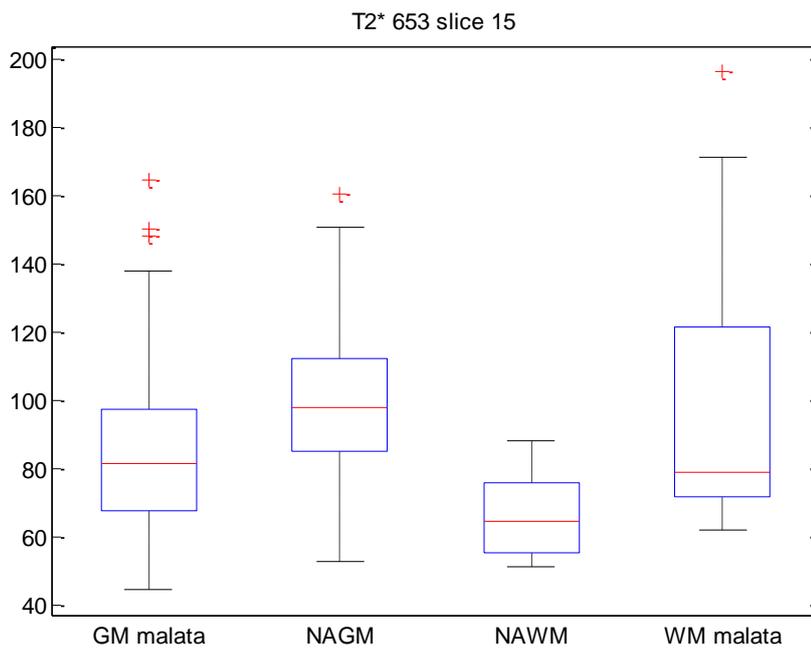


**Figura 28** Boxplot di  $T_2^*$  per il soggetto 30 relativo alla slice 18

## Valutazione di T2 e T2\* sulle lesioni e regioni di confronto



**Figura 29** Boxplot di T<sub>2</sub>\* per il soggetto 617 relativo alla slice 14



**Figura 30** Boxplot di T<sub>2</sub>\* per il soggetto 653 relativo alla slice 15

In termini di mediana la NAGM è maggiore della NAWM in tutti i casi. Se si osserva, invece, il range di valori della NAGM, allora si nota come questo contenga l'intero intervallo della WM e come il minimo della prima regione sia spesso coincidente con quello della seconda.

Per quanto riguarda la GM malata, nel primo caso il range di valori è superiore al box (25°-75° percentile, quindi contiene la maggior parte dei dati) delle aree sane. Nel secondo e nel terzo caso i box delle prime due ROI rappresentate sono paragonabili, nel soggetto 617 la mediana della GM malata è maggiore della NAGM, nel soggetto 653 minore.

L'andamento della WM malata è stato riportato per completezza, ma non è di interesse per questo studio visto che si è scelto di focalizzarsi sulle lesioni in grigia.

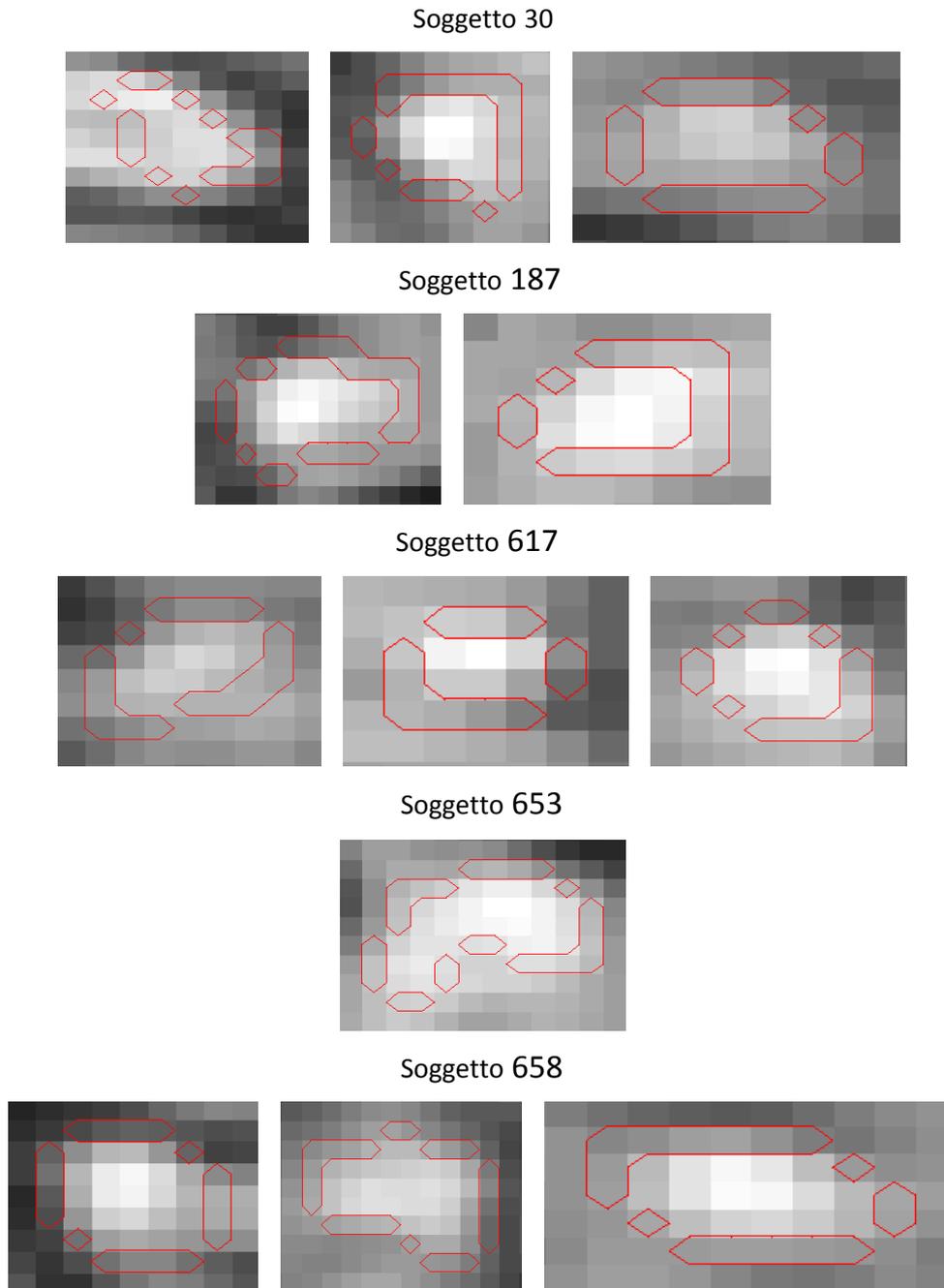
Riassumendo: il comportamento di NAGM e NAWM è simile in tutti e 3 i casi, mentre a variare è l'andamento di  $T_2^*$  nella GM malata, questo aspetto ha portato a pensare ad una diversa natura delle lesioni corticali.

#### **4.4 Valutazione di $T_2$ e $T_2^*$ su interno e bordo delle lesioni**

È stato dimostrato che il 23% delle lesioni corticali mostra un segnale eterogeneo, iperintenso e ipointenso, o più comunemente un alone periferico ipointenso che circonda il centro della lesione iperintensa. L'anello ipointenso è presente principalmente nelle lesioni leuco-corticali ma anche in quelle di tipo 3 e 4. Pitt e colleghi hanno provato uno stretto legame tra l'ipointensità del segnale MRI e la presenza di microglia ricca di ferro all'interno o sul bordo delle lesioni attive e croniche attive <sup>(6)</sup>. Grazie a queste considerazioni si è pensato di studiare l'andamento dei parametri  $T_2$  e  $T_2^*$  non sull'intera lesione, ma separando bordo e interno della placca.

Basandosi sulle immagini DIR20 e sulle maschere di segmentazione delle lesioni, si sono selezionati manualmente i pixel di bordo e quelli interni. In Figura 31 sono riportati per ogni lesione i pixel di bordo visualizzati con un contorno rosso.

## Valutazione di T<sub>2</sub> e T<sub>2</sub>\* su interno e bordo delle lesioni



**Figura 31** Lesioni dei vari soggetti. Con il bordo rosso sono indicati i pixel di bordo della lesione.

Su queste particolari aree si sono stimati i due parametri  $T_2$  e  $T_2^*$ , e anche in questo caso i risultati sono stati riportati in boxplot insieme ai dati relativi alla grigia sana. A causa della varietà di situazioni possibili, l'analisi visiva è piuttosto articolata, per cui si è ricorso ad un test statistico. Si è eseguito un t-Test di Student che permette di testare se due campioni provengono dalla stessa popolazione o da popolazioni diverse. Il test ha permesso di valutare se c'è differenza statistica per  $T_2$  e  $T_2^*$  in tre casi: tra pixel interni e di bordo, tra pixel interni e di grigia sana, tra pixel di bordo e di grigia sana. Nelle

Tabelle 6 e 7 sono riportati per ogni parametro i valori assunti nelle tre regioni e i risultati del test, dove 0 indica che non c'è differenza statistica tra le due famiglie, 1 che c'è differenza.

Si può osservare che in  $T_2$  i rapporti percentuali tra SD e media sono più contenuti rispetto al  $T_2^*$ .

I risultati del T-test sono l'elemento di maggior interesse. Si nota come per  $T_2$  sono facilmente distinguibili quattro classi equiprobabili. Mentre per  $T_2^*$  l'analisi è più complicata, poiché non si può fare una distinzione così netta. C'è una classe più probabile delle altre, la 1 1 1, seguita per numero di occorrenze dalle altre combinazioni possibili.

Le lesioni che appartengono a questa classe mostrano differenza significativa tra bordo e interno della lesione, tra bordo e grigia sana e tra interno e sana. In particolare, come si può osservare in figura, l'interno della lesione assume valori più elevati del bordo e della grigia sana.

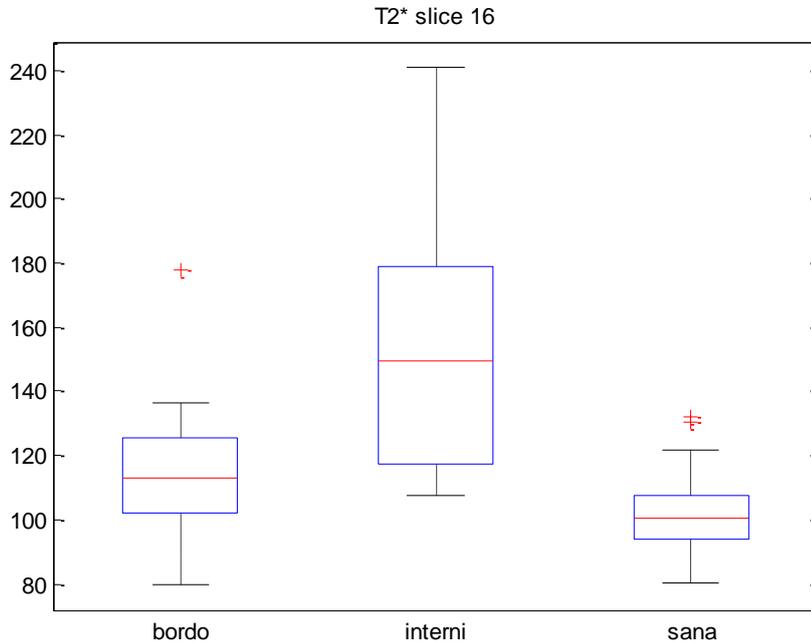
**Tabella 6**  $T_2^*$  su pixel di bordo, interni e di sana

Sogg	Slice	Bordo		Interni		sana		Ttest $T_2^*$		
		Media	Sd/ Media %	Media	Sd/ Media %	Media	Sd/ Media %	B-I	I-S	B-S
30	13	67,4	12	69,7	11	67,5	21	0	0	0
30	18	73,2	12	79,7	8	68,0	15	1	1	1
30	19	84,6	36	73,8	13	65,9	12	0	1	1
187	15	96,5	16	109,5	13	92,4	17	1	1	0
187	20	94,1	8	106,5	10	124,9	35	1	0	1
617	14	82,9	13	84,7	22	93,1	27	0	0	0
617	16	123,2	22	125,1	15	93,0	11	0	1	1
617	17	135,6	28	167,6	23	95,9	22	1	1	1
653	15	86,0	36	86,1	26	96,8	23	0	1	0
658	16	115,2	19	155,2	27	101,4	11	1	1	1
658	18	65,6	14	73,6	8	66,8	21	1	1	0
658	19	74,9	17	92,9	15	85,8	25	1	0	0

Valutazione di T2 e T2\* su interno e bordo delle lesioni

**Tabella 7** T<sub>2</sub> su pixel di bordo, interni e di grigia sana

Sogg	Slice	Bordo		Interni		sana		Ttest T <sub>2</sub>		
		Media	Sd/ Media %	Media	Sd/ Media %	Media	Sd/ Media %	B-I	I-S	B-S
30	13	58,6	8	60,8	6	60,7	7	0	0	0
30	18	59,5	6	61,3	6	65,8	9	0	1	1
30	19	70,9	16	63,5	10	61,1	11	1	0	1
187	15	91,8	12	100,2	10	95,0	12	1	1	0
187	20	100,3	5	118,3	8	102,0	13	1	1	0
617	14	54,4	9	57,0	6	62,9	12	0	1	1
617	16	61,3	7	59,4	7	63,9	10	0	0	0
617	17	68,1	16	67,2	11	63,7	18	0	0	0
653	15	71,6	5	71,7	2	61,7	7	0	1	1
658	16	62,4	10	66,4	7	65,6	8	1	0	1
658	18	62,3	12	66,7	6	61,8	10	1	1	0
658	19	61,6	8	65,7	7	64,6	8	1	0	1



**Figura 32** Boxplot di bordo, sana e grigia sana per il parametro T<sub>2</sub>\* relativo alla slice 16 del soggetto 658

---

## *CAPITOLO 5*

# *DISCUSSIONE E CONCLUSIONI*

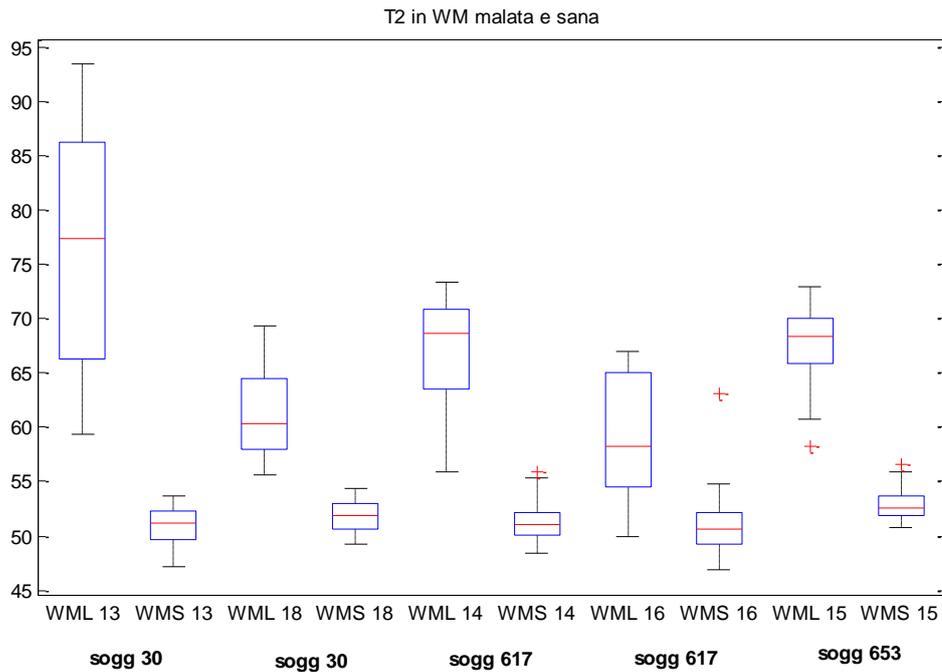
---

### **5.1 $T_2$ o $T_2^*$ ?**

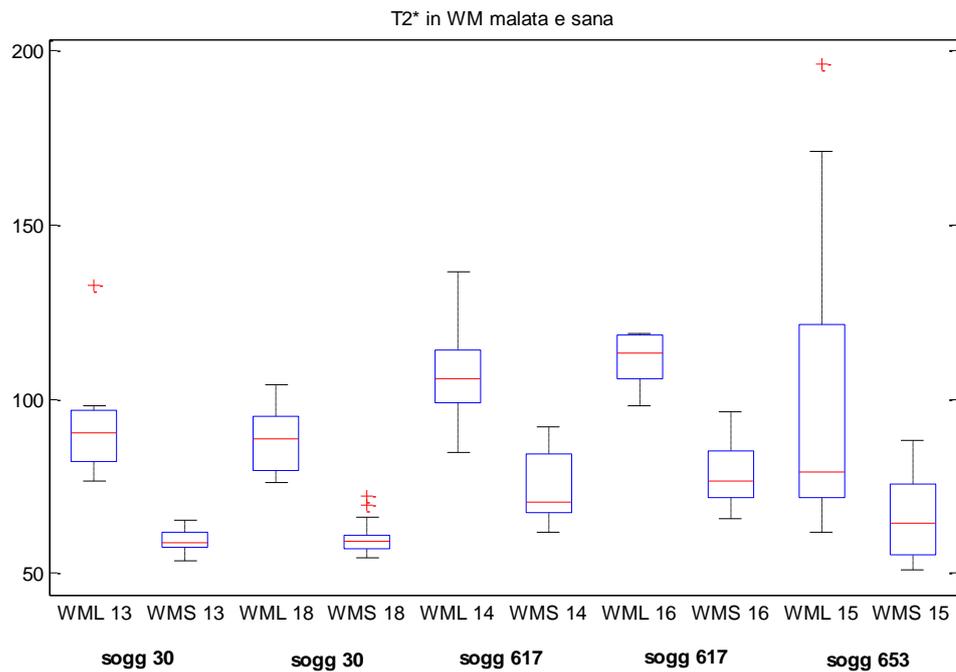
Si è voluta operare una scelta tra i due parametri, sfruttando i risultati ottenuti. Se ci si dovesse basare sulla precisione delle stime si opterebbe certamente per  $T_2$  il quale presenta coefficienti di variazione non solo minori ma anche omogenei su tutto l'encefalo. In realtà l'aspetto che maggiormente interessa è la capacità di discernere, all'interno delle mappe dei due parametri, i tessuti sani da quelli malati.

Per quanto riguarda la materia bianca, le lesioni sono sempre ben distinte dal corrispondente tessuto NA (Normal Appearing) nelle mappe di entrambe le costanti di rilassamento, in particolare assumono valori più elevati rispetto alle regioni sane come si può vedere nella Figura 33 e Figura 34. Il parametro  $T_2^*$ , tuttavia, presenta differenze maggiori tra i due tessuti, che a livello della mappa di  $T_2^*$  si ripercuote nel fatto che le lesioni sono meglio visibili.

## T2 o T2\*?



**Figura 33** Boxplot del parametro  $T_2$  per NAWM (WMS) e lesioni in WM (WML)



**Figura 34** Boxplot del parametro  $T_2^*$  per NAWM (WMS) e lesioni in WM (WML)

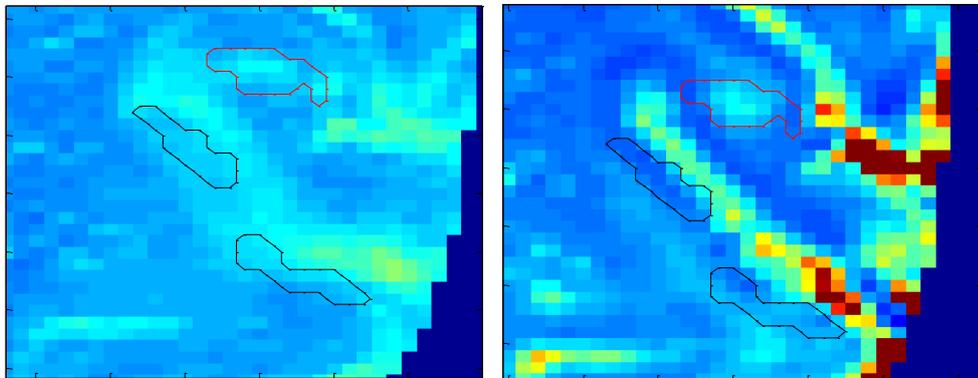
A livello della materia grigia, di maggiore interesse per questo studio, l'analisi è meno semplice. Si sono osservati 2 comportamenti nella distinzione dei tessuti sani e malati:

- la differenza nel valore di  $T_2$  tra lesione e NAWM è paragonabile a quella che si riscontra nei valori di  $T_2^*$ ;
- la differenza tra tessuto malato e sano è più significativa in  $T_2^*$

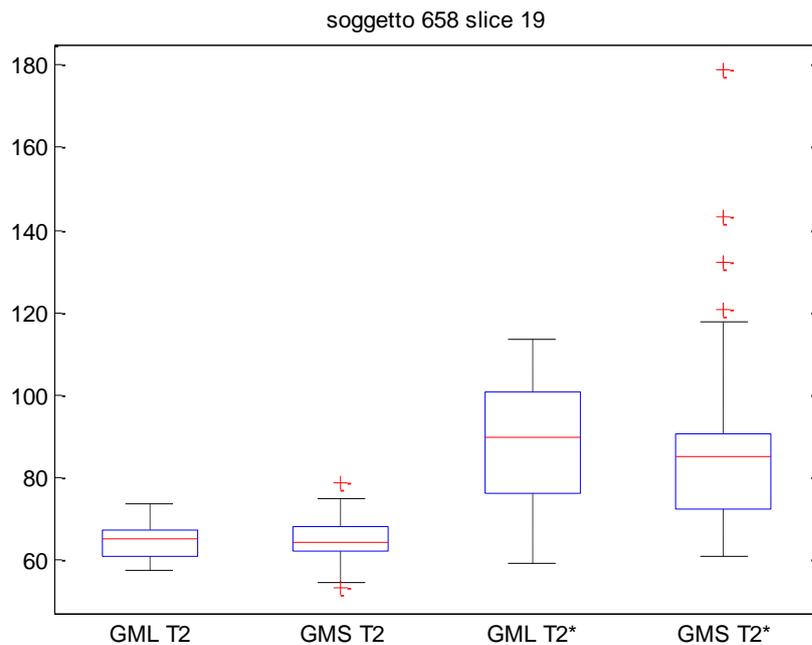
Al primo caso appartiene la slice 19 del soggetto 658, che come si può vedere nella Figura 35 non presenta grandi differenze tra  $T_2$  e  $T_2^*$  nella visualizzazione delle lesioni rispetto alla NAGM.

Al secondo caso appartiene la slice 16 del soggetto 617. Già nella mappa di  $T_2^*$  si può vedere come la lesione (Figura 37) assume valori più elevati della NAGM, mentre in  $T_2$  questa differenza non è così significativa. L'osservazione è confermata dal risultato del boxplot in Figura 38.

Si può concludere che la scelta tra i due parametri ricade su  $T_2^*$ , perché come visto ha prestazioni migliori nel discernere le lesioni dal tessuto sano, soprattutto se si tratta di lesioni corticali.

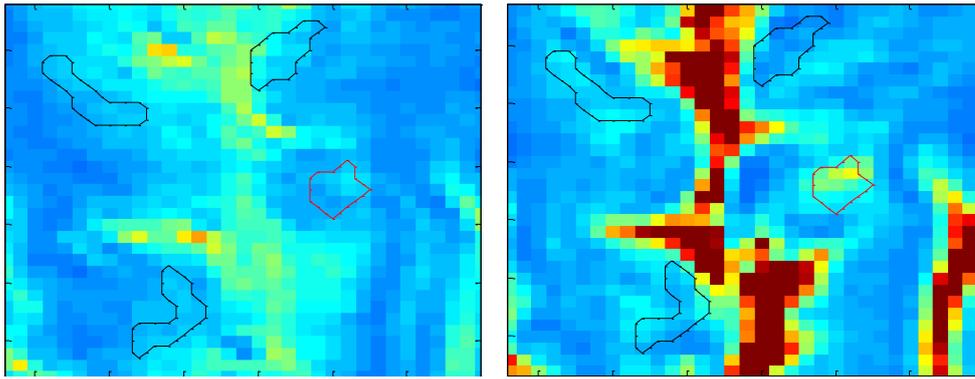


**Figura 35** A sinistra mappa di  $T_2$ , a destra mappa di  $T_2^*$ . In rosso è visualizzata la lesione e in nero il tessuto sano.

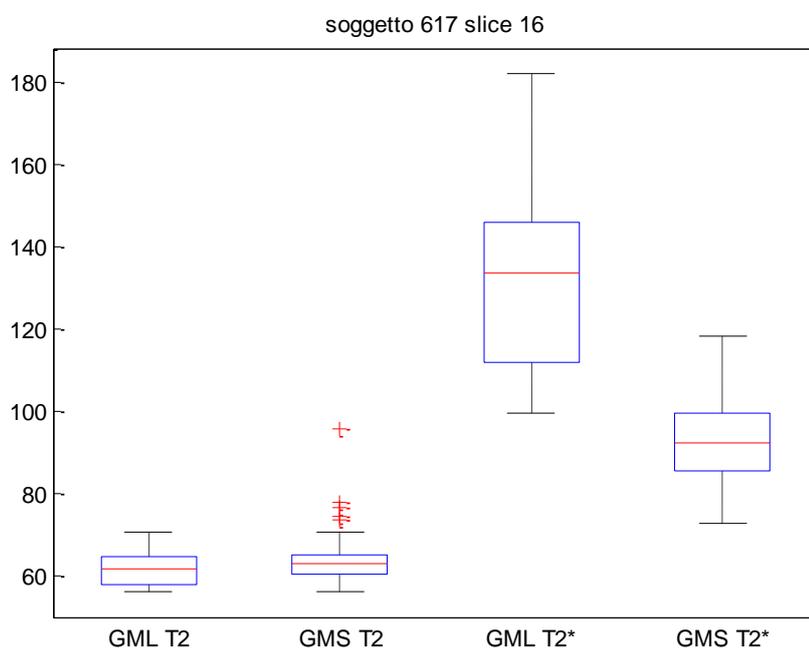


**Figura 36** Boxplot di  $T_2$  e  $T_2^*$  per la NAGM (GMS) e GM malata (GML)

## Trend statistico nelle lesioni corticali



**Figura 37** A sinistra mappa di  $T_2$ , a destra mappa di  $T_2^*$ . In rosso è visualizzata la lesione e in nero il tessuto sano.



**Figura 38** Boxplot di  $T_2$  e  $T_2^*$  per la NAGM (GMS) e GM malata (GML)

## 5.2 Trend statistico nelle lesioni corticali

Lo scopo dell'analisi illustrata nel paragrafo 4.4 era quello di individuare gruppi di lesioni che si comportassero allo stesso modo in termini di  $T_2$  e  $T_2^*$ . In realtà non si è riusciti ad effettuare una classificazione delle lesioni sulla base dei risultati del test di Student. Per  $T_2$  si sono individuati 4 gruppi di lesioni con comportamenti diversi che non sono risultati coincidere con quelli ottenuti per il  $T_2^*$  per il quale la distinzione era ancora più articolata. Il numero di lesioni con cui si è lavorato è risultato troppo ristretto per effettuare un clustering e non ha permesso di individuare un trend statistico.

## 5.3 Conclusioni

La presenza di ferro all'interno del cervello si manifesta come ipointensità nelle immagini  $T_2^*$  e  $T_2$ , quindi in una riduzione di  $T_2$  e  $T_2^*$ .

Come mostrato già da Levine e colleghi nel 1997 alcune lesioni della WM erano caratterizzate dalla presenza di un anello circostante dovuto alla presenza di macrofagi ricchi di ferro. Studi più recenti, come già detto nel paragrafo 4.4, hanno dimostrato la presenza di microglia ricca di ferro sul bordo di lesioni corticali legando quest'aspetto all'ipointensità nelle immagini  $T_2^*$ .

A tal riferimento sono particolarmente interessanti i risultati ottenuti con il test di Student. Infatti c'è un gruppo di lesioni che per  $T_2^*$  presenta differenze significative tra le 3 regioni considerate e, come si può vedere anche nella Figura 32, il bordo assume valori del parametro ridotti rispetto all'interno della placca. Questa diminuzione di  $T_2^*$  si è ipotizzato dovuta alla presenza di ferro lungo il bordo, confermando così i risultati trovati in letteratura.

Riassumendo lo scopo centrale di questo studio è stato quello di quantificare i parametri  $T_2$  e  $T_2^*$  a partire da immagini FFE e TSE. A questo punto si è valutato quale dei due permette di distinguere i tessuti malati da quelli sani che per questo studio è risultato essere  $T_2^*$ , soprattutto per le migliori prestazioni nell'individuazione delle lesioni in GM. Basandosi su altri articoli presenti in letteratura<sup>(6) (17)</sup> si è pensato di separare il bordo della lesione dal suo interno, di valutare i due parametri su queste regioni e di provare a differenziare le diverse lesioni in base ai risultati ottenuti. In realtà questo passaggio non è stato possibile a causa del numero esiguo di dati utili a disposizione. Nonostante ciò, all'interno di un particolare gruppo di lesioni si sono notati valori ridotti di  $T_2^*$  lungo il bordo della placca, condizione ricondotta alla possibile presenza di ferro nella regione.



## ***ELENCO DELLE FIGURE***

<b>Figura 1</b> Moto precessione degli spin intorno a $B_0$ .....	8
<b>Figura 2</b> Magnetizzazione risultante $M$ .....	8
<b>Figura 3</b> Andamento della magnetizzazione longitudinale con costante di tempo $T_1$ .....	9
<b>Figura 4</b> Andamento della magnetizzazione trasversale con costante di tempo $T_2$ .....	10
<b>Figura 5</b> Spin echo, principi. ....	11
<b>Figura 6</b> diagramma temporale di una sequenza spin-echo.....	12
<b>Figura 7</b> immagini Spin-echo .....	13
<b>Figura 8</b> Diagramma temporale di una sequenza turbo spin echo....	14
<b>Figura 9</b> Diagramma temporale di una sequenza gradient echo.....	14
<b>Figura 10</b> Immagine gradient echo $T_2^*$ -pesate a $3T$ .....	15
<b>Figura 11</b> contrasto di due tessuti A e B nell' inversion recovery .....	16
<b>Figura 12</b> diagramma temporale di una sequenza inversion recovery .....	16
<b>Figura 13</b> andamento della magnetizzazione $M_z$ negli intervalli di inversione $TI_1$ e $TI_2$ riferito a CSF (F), WM(W) e GM(G). ....	18
<b>Figura 14</b> Visualizzazione delle lesioni corticlaie con le diverse sequenze.....	19
<b>Figura 15</b> Schema delle operazioni svolte.....	23
<b>Figura 16</b> immagine con sistema di riferimento e nomi delle rotazioni .....	24
<b>Figura 17</b> Risultato della stima della correzione per movimento effettuata con SPM.....	24
<b>Figura 18</b> Confronto tra immagine originale e immagine corretta ...	25
<b>Figura 19</b> Schema delle coregistrazioni.....	26
<b>Figura 20</b> soggetto 659, la lesione visibile nella DIR50 sulla destra non lo è più nella DIR20 sulla sinistra.....	28
<b>Figura 21</b> Lesione in GM (rosso) e regioni di NAGM (verde) nella slice 14 del soggetto 617 .....	31
<b>Figura 22</b> Lesione in WM (rosso) e regioni di NAWM (verde) nella slice 14 del soggetto 617 .....	31
<b>Figura 23</b> Dati e predizione del modello ottenuta da immagini FFE .	32
<b>Figura 24</b> Dati e predizione del modello ottenuta da immagini TSE .	33

## Conclusioni

<b>Figura 25</b> mappa di $T_2^*$ (a sinistra) e mappa di $T_2$ (a destra) per il soggetto 653, slice 15.....	33
<b>Figura 26</b> mappa del CV di $T_2^*$ (a sinistra) e di $T_2$ (a destra) per il soggetto 653, slice 15.....	34
<b>Figura 27</b> Medie e standard deviation di $T_2$ e $T_2^*$ per le lesioni in GM .....	35
<b>Figura 28</b> Boxplot di $T_2^*$ per il soggetto 30 relativo alla slice 18.....	35
<b>Figura 29</b> Boxplot di $T_2^*$ per il soggetto 617 relativo alla slice 14.....	36
<b>Figura 30</b> Boxplot di $T_2^*$ per il soggetto 653 relativo alla slice 15.....	36
<b>Figura 31</b> Lesioni dei vari soggetti. Con il bordo rosso sono indicati i pixel di bordo della lesione. ....	38
<b>Figura 32</b> Boxplot di bordo, sana e grigia sana per il parametro $T_2^*$ relativo alla slice 16 del soggetto 658.....	40
<b>Figura 33</b> Boxplot del parametro $T_2$ per NAWM (WMS) e lesioni in WM (WML).....	42
<b>Figura 34</b> Boxplot del parametro $T_2^*$ per NAWM (WMS) e lesioni in WM (WML).....	42
<b>Figura 35</b> A sinistra mappa di $T_2$ , a destra mappa di $T_2^*$ . In rosso è visualizzata la lesione e in nero il tessuto sano. ....	43
<b>Figura 36</b> Boxplot di $T_2$ e $T_2^*$ per la NAGM (GMS) e GM malata (GML) .....	43
<b>Figura 37</b> A sinistra mappa di $T_2$ , a destra mappa di $T_2^*$ . In rosso è visualizzata la lesione e in nero il tessuto sano. ....	44
<b>Figura 38</b> Boxplot di $T_2$ e $T_2^*$ per la NAGM (GMS) e GM malata (GML) .....	44

---

## ***ELENCO DELLE TABELLE***

---

<b>Tabella 1</b> Classificazione della disabilità neurologica attraverso la scala EDSS .....	2
<b>Tabella 2</b> Dati relativi ai pazienti del data-set.....	21
<b>Tabella 3</b> Parametri delle sequenze utilizzate .....	22
<b>Tabella 4</b> corrispondenze tra le 20 slice della FFE e le 50 della DIR ..	27
<b>Tabella 5</b> Elenco delle slice che presentano lesioni in GM .....	30
<b>Tabella 6</b> T <sub>2</sub> * su pixel di bordo, interni e di grigia sana .....	39
<b>Tabella 7</b> T <sub>2</sub> su pixel di bordo, interni e di grigia sana .....	40



---

## **BIBLIOGRAFIA**

1. *Gray Matter Pathology and Multiple Sclerosis*. **Wegner, Christiane and Stadelmann, Christine**. 2009, Vol. 9, pp. 399-404.
2. *Grey matter pathology in multiple sclerosis*. **Jeroen J G Geurts, Frederik Barkhof**. 2008, *Lancet Neurol*, Vol. 7, pp. 841–851.
3. **H.Ropper, Allan and Brown, Robert H**. *Adams and Victor's Principles of Neurology*. s.l. : McGraw-Hill, 2005.
4. *Subpial Demyelination in the Cerebral Cortex of Multiple Sclerosis Patients*. **BØ, LARS, et al., et al.** 7, july 2003, *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, Vol. 62, p. 723-732.
5. *Cortical Lesions in Multiple Sclerosis: Combined Postmortem MR Imaging and Histopathology*. **Jeroen J. G. Geurts, Lars Bo", Petra J. W. Pouwels, Jonas A. Castelijns, Chris H. Polman, and.** march 2005, *AJNR Am J Neuroradiol*, Vol. 26, pp. 572–577.
6. *Imaging Cortical Lesions in Multiple Sclerosis With Ultra-High-Field Magnetic Resonance Imaging*. **Pitt, David, et al., et al.** 7, 2010, *Archives of Neurology*, Vol. 67, pp. 812-818.
7. *MRI Assessment of Iron Deposition in Multiple Sclerosis*. **Ropele, Stefan, et al., et al.** 2011, *JOURNAL OF MAGNETIC RESONANCE IMAGING*, Vol. 34, pp. 13-21.
8. *Age-related Iron Deposition in the Basal Ganglia: Quantitative Analysis in Healthy Subjects*. **Aquino, Domenico, et al., et al.** 1, 2009, *Radiology*, Vol. 252.
9. *The effect of age on the non-haemin*. **Hallgren B, Sourander P.** 1958, *J Neurochem*, Vol. 3, pp. 41-51.
10. **Westbrook, Caterine and Kaut, Carolyn**. *MRI in Practice*. s.l. : Wiley-Blackwell, 2000. ISBN 0-632-04205-2.
11. *Principles, Techniques, and Application of T2\*-based MR Imaging and Its Special Applications*. **Govind B. Chavhan, Paul S. Babyn, Bejoy Thomas, Manohar M. Shroff, E. Mark Haacke.** 5, 2009, *RadioGraphics*, Vol. 29, pp. 1433-1449.
12. **Chrysikopoulos, Haris S**. *Clinical MR Imaging and Physics*. s.l. : Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009. ISBN 978-3-540-77999-5.

13. *Double Inversion Recovery Brain Imaging at 3T: Diagnostic Value in the Detection of Multiple Sclerosis Lesions.* **Wattjes, M.P., et al., et al.** 2007, American Journal of Neuroradiology, Vol. 28, pp. 54-59.
14. *Measurement of Brain Iron Distribution in.* **Szumowski, Jerzy, et al., et al.** 2010, JOURNAL OF MAGNETIC RESONANCE IMAGING, Vol. 31, pp. 482-489.
15. *Reduced signal intensity on MR images of thalamus and putamen in multiple sclerosis: increased iron content?* **Drayer B, Burger P, Hurwitz B, Dawson D, Cain J.** 1987, AJR Am J Roentgenol, Vol. 149, pp. 357–363.
16. *Automatic segmentation of gray matter multiple sclerosis lesions on FLAIR and DIR images.* **E.Veronese, E.Grisan, M.Calabrese, A.Favaretto, I.Mattisi, F.Rinaldi, P.Gallo and A.Bertoldo.** Montreal, Canada : s.n., 2011. 19th Meeting and Exhibition ISMRM.
17. *In vivo imaging of cortical pathology in multiple sclerosis using ultra-high field MRI.* **Mainero C, Benner T, Radding A, van der Kouwe A, Jensen R, Rosen BR, Kinkel RP.** 2009, Neurology, Vol. 73, pp. 941-948.