

ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
CAMPUS DI CESENA
SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**Calcolo dei parametri perfusionali epatici
mediante TC dinamica secondo un modello
dual-input mono-compartmentale**

Tesi in
BIOIMMAGINI E VISIONE LM

Relatore
Prof. Alessandro Bevilacqua

Presentata da
Margherita Mottola

Correlatore
Ing. Silvia Malavasi

Sessione III
ANNO ACCADEMICO 2015-2016

Indice

Introduzione	1
<u>Capitolo 1</u> – ANALISI PERFUSIONALE: PROBLEMA E APPLICAZIONE	5
1.1 La perfusione in oncologia	5
1.2 Analisi di perfusione	7
1.3 Strumentazioni e tecniche per <i>DCE imaging</i>	10
1.4 Criticità dell'esame TCp	14
<u>Capitolo 2</u> – MODELLI, METODI E TECNICHE NELLA TCp	17
2.1 Anatomo-fisiologia epatica: <i>single</i> e <i>dual-input</i>	19
2.2 Modelli mono-compartmentali e metodi di calcolo	20
2.2.1 Descrizione	20
2.2.2 <i>Indicator Dilution Theory</i> e TVC	22
2.2.3 Perfusione	23
2.2.4 Metodi di calcolo dei parametri	23
2.2.4.1 Maximum slope (MS)	23
2.2.4.2 Deconvoluzione	26
2.3 Modelli bi-compartmentali e metodi di calcolo	30
2.3.1 Descrizione	30
2.3.2 Parametri perfusionali	31
2.3.3 Metodi di calcolo	31
2.4 Estrazione delle TCC e correzione della <i>baseline</i>	32
2.5 Presupposti ed obiettivi della ricerca condotta	36
<u>Capitolo 3</u> – ALGORITMO “SIMULATION-BASED”	39
3.1 Simulazione degli <i>input</i> e definizione di un <i>set</i> di IRF	39
3.2 Modellazione di un simulatore	47

3.3 Valutazioni di perfusione	50
<u>Capitolo 4</u> – IMPLEMENTAZIONE DEL METODO	55
4.1 Calcolo dei parametri di perfusione	56
4.2 Modellazione delle curve vascolari in JSIM	57
4.3 Parametrizzazione della IRF	60
4.3.1 Calcolo automatico del parametro di forma	61
4.3.2 Calcolo automatico del parametro di scala	63
4.4 Calcolo automatico dell'HPI e minimizzazione degli errori	66
4.5 Calcolo e correzione del <i>delay</i>	67
4.6 Ricostruzione del segnale di milza	70
<u>Capitolo 5</u> – RISULTATI	73
5.1 <i>Dataset</i> di esami TCp	73
5.1.1 Progetto PIXEL	74
5.1.2 <i>Pre-processing</i> dei dati	75
5.2 <i>Scatter plot</i> di BF e HPI: correlazione lineare	76
5.3 Implicazioni dell'approccio metodologico sui risultati	82
5.4 Analisi del confronto tra BV	84
5.5 Analisi degli istogrammi d'errore	86
5.6 Valutazioni quantitative dei dati	90
5.7 Individuazione di <i>cluster</i>	98
<u>Capitolo 6</u> – CONCLUSIONE E SVILUPPI FUTURI	103
Riferimenti bibliografici	107
Ringraziamenti	111

Introduzione

Lo studio emodinamico dei tessuti è di particolare interesse in ambito oncologico, poiché spesso alla formazione di lesioni tumorali è associato un processo angiogenico, ovvero di formazione di micro-capillari arteriosi, cui consegue un rimodellamento della rete vascolare, al fine di irrorare adeguatamente il tessuto e garantire proliferazione e metabolismo delle cellule neoplastiche. Dal punto di vista clinico, le variazioni emodinamiche di organi e tessuti sono valutate caratterizzandone la perfusione, ovvero il processo fisiologico per il quale il sangue trasporta, fino ai letti capillari, ossigeno e nutrienti. A tal fine, questa è calcolata principalmente come il quantitativo di sangue che nell'unità di tempo raggiunge l'unità di volume del tessuto d'interesse, anche se vi sono parametri aggiuntivi che consentono di completare adeguatamente la descrizione del processo. L'analisi della perfusione di un organo da un lato può consentire di individuare dei marcatori dell'eventuale attività angiogenica in corso, dall'altro può fornire un *feedback* sugli effetti di alcune terapie alternative, il cui razionale risiede nell'isolamento metabolico del tumore.

L'area tematica entro cui si pone il presente lavoro di Tesi è, pertanto, quella della perfusione tissutale. Questa può essere investigata mediante tecniche di *imaging* funzionale, quali la Tomografia Computerizzata perfusionale (TCp) o la Risonanza Magnetica perfusionale (RMp) eseguite con Mezzo di Contrasto (MdC), analizzando cioè, il percorso del tracciante nella rete vascolare sanguigna, per poter quantificare, di conseguenza, l'irrorazione del tessuto d'interesse. Gli esami perfusionali consentono di ricostruire le *Time Concentration Curve* (TCC), cioè l'andamento temporale del MdC nei vasi e nel tessuto. Dal punto di vista matematico, l'andamento nel tempo del MdC nel tessuto è dato dalla convoluzione della TCC nei vasi sanguigni di ingresso, con la cosiddetta *Impulse Residue Function* (IRF), ovvero la funzione che descrive la quantità di MdC che nel tempo rimane nel tessuto. La perfusione può essere calcolata mediante metodi diretti, quali il Maximum Slope (MS) e indiretti, quali la deconvoluzione, ossia il procedimento che consente di ricavare la IRF, a partire dalla curva di tessuto e delle componenti vascolari.

Nello specifico, il progetto di ricerca della presente Tesi si inserisce in una collaborazione, già avviata, tra il Computer Vision Group, diretto dal Prof.

Alessandro Bevilacqua, del Dipartimento di Informatica – Scienza e Ingegneria (DISI) dell’Università di Bologna ed il Dipartimento di Radiologia e Immagini Mediche, dell’Ospedale Accademico Beaujon (Clichy, Francia – Università Paris VII “D. Diderot”), diretto dalla Prof. Valérie Vilgrain, in particolare con il Laboratorio di *Imaging Biomarkers*, sotto la guida del Prof. Bernard Van Beers. L’ospedale Beaujon è riconosciuto come punto di riferimento per la cura delle malattie epatiche e, per la realizzazione del progetto, ho svolto un periodo di ricerca all’estero di due mesi presso il suddetto Ospedale, inserendomi con l’Università di Bologna, nella collaborazione rivolta allo sviluppo e all’ottimizzazione di algoritmi per lo studio della perfusione del fegato.

Il lavoro di Tesi ha avuto come obiettivo lo studio e lo sviluppo di un metodo di calcolo dei parametri perfusionali epatici, tramite TCp assiale, mediante un modello mono-compartimentale *dual-input*. All’atto pratico, è stata condotta un’indagine preliminare sull’aspetto modellistico di alcune componenti della convoluzione, con lo scopo di sfruttarle successivamente nel metodo deconvoluzionale. Il testo è organizzato in sei capitoli, oltre alla presente introduzione.

Il Capitolo 1 descrive più in dettaglio le motivazioni dell’interesse clinico, principalmente oncologico, verso lo studio della perfusione tessutale, sia per la possibilità di rilevare eventuali *marker* diagnostici predittivi, sia in merito al monitoraggio precoce dell’efficacia delle terapie anti-angiogeniche. Inoltre, viene descritto il significato emodinamico dei parametri di perfusione tipicamente valutati e vengono descritti i principi di funzionamento di base delle tecniche di *imaging* dinamico con MdC, ovvero DCE-TC e DCE-RM. Quindi, motivando l’interesse verso l’indagine TCp, se ne descrivono le criticità in fase di esecuzione dell’esame.

Il successivo Capitolo 2 descrive gli approcci modellistici e metodologici che la letteratura propone come possibili alternative per condurre uno studio di perfusione. Rispetto all’organo di interesse, in questo caso il fegato, può essere adottata una soluzione di rappresentazione mono- e bi-compartimentale, che presuppone ipotesi modellistiche diverse e di conseguenza necessita di metodi e tecniche analitiche altrettanto differenti. L’adozione di un modello mono-compartimentale consente di studiare soltanto la fase di primo passaggio (*first pass*) del MdC nei vasi, escludendo tutti i fenomeni di ricircolo. Parallelamente, nel tessuto, si trascura la descrizione dei processi di diffusione passiva del MdC tra

l'ambiente intra-vascolare e l'interstizio, che avvengono in maniera predominante dopo il *first pass*. Quindi, i metodi maggiormente impiegati in questo tipo di analisi sono il MS e la deconvoluzione.

Nel caso di scelta di un modello bi-compartimentale, invece, si introducono nello studio perfusionale parametri specifici per la caratterizzazione degli scambi trans-membrana e della velocità con cui questi avvengono. Anche di questi ne viene spiegata la modalità di calcolo, secondo il metodo di Patlak.

Indipendentemente dalla tipologia di modello compartimentale usato, la descrizione del fegato presuppone, a monte, la scelta di rappresentare un singolo ingresso vascolare arterioso, oppure la caratterizzazione contemporanea delle due principali vie di afflusso sanguigno al tessuto, cioè l'arteria epatica e la vena porta. Il rationale dello studio condotto, introdotto in questo secondo capitolo, si fonda sull'indagine preliminare del metodo deconvoluzionale. Infatti, seppure dal punto di vista matematico presenti una notevole complessità, sia di calcolo numerico, sia di implementazione e, conseguentemente, per l'interpretazione dei risultati, la deconvoluzione è tra i metodi più utilizzati in quanto, stimando la IRF, consente di calcolare un elevato numero di parametri perfusionali.

Pertanto, nel Capitolo 3, viene condotta una dettagliata trattazione teorica del metodo *simulation-based*, che è stato progettato. Infatti, secondo una prospettiva opposta, la funzione che la deconvoluzione vuole stimare è stata parametrizzata a priori dopo aver individuato un'opportuna famiglia di curve. Parallelamente, sono state scelte delle funzioni matematiche per simulare il comportamento del MdC nei vasi sanguigni di afflusso al fegato e la combinazione di tali elementi ha permesso di realizzare un simulatore che fornisca in *output* la riproduzione delle TCC ricostruite dalle acquisizioni di un esame TCp.

Del simulatore realizzato, sono quindi descritte le successive versioni implementate, *single* e *dual-input*, e del flusso procedurale impostato. Infine, viene motivato il rationale del calcolo dei parametri di perfusione direttamente dalle curve tessutali in *output* dal simulatore, piuttosto che sfruttando la teoria del modello deconvoluzionale. Rispetto al calcolo dei parametri di perfusione, si è pensato di ulteriormente avvalorare la validità teorica del metodo proposto mediante il confronto dei risultati ottenuti con quelli di un metodo alternativo indipendente, ovvero il MS.

Nel Capitolo 4 viene, dunque, analizzata dettagliatamente l'implementazione di tutti gli *step* procedurali: (1) la modalità di calcolo dei parametri perfusionali, (2) la simulazione delle curve vascolari, (3) la parametrizzazione dapprima manuale, poi automatica della IRF, (4) il calcolo dello *shift* temporale tra le TCC reali e le curve calcolate, (5) la ricostruzione del segnale di milza, utile per l'applicazione del MS su un modello epatico *dual-input*.

Nel Capitolo 5, vengono presentati i risultati ottenuti applicando il metodo proposto su dieci pazienti, arruolati per lo studio PIXEL. Il progetto, di cui la Prof. Vilgrain è coordinatrice, è il più grande studio multicentrico europeo di esami di TCp, condotto in quindici Centri francesi, su circa quattrocento pazienti. Dei parametri perfusionali calcolati per i dieci pazienti in questione, ne è riportato il confronto con i dati ottenuti tramite MS, mediante visualizzazione e analisi di *scatter plot*. Sono descritte le implicazioni delle scelte metodologiche sui dati e viene riportata e commentata l'analisi dei residui tra le curve calcolate dal simulatore e le TCC tessutali reali. La valutazione quantitativa dei risultati è condotta anche mediante mappe colorimetriche, al fine di valutare le distribuzioni spaziali dei parametri perfusionali nella sede di interesse. Inoltre, partendo dal fatto che il progetto PIXEL si basa sulla valutazione del valore prognostico dell'indice di perfusione epatica per la predittività, in pazienti con cancro primario al colon-retto, di sviluppo di metastasi epatiche entro i tre anni dall'esame di TC dinamica, si è pensato di verificare, per mezzo di un algoritmo di classificazione non supervisionato, l'eventuale presenza di gruppi significativi di pazienti, sulla base delle loro informazioni perfusionali.

Infine, nel Capitolo 6, si traggono le conclusioni del lavoro svolto e si forniscono spunti per futuri approfondimenti e nuovi sviluppi.

Capitolo 1

ANALISI PERFUSIONALE: PROBLEMA E APPLICAZIONE

Nel presente capitolo si introduce il concetto di perfusione, approfondendone il razionale e le applicazioni in ambito clinico, in particolare oncologico. Quindi, si spiega il significato dei parametri che vengono misurati quando si conduce uno studio perfusionale. Si descrivono, infine, le tecniche strumentali che consentono di valutare la perfusione dei tessuti e, con riferimento alla TC dinamica largamente impiegata, si illustrano le criticità della tecnica.

1.1 La perfusione in oncologia

La perfusione è il processo per il quale il sangue ossigenato è veicolato, mediante le arterie, dalla camera atriale sinistra in fase di sistole, a tutti i tessuti dell'organismo. Nello specifico, ci si riferisce al sangue trasportato a livello capillare, ad un'unità di volume di tessuto, nell'unità di tempo [1]. Gli scambi di

gas, nutrienti e metaboliti tra il sangue ed i tessuti avvengono quasi esclusivamente a livello della micro-circolazione (arteriole, capillari e venule) ed un'adeguata perfusione della micro-rete vascolare è essenziale per conservare l'integrità del tessuto e la funzionalità dell'organo [2].

Lo studio della perfusione condotto su organi *in vivo* restituisce informazioni importanti riguardo lo stato di salute del tessuto d'interesse, dal punto di vista anatomico e funzionale. Il razionale della valutazione dei modi e tempi di irrorazione sanguigna di un organo consiste, dunque, nella comprensione e nella caratterizzazione dei meccanismi emodinamici propri di un tessuto sano, per poterlo così eventualmente discernere da uno patologico.

In particolare, negli ultimi anni, l'interesse clinico rivolto agli studi di perfusione tissutale si è concentrato soprattutto nell'ambito oncologico, perché le variazioni emodinamiche vengono considerate dei marcatori dell'angiogenesi neoplastica. Con ciò si intende il processo per il quale si formano nuovi vasi, in corrispondenza di una sede tumorale, per promuoverne proliferazione e metabolismo cellulare. Tuttavia, nonostante l'angiogenesi sia indispensabile per la crescita del tumore e delle metastasi, non ne è la causa, così come non determina direttamente la eventuale condizione di malignità [3].

L'angiogenesi è un processo complesso risultante dal bilancio di una serie di fattori angiogenici e anti-angiogenici, rispettivamente di crescita e inibitori. Nei tessuti sani, a seguito della neo-formazione vascolare si ripristina un nuovo equilibrio delle componenti; al contrario, nei tessuti tumorali, persiste uno stato di disequilibrio e la rete vascolare diventa sempre più anomala [4]. Morfologicamente, in una sede tumorale si registra un aumento del numero di vasi sanguigni, capillari e *shunt* arteriosi inclusi. Tali nuovi vasi mancano di muscolatura liscia ed innervazioni, pertanto possono essere facilmente compressi, consentendo l'adesione della componente corpuscolata del sangue. Tutto ciò comporta variazioni fisiologiche ed emodinamiche del flusso di sangue, ancor più complesse ed eterogenee se si considerano varie regioni e differenti tipi di tumore.

Inoltre, la vascolarizzazione anomala e disordinata dei tumori contribuisce talvolta a renderli resistenti alle tradizionali terapie antitumorali. Infatti, la chemioterapia richiede un adeguato flusso di sangue e permeabilità capillare, mentre la radioterapia necessita di una massiccia ossigenazione del tessuto [3]; in assenza di tali condizioni, la risposta ai trattamenti è del tutto insoddisfacente. A tal

proposito, da recenti studi si è evinto che le terapie farmacologiche a base di fattori anti-angiogenici (concepiti originariamente come distruttori dei vasi) promuovono effettivamente un processo di normalizzazione dei vasi sanguigni di nuova formazione, consentendo alle terapie tradizionali di riconquistare efficacia; si tratta della possibilità di combattere il tumore su più fronti. Questo avviene perché, in risposta all'azione di un fattore anti-angiogenico, si registrano due effetti. Da un lato si riduce la vascolarizzazione, la densità dei microvasi, la pressione del liquido interstiziale nel tumore, mentre dall'altro, il consumo metabolico complessivo del tumore non si modifica. Ciò indica che i restanti vasi riescono a soddisfare adeguatamente la richiesta “energetica” del tumore, presentano meno anomalie e consentono al contempo al trattamento chemioterapico di raggiungere la sede tumorale con più efficienza, rendendola più vulnerabile [4].

L'angiogenesi, pertanto, è considerata sia un importante fattore prognostico, sia un *target* per le nuove terapie. Fino ad oggi, come *biomarker* per l'angiogenesi si sono utilizzati la conta dei microvasi (*microvessel density*, MVD), la valutazione dei recettori per il fattore di crescita vascolare endoteliale (*vascular endothelial growth factor*, VEGF) o la conta delle cellule endoteliali circolanti (CEC) [5]. Il VEGF promuove la sopravvivenza e la proliferazione delle cellule endoteliali che formano il rivestimento interno dei vasi sanguigni; un processo angiogenico attiva i recettori cellulari per il VEGF, aumentandone la concentrazione e sbilanciandola rispetto a quella dei fattori inibitori [4]. Tutti questi approcci hanno fornito risultati tra loro poco uniformi, a fronte dell'impiego di tecniche invasive, costose e poco diffuse [5].

In quest'ottica, si spiega il grande interesse verso gli studi di perfusione tessutale che, sfruttando tecniche maggiormente fruibili (quali metodi di *imaging* funzionale con mezzo di contrasto), consentano di monitorare l'attività emodinamica tumorale e valutare gli effetti delle terapie, mediante analisi qualitative e misure quantitative adeguate.

1.2 Analisi di perfusione

I parametri maggiormente informativi generalmente impiegati nell'indagine di perfusione di un tessuto vascolarizzato sono il Flusso Sanguigno (*Blood Flow*, BF), il Tempo Medio di Transito (*Mean Transit Time*, MTT) ed il Volume di Sangue

(*Blood Volume*, BV) che raggiunge la sede. Diversi studi hanno evidenziato che i valori di tali parametri presentano alterazioni, rispetto a valori di riferimento, in corrispondenza di processi angiogenici [3].

Per comprendere appieno il significato di questi parametri, e dell'MTT in particolare, è utile considerare un modello esemplificativo della rete vascolare dell'organo di interesse, rappresentabile come un insieme intricato di molti percorsi, con un *input* ed un *output*. Tutte le molecole di sangue necessitano di un tempo finito (*delay*) per attraversare il sistema, prima che dal letto arterioso di arrivo raggiungano la sede venosa di uscita. Vi è quindi una dispersione statistica dei tempi di transito che rende la valutazione dell'MTT utile per la caratterizzazione del sistema [6]. La misura dell'MTT viene espressa in [s] ed alti valori possono spiegare la presenza di regioni intra-tumorali ipo-perfuse, indicanti eventuali aree di possibile necrosi [5].

Il BF, che fornisce un'idea della perfusione in modo più diretto, è definito come il flusso di sangue che nell'unità di tempo attraversa l'unità di volume del tessuto. È quindi misurato in $[ml \cdot (min \cdot 100g)^{-1}]$, in cui i "grammi" si riferiscono al tessuto. Alti valori di questo parametro possono indicare processi angiogenici che riguardano principalmente la neo formazione di *shunt* arteriosi; tale condizione è molto più frequente in un'area tumorale che in una sede di tessuto sano [5].

Il BV misura invece il quantitativo di sangue, anche "stagnante", nel tessuto di interesse. È una misura della frazione di volume di distribuzione rispetto al volume totale dell'organo, espressa in $[ml/100g]$ [4].

In caso di alterazioni del flusso, il corpo attua dei meccanismi di autoregolazione, modificando il BF, il BV o entrambi.

Il Teorema del Volume Centrale (TVC) descrive stocasticamente il percorso di un materiale all'interno di un sistema. L'utilizzo di un approccio stocastico consente di trascurare la struttura interna del sistema e quindi le variazioni di concentrazione tra due punti distanti del letto capillare. Secondo il TVC, il BF è correlato all'MTT e al BV mediante Eq.1:

$$BF = \frac{BV}{MTT} \quad (1)$$

Volendo individuare un *trend* generale, le variazioni attese circa i parametri di perfusione convergono verso valori di BF e BV sensibilmente più alti in un tumore

piuttosto che in un tessuto sano. I processi angiogenici a carattere necrotico spiegano l'aumento di irrorazione sanguigna a livello dei microvasi capillari e parallelamente comportano una riduzione dell'MTT. Studi con maggior grado di dettaglio possono anche evidenziare differenti *range* di variazione dei parametri a seconda dello stadio del tumore [1].

L'analisi della perfusione applicata alla valutazione della risposta alla terapia, costituita da diversi trattamenti antitumorali convenzionali quali chemioterapia, radioterapia, terapia anti-angiogenica, evidenzia risultati affini per molti tipi di tumore. È da considerare, tuttavia, un margine d'errore non trascurabile, soprattutto nei casi in cui il beneficio apportato dal trattamento è lieve, quindi difficile da individuare con certezza. Ciò è dovuto alle numerose problematiche inerenti i protocolli e l'esecuzione degli esami stessi, che aumentano l'incertezza della misura. Inoltre, le indicazioni sulle tempistiche ottimali per la valutazione della perfusione dopo l'inizio di una terapia non sono univoche in letteratura e tale incertezza si trasmette ai risultati.

In accordo con le aspettative, in molti casi l'effetto a medio termine della chemioterapia è quello di ridurre i parametri di perfusione. Allo stesso modo, il danno ai microvasi indotto dalla radioterapia comporta riduzione del BF e del BV a lungo termine. Si nota però, in questo caso, un iniziale aumento dei parametri perfusionali spiegato con la risposta infiammatoria dei tessuti nelle prime fasi del trattamento e la morte delle cellule endoteliali nel tessuto irradiato che causa una riconfigurazione dei collegamenti tra i vasi. Anche le terapie anti-angiogeniche mirano alla riduzione della perfusione, seppure l'effetto indotto di normalizzazione della rete vascolare spieghi l'incremento di BF iniziale. Per quanto attiene le terapie antitumorali non convenzionali, quali l'immunoterapia o le procedure interventistiche a radiofrequenza, gli studi sono ancora preliminari e non vi sono evidenti effetti sulle variazioni dei parametri di BF e/o BV misurati [7].

Le relativamente recenti modalità d'indagine della perfusione di tessuti e organi (diversi dal cervello) in ambito oncologico, che riguardano principalmente le tecniche strumentali di *imaging* con mezzo di contrasto e/o traccianti, consentono una misura quantitativa ad alta risoluzione spaziale dei parametri di perfusione. In linea di principio ciò permette, analizzando la distribuzione dei valori nelle Regioni di Interesse (*Region of Interest*, ROI), di individuare variazioni clinicamente rilevanti.

1.3 Strumentazioni e tecniche per *DCE imaging*

Gli sviluppi tecnologici nel campo delle tecniche di *imaging* hanno permesso di modificare la tipologia d'informazione desumibile da uno degli esami diagnostici più diffusi, la TC, da esclusivamente morfologico/strutturale a funzionale. Ladurner et al. [8] sono stati i primi ad applicare la TC per ricavare informazioni sull'attività fisiologica del cervello, misurando il volume di sangue cerebrale con l'iniezione intravenosa di un MdC radiopaco. La tecnica inizialmente utilizzata prevedeva un'indagine all'equilibrio, effettuata con un'unica scansione quando il MdC iniettato fosse completamente distribuito nell'intero organo. Successivamente, l'acquisizione di una serie di scansioni TC, da parte di Traupe et al [9], ha posto le basi per lo sviluppo della tecnica DCE-TC che studia l'evoluzione temporale della distribuzione del MdC. Il rationale dell'impiego di un MdC risiede nel fatto che la descrizione del passaggio dello stesso nel tessuto d'interesse sia ritenuta rappresentativa, e dunque informativa, dell'irrorazione sanguigna della regione e della permeabilità dei vasi, nei casi in cui si consideri anche il tracciamento del MdC nello spazio interstiziale.

Attualmente, le tecniche di *DCE imaging*, TC e RM, sono le più diffuse per l'acquisizione di informazioni perfusionali [10], rappresentando una modalità d'indagine non invasiva per la valutazione della microcircolazione e della quantità dei microvasi capillari. Da un punto di vista metodologico, l'indagine funzionale con TC o RM si articola in due fasi: (1) la rilevazione della variazione del segnale durante e dopo il passaggio del MdC, con successiva conversione della serie segnale-tempo in una curva concentrazione-tempo, adottando il rispettivo modello biofisico corretto; (2) l'analisi delle TCC per stimare i parametri di perfusione caratterizzanti l'eventuale processo angiogenico di natura tumorale [11].

L'immagine in un esame TC è data dalle differenze tra le attenuazioni dei raggi X in tessuti di differente natura. Nello specifico, la densità di ciascun tessuto, ne definisce la proprietà di attenuazione della radiazione che lo investe. Per ogni *pixel*, l'immagine ricostruita contiene l'informazione della densità TC di tessuto (TC_T), espressa in Hounsfield Unit (HU), secondo Eq.2:

$$TC_T = 1000 \cdot \frac{\mu_T - \mu_{acqua}}{\mu_{acqua} - \mu_{aria}} \quad (2)$$

dove μ_T , μ_{acqua} e μ_{aria} sono rispettivamente i coefficienti di attenuazione lineare del tessuto, dell'acqua e dell'aria (pari a circa -1000HU). Dopo la somministrazione del MdC radiopaco con alto numero molecolare (generalmente mezzo iodato), il coefficiente μ_T varia linearmente rispetto alla concentrazione nel tessuto del MdC iniettato, $C_T(t)$ (Eq.3):

$$\mu_T(t) = \mu_T(0) + \mu_{Mdc}(t) = \mu_T(0) + kC_T(t) \quad (3)$$

Nella relazione, $\mu_T(0)$ rappresenta il coefficiente di attenuazione del tessuto in assenza di MdC e $\mu_{Mdc}(t)$ è l'attenuazione dopo il passaggio del MdC, linearmente dipendente, secondo il parametro k dalla concentrazione locale del MdC [11]. La proporzionalità lineare tra la concentrazione di iodio e l'attenuazione nella TC definisce il primo punto di forza della tecnica di DCE-TC rispetto alla DCE-RM.

Le tipologie di MdC usate nell'esame di DCE-RM coinvolgono principalmente metalli chelati contenenti lantanidi, come il Gadolinio (Gd^{3+}), con elevato momento magnetico. Il centro paramagnetico di tali elementi influenza direttamente due meccanismi dell'esame di RM: (1) la riduzione dei tempi di rilassamento T_1 e T_2 , a livello del tessuto; (2) la formazione di disomogeneità del campo magnetico locale [10], a seconda che il MdC si trovi nello spazio intracellulare o extracellulare, poiché varia, all'interfaccia tra i due ambienti, la suscettibilità magnetica del mezzo biologico. Tale effetto comporta una riduzione del tempo di rilassamento T_2 e conseguentemente una degradazione del segnale.

Nelle soluzioni acquose di ioni paramagnetici, il meccanismo principale per l'assorbimento del MdC è l'interazione dipolo-dipolo a corto raggio tra il momento magnetico degli ioni e quello dei protoni dell'acqua. I tempi di rilassamento T_1 e T_2 , in presenza di MdC, sono correlati ai relativi tempi $T_1(0)$ e $T_2(0)$ in assenza di MdC e alla concentrazione di MdC nel tessuto (C_T) dalle relazioni (Eq.4, 5):

$$\frac{1}{T_1} = \frac{1}{T_1(0)} + \alpha C_T \quad (4)$$

$$\frac{1}{T_2} = \frac{1}{T_2(0)} + \beta C_T \quad (5)$$

dove α e β sono costanti di proporzionalità dipendenti dalla frequenza di Larmor del sistema a RM e dal tipo di MdC. Ne risulta una dipendenza non lineare tra la concentrazione di MdC e l'intensità del segnale che, combinata alla presenza di variazioni sull'intensità del segnale dovute alla velocità del sangue nei grandi vasi, rende la diagnostica con DCE-RM più complessa. Ciò non accade in DCE-TC per il fatto che lo iodio altera direttamente il segnale piuttosto che indurre un meccanismo indiretto che sfrutta fenomeni paramagnetici [4].

L'applicabilità attuale e le prospettive future di impiego del *DCE imaging* in ambito clinico oncologico sono ampie. La caratterizzazione del tessuto con analisi funzionali può essere, infatti, molto esaustiva. Tuttavia, vi sono diversi fattori da tenere in considerazione nella pratica clinica. Innanzitutto, il maggior disagio del paziente legato ad un'aumentata durata dell'esame (soprattutto in RM) dovuta all'acquisizione di una serie di scansioni, e l'aumento di rischio di effetti collaterali dovuti alla somministrazione del MdC, ne limitano un impiego frequente. Inoltre, nello specifico, la DCE-TC espone il paziente ad una dose molto elevata di radiazioni ionizzanti. Ciononostante, l'elevata diffusione degli *scanner* TC e una maggior risoluzione temporale, hanno fatto spesso preferire la DCE-TC. Tuttavia, la ragione di un più vasto uso di questa tecnica non può essere trovata solo in un leggero miglioramento della specificità e sensibilità nella caratterizzazione del tumore, ma deve essere giustificata da un netto beneficio apportato alla diagnosi o al corretto monitoraggio della procedura terapeutica. Al contempo, l'impiego della DCE-RM può sostituire ragionevolmente le comuni tecniche di *imaging* morfologico (ultrasuoni, Doppler) quando casi di anatomie confuse risultano più facilmente caratterizzabili con RM. È vero, altresì, che in casi di tumori solidi rilevati con DCE-RM, piuttosto che una caratterizzazione più specifica con l'*imaging* è necessaria un'indagine biptica.

Volendo effettuare una comparazione tecnica tra DCE-TC e DCE-RM, si individua una maggiore risoluzione spatio-temporale nel caso della TC a favore però di un rapporto segnale rumore (*Signal Noise Ratio*, SNR) maggiore per la RM. A differenza della DCE-RM infatti, nel caso della DCE-TC sono necessarie elevate dosi di MdC per rilevare la variazione del segnale. Ciò induce un elevato rumore fotonico, che inficia ancor più le analisi su tumori ipo-vascularizzati. La disponibilità clinica degli strumenti è sicuramente maggiore per la TC e sono comparabili gli effetti collaterali dei MdC usati nei due casi.

Un esame di TC funzionale può essere facilmente incluso in un comune protocollo d'indagine, accomunando così informazioni strutturali e funzionali. Ciò riduce i costi ed i tempi d'esaminazione per il paziente. Questi, insieme ad altri fattori, hanno negli anni orientato gli studi e le ricerche maggiormente verso la DCE-TC. Oggi, l'attenzione all'esposizione del paziente a radiazioni ionizzanti è un tema molto rilevante. Auspicabilmente, inoltre, l'elevato contrasto del segnale estraibile da DCE-RM dovrebbe agevolare l'estrazione di informazioni di perfusione; pertanto, nonostante la pratica di DCE-TC rimanga al momento la più diffusa, i margini dell'impiego di DCE-RM sono comunque in fase di veloce ampliamento.

Nonostante sia largamente riconosciuta la validità dell'*imaging* DCE, la maggior parte degli studi clinici sono ancor oggi preliminari; diverse ragioni possono esserne la spiegazione. Il monitoraggio di un trattamento terapeutico richiede almeno un esame prima ed uno alla fine del periodo di cura, anche se molti protocolli in oncologia richiedono una serie di *follow-up* durante la terapia. Ciò incide sul numero totale di esami che devono essere distribuiti per un consistente numero di pazienti, con difficoltà non soltanto organizzative, ma anche logistiche, circa tempi e *planning* di esecuzione. Inoltre, la variazione dei protocolli di scansione, le differenze tra i MdC utilizzati ed i modelli farmacocinetici adottati possono rendere più difficile la comparazione dei risultati tra esami eseguiti in centri e da operatori diversi. Infine, non sono ancora impiegate terapie anti-angiogeniche individualizzate, pertanto le tecniche di *imaging* DCE non sono ancora impiegate nella pratica clinica su molti organi, tra cui fegato e polmone, per modificare in base ai risultati, le terapie assegnate [11].

Indipendentemente dal metodo analitico scelto, l'analisi delle TCC in TC può fornire informazioni sia qualitative che quantitative circa l'angiogenesi tumorale. Il tempo di raggiungimento del massimo assorbimento, l'ampiezza di picco del segnale, la pendenza della salita possono essere utili in una prima valutazione qualitativa in ragione del fatto che le regioni tumorali mostrano tipicamente un precoce e rapido assorbimento del MdC. Al contempo, misure quantitative sono estraibili attraverso la caratterizzazione delle TCC tramite opportuni modelli matematici. La quantificazione parametrica perfusionale viene rappresentata in immagini (*mappe*) nelle quali ogni elemento unitario di volume (*voxel*) di tessuto è

rappresentato tramite un *pixel* a cui è associato un proprio dato numerico, relativo al parametro perfusionale oggetto di studio.

1.4 Criticità dell'esame TCp

Sebbene le basi concettuali della TCp siano rimaste negli anni pressoché invariate, gli sviluppi tecnologici ne hanno ampliato l'applicabilità in ambito clinico. I precedenti limiti strutturali di copertura anatomica completa dell'area di interesse sono stati superati dalla disponibilità di apparati dotati di rilevatori TC più ampi, con tempi di scansione inferiori. Una struttura di 15-16 cm in direzione cranio-caudale può essere esaminata con una frequenza di immagini tanto rapida da garantire misure affidabili del BF. La dose somministrata può essere ridotta ottimizzando i parametri di acquisizione e sfruttando algoritmi di ricostruzione delle immagini più innovativi.

L'esecuzione di un esame TCp richiede protocolli applicativi differenti, a seconda dell'oggetto d'indagine. Un distretto che può essere soggetto a formazioni neoplastiche deve essere esaminato con un rilevatore TC *multi-slice* che copra un volume adeguato a mappare l'eterogeneità del processo angiogenico, tipico del tumore. Dal punto di vista pratico, l'esame prevede la selezione di almeno un *input* vascolare e di una regione di tessuto da analizzare, tramite la definizione di altrettante ROI. In pratica, tra la sequenza di volumi acquisiti, il radiologo ne sceglie una particolarmente contrastata, e seleziona almeno una *slice* su cui definire le suddette ROI. Dopodiché, queste ROI vengono sovrapposte e allineate sulle corrispondenti *slice* di tutti gli altri volumi della sequenza, così da ottenere uno *stack* di dati per ogni ROI. Ciascuno *stack* è quindi formato dalla sequenza temporale dei valori di attenuazione di ciascun voxel rappresentante *input* vascolare o tessuto.

In particolare, si individuano due importanti fattori che determinano la qualità di un esame TCp, riferendosi alla distribuzione nella ROI dei valori di BF: (1) la sensibilità del MdC, ovvero l'attenuazione rilevata comparata con la concentrazione di MdC iniettata; (2) il rumore della serie di immagini acquisite, quindi delle TCC. A tal proposito, la misurazione preliminare dei parametri caratteristici della strumentazione per TC utilizzata, mediante fantocci (*phantom*) che simulano l'assorbimento del MdC da parte del corpo umano, può rendersi utile

tanto nella scelta del protocollo d'esame quanto nel miglioramento successivo dei dati in fase di *processing*.

Una delle criticità associate all'esame è la scelta della modalità di somministrazione del MdC. La concentrazione di iodio non dovrebbe essere inferiore ai 300mg/ml; valori troppo elevati, al contempo, incrementano la possibilità di registrare artefatti da *beam hardening*, ovvero disomogeneità apparenti nelle immagini ricostruite, dovute non ad una eterogeneità del tessuto irrorato, quanto al fatto che l'ipotesi di attenuazione del fascio lineare non sia sempre verificata, anche tra zone adiacenti. È noto che le tecniche di TCp siano migliorate da un'iniezione rapida di MdC, pertanto la relativa velocità non dovrebbe essere inferiore ai 4ml/s [12].

Per quanto attiene le caratteristiche tecniche della strumentazione, un tubo a basso voltaggio (80-100kVp) riduce le radiazioni e aumenta l'assorbimento del MdC rispetto agli *scanner* TC convenzionali da 120kVp. Il dosaggio in tensione compreso tra 80-100kVp è associato ad una corrente nel tubo tra 100-250mA, cui corrispondono valori di *exposure*, definita come il prodotto tra periodo di rotazione e corrente, tra 50-120mAs [14]. A tal proposito, quest'ultima è un indicatore della dose di somministrazione delle radiazioni. I sistemi a basso dosaggio possono comportare eccessivo rumore sulle immagini, soprattutto per regioni anatomiche sottili e pazienti con massa consistente. Il voltaggio di funzionamento dovrebbe, in ogni caso, auspicabilmente essere adattato al peso del paziente o all'indice di massa corporea.

Per indagini di TCp in distretti corporei specifici (ad esempio, fegato o polmone), il fattore che probabilmente presenta la massima influenza sulla qualità del dato acquisito è il respiro, quindi il conseguente movimento, del paziente. Le serie di immagini acquisite presentano spesso artefatti da movimento e necessitano, quindi, nella maggior parte dei casi, di processi di "registrazione" (ovvero, di allineamento). Un adeguato *set* di acquisizioni dovrebbe, inoltre, utilizzare un intervallo di campionamento non superiore a 1,5-2s [12].

Un altro fattore che influenza la qualità della scansione è rappresentato dallo spessore della *slice* acquisita: maggiore è lo spessore, minore è il segnale acquisito. Tuttavia, la riduzione eccessiva dello spessore di ciascuna *slice* al di sotto di un certo limite potrebbe comportare una degradazione del segnale in termini di SNR ed un eccessivo dosaggio di radiazioni. Se il compromesso di un'adeguata

risoluzione spaziale nella direzione cranio-caudale poteva essere raggiunto con uno spessore di circa 5 mm [1], con le moderne TC non è raro trovare spessori di 1 mm, o anche meno.

Per tutto quanto detto sopra, si capisce come l'affidabilità e la riproducibilità delle analisi di perfusione con DCE-TC rimangano, ad oggi, problemi aperti. Infatti, i diversi *scanner*, i protocolli di acquisizione, gli artefatti ed i metodi di analisi dei dati e calcolo dei parametri influenzano lo studio perfusionale tanto quanto le peculiarità del paziente, l'operatore e la variabilità dei modelli analitici adottati. In generale, tutti gli studi che indagano la riproducibilità si concentrano sulla comparazione dei risultati finali trascurando, quasi ingiustificatamente, la variabilità e la qualità delle TCC estratte, alla base dell'analisi stessa. In virtù di ciò, da più parti nella comunità scientifica si evince la necessità di uniformare la fase iniziale dei processi analitici, aggiungendo valutazioni il più possibile quantitative sulla qualità dei segnali di DCE-TC in termini di SNR e bontà delle procedure di *fitting*, e standardizzare il più possibile le acquisizioni. Tutto ciò è cruciale nel garantire la corretta interpretazione clinica dei risultati.

La risoluzione delle criticità o la minimizzazione delle fonti d'errore associate all'esecuzione di un esame TCp rappresentano il presupposto necessario per le successive fasi di analisi dei dati, in virtù del fatto che sia la diversità dei metodi e modelli adottati, sia il *processing* dei dati, possono a loro volta essere fonte di variabilità e incertezza dei risultati ottenuti.

Capitolo 2

MODELLI, METODI E TECNICHE NELLA TCp

Un compartimento è una quantità di sostanza che si comporta in maniera caratteristica ed omogenea dal punto di vista della cinetica, intendendo, con quest'ultima, sia fenomeni di trasporto che di trasformazione. Un sistema biologico può essere, dunque, rappresentato da un certo numero di compartimenti che realizzano un modello compartimentale; ad esso sono associate formule matematiche che ne descrivono i flussi ed i bilanci di massa per ciascuno dei compartimenti. Adottando un modello compartimentale di un organo o tessuto, si deve scegliere il numero adeguato di compartimenti, in funzione del grado di dettaglio che si vuole mantenere nella descrizione, ovvero dei processi che si vogliono rappresentare e quelli che, invece, si trascurano.

L'analisi cinetica di un modello può essere condotta sulla base dell'iniezione intravenosa di MdC, valutandone le variazioni di concentrazione nel tempo e dei parametri caratteristici del modello stesso. Si distingue, nello specifico: (1) una cinetica di primo passaggio (*first pass*) ed (2) una di ricircolo o fase interstiziale.

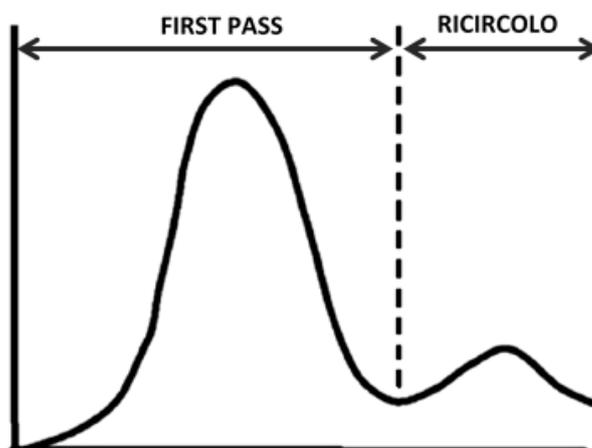


Figura 1 – Andamento caratteristico della concentrazione nel tempo del MdC: si evidenziano la fase di *first pass* e quella di ricircolo[14].

La **Figura 1** [14] distingue le due fasi in un andamento caratteristico della concentrazione di MdC nel tempo. Nella fase (1) si registra un rapido e consistente aumento della concentrazione ed una conseguente diminuzione; nella fase (2), vi è invece un aumento ben più lieve.

Il *first pass*, nello specifico, è descritto dalla successione di tre momenti: (1) *baseline*, prima dell'arrivo del MdC nel tessuto, (2) *enhancement*, ovvero l'arrivo del mezzo con forte crescita della concentrazione fino ad un massimo, (3) *outflow*, fuoriuscita del MdC dal tessuto. Pertanto, tale fase (1) è caratterizzata principalmente da fenomeni di trasporto (i processi diffusivi sono trascurabili, anche in dipendenza del tipo di MdC utilizzato); a differenza di ciò, nella fase di ricircolo, o fase interstiziale, i processi diffusivi che comportano fuoriuscita del MdC dal plasma allo spazio extracellulare, sono maggiormente consistenti.

L'analisi di un esame TCp presuppone in primo luogo la scelta di un modello compartimentale, quindi l'adozione di un modello cinetico, infine la selezione di un metodo di calcolo, che sotto le ipotesi del modello adottato, consenta di ricavare i parametri di perfusione.

Nel corso di questo capitolo si affronta la trattazione dei modelli mono- e bi-compartimentali con le relative ipotesi e formulazioni cinetiche. Per ognuno dei due casi sono quindi dettagliati, nell'ordine, i parametri di perfusione che è possibile estrarre ed i metodi analitici che lo stato dell'arte propone per stimare numericamente la perfusione.

2.1 Anatomofisiologia epatica: *single* e *dual-input*

Il fegato è il più voluminoso tra gli organi viscerali, situato nella parte alta e destra dell'addome, subito sotto il diaframma. È costituito da epatociti ed altri pochi tipi cellulari. È un tessuto molto irrorato; riceve, infatti, anche a riposo almeno 1.5l di sangue al minuto. Svolge principalmente funzioni di: (1) sintesi, (2) accumulo, (3) cataboliche ed (4) escrezione.

A differenza di tutti gli altri organi, una corretta analisi di perfusione che si voglia eseguire sul fegato comporta un livello di complessità maggiore nella selezione del modello tessutale adeguato. Infatti, l'irrorazione epatica è l'unico caso in cui l'*input* vascolare al tessuto è rappresentato da due vasi di grosso calibro: (1) l'arteria epatica e (2) la vena porta. La **Figura 2** fornisce una rappresentazione grafica dell'anatomia del fegato e dei principali vasi di irrorazione; sono dunque, indicate le due vie di *input* descritte. Il flusso venoso raggiunge il tessuto epatico con un certo ritardo, più o meno variabile, rispetto a quello arterioso.

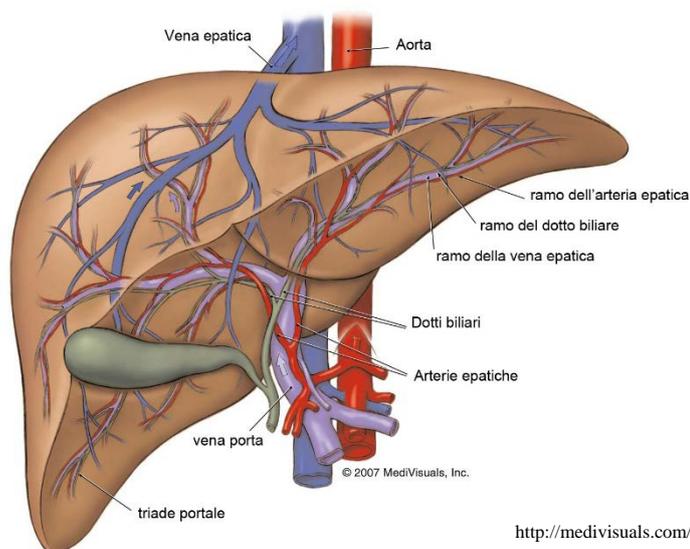


Figura 2 – Illustrazione grafica dell'anatomia del fegato e dei vasi sanguigni che lo irrorano. Sono indicate le due vie di *input*: l'arteria epatica e la vena porta.

Il modello semplificato *single-input* è stato inizialmente proposto e giustificato sotto l'ipotesi che il contributo vascolare delle metastasi epatiche fosse maggiormente a carico dell'arteria. Tuttavia, l'assunzione non è vera per molti tipi,

istologicamente differenti, di metastasi che ricevono, invece, un contributo vascolare in gran parte di duplice provenienza [13].

Ng et al [15] riportano che un modello *dual-input* migliora la riproducibilità delle analisi TC perfusionali; la separazione del contributo arterioso da quello portale è importante tanto nel fegato sano quanto in quello affetto da tumore, sia per una dettagliata caratterizzazione del tessuto che per la valutazione della risposta alle eventuali terapie anti tumorali ai noduli epatici. L'evidenza clinica mostra che quando i noduli displastici mutano in epatocarcinoma si registra una diminuzione intra-nodulare del contributo derivante dalla vena porta ed un aumento di quello arterioso, con la formazione in parallelo di microvasi capillari. In virtù di ciò, la separazione degli *input* vascolari potrebbe potenzialmente aiutare ad una precoce individuazione delle variazioni dei noduli verso una condizione patologica di malignità [13].

La scelta di adottare un modello *dual-input*, totalmente condivisa dalla comunità scientifica, comporta che in fase di analisi delle scansioni TC ripetute, si debba estrarre anche la TCC della vena porta. A carico di questo dato, si potrebbe registrare una componente di rumore maggiore rispetto all'*input* arterioso, perché il vaso può non essere sempre individuabile con chiarezza nelle sequenze di *slice* acquisite. Inoltre, per alcuni metodi analitici, applicati sotto l'ipotesi di un modello *dual-input*, è necessario trarre l'informazione sull'istante di separazione tra il contributo aortico e quello portale, dalla TCC ricostruita apponendo una ROI sulla milza. In molti casi, tuttavia, il tessuto splenico non è visibile nelle immagini e pertanto si adotta una soluzione approssimante.

2.2 Modelli mono-compartmentali e metodi di calcolo

2.2.1 Descrizione

Nell'analisi TCp epatica, a seconda che si voglia descrivere la cinetica esclusivamente del *first pass* si può adottare un modello mono-compartmentale. Questa ipotesi modellistica esclude dunque, dall'analisi, la fase di ricircolo del MdC, considerando il solo *first pass* durante il quale la diffusione è trascurabile.

La **Figura 3** schematizza la struttura di un modello mono-compartmentale nel quale si caratterizza il tessuto senza distinzione tra l'ambiente intra ed-extra cellulare.



Figura 3 – Rappresentazione schematica di un modello mono-compartmentale. Questa assunzione impone che non vengano distinti, nel volume di tessuto perfuso, il compartimento plasmatico da quello interstiziale. $c_i(t)$ e $c_o(t)$ descrivono le concentrazioni nel tempo nella via di *input* e in quella di *output*.

A tale rappresentazione, si applica il principio di Fick che spiega il flusso sanguigno che irrorava un organo, sulla base della quantità di un materiale inerte (quale ad esempio un MdC), contenuto nel sangue, che attraversa il tessuto e non viene metabolizzato da esso. Quindi, l'analisi cinetica di un modello mono-compartmentale si basa sul bilancio di massa riportato nell'Eq.6:

$$\frac{dm_T(t)}{dt} = Fc_i(t) - Fc_o(t) \quad (6)$$

laddove, la variazione di massa all'interno del compartimento, $m_T(t)$, dipende dalla quantità in *input* e da quella in *output*, rispettivamente rappresentate dai prodotti flusso (F) per concentrazione nel tempo, $c_i(t)$ e $c_o(t)$. Dividendo l'Eq.6 per l'unità di volume V_T , la si può riscrivere come nell'Eq.7, esprimendo il rapporto tra il flusso e l'unità di volume tessutale come rapporto tra la concentrazione nel tempo tessutale e la differenza tra la quantità totale di MdC in ingresso e quella in uscita [16].

$$\frac{F}{V_T} = \frac{c_T(t)}{\int_0^t c_i(\tau)d\tau - \int_0^t c_o(\tau)d\tau} \quad (7)$$

Un modello mono-compartmentale per il fegato, può essere adattato sia ad una rappresentazione *single-input* che ad una *dual-input*. Infatti, un caso specifico di modello mono-compartmentale per applicazione epatica è rappresentato dal

modello di Blomley che considera un duplice ingresso, ovvero il flusso proveniente direttamente e in larga parte dall'arteria epatica e quello che invece sopraggiunge dalla vena porta, dopo la circolazione splenica. In particolare, quest'ultima è valutata per separare le due principali fasi di irrorazione: (1) pre-portale e (2) portale.

2.2.2 Indicator Dilution Theory e TVC

L'assunzione alla base della *Indicator Dilution Theory* (IDT) è la seguente: non vengono avanzate ipotesi riguardo la struttura interna del compartimento ed i fenomeni di trasporto. Il sistema biologico è formalmente analizzato come fosse una *black box* [11].

Tale condizione è rappresentabile con il TVC applicato alla TCp da Axel in [18]. Questo definisce il modello più generale, con il minor numero di ipotesi alla base, considerando la rete vascolare regionale come un volume isolato, con *input* arterioso e *output* venoso. L'ipotesi alla base è che la quantità totale di MdC che entra nel sistema in qualsiasi istante, prima o poi ne uscirà. La **Figura 4** [18] fornisce una rappresentazione schematica del modello, in cui $c_{art}(t)$, $c_{ven}(t)$, $c_{voi}(t)$ sono rispettivamente le concentrazioni nel tempo in *input*, *output* e nel volume di distribuzione.

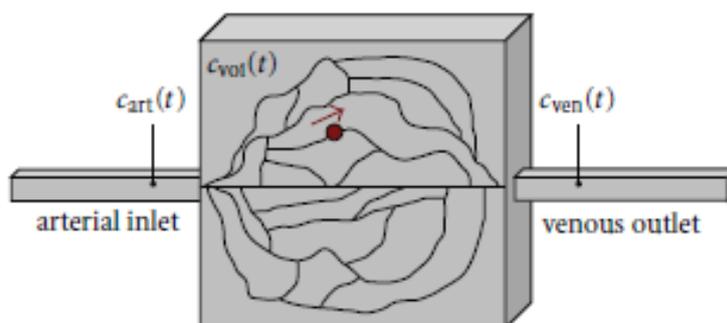


Figura 4 – Modello mono-compartmentale alla base del TVC. La rete vascolare regionale è descritta da un unico volume isolato con ingresso arterioso e *output* venoso [18].

Matematicamente, il TVC si esprime con l'Eq.1 (Sez.1.2), che esplicita il BF come rapporto tra BV ed MTT.

2.2.3 Perfusione

Dal momento che i principali modelli mono-compartmentali, tra cui quelli precedentemente trattati, trascurano nell'analisi delle TCC estratte da TCp, la fase del ricircolo, le uniche valutazioni di perfusività sono condotte sulla fase di *first pass* del MdC. In ragione di ciò, possono essere calcolati esclusivamente i parametri di BF, BV, MTT. Si tengono in conto cioè, per valutare la perfusione del tessuto soltanto i processi di trasporto che avvengono nella rete vascolare che attraversa l'organo di interesse.

Scegliendo prima dell'esame TCp di adottare un modello mono-compartmentale, è dunque possibile ridurre il numero di scansioni TC, evitando di acquisire la fase di ricircolo, che in ogni caso viene trascurata in fase analitica, riducendo così la dose di radiazione per il paziente.

2.2.4 Metodi di calcolo dei parametri

2.2.4.1 Maximum slope (MS)

Il metodo del MS si applica sulla base di una precisa assunzione rispetto al modello mono-compartmentale, per il quale vale il principio e la formulazione (sopra esposta) di Fick (Eq.6,7), ovvero la condizione di *outflow* venoso nullo. Affinché tale metodo possa essere applicato correttamente, debbono valere le seguenti condizioni: (1) flusso sanguigno minimamente perturbato dall'iniezione del MdC, (2) massimo *enhancement* precedente a qualsiasi fuoriuscita del MdC nel compartimento venoso [14].

Per il calcolo dei parametri di perfusione si estrae la TCC aortica, piuttosto che la TCC in arteria epatica, assumendo che siano identiche a meno di un fattore di ritardo.

Pertanto, il metodo del MS stima il parametro BF, dall'Eq.8, ottenuta derivando numeratore e denominatore della (7):

$$BF = \frac{F}{V_T} = \frac{dc_T(t)}{c_i(t)} \quad (8)$$

Dall'Eq.8, considerando che la stima è migliore quando numeratore e denominatore assumono valore massimo, poiché per l'ipotesi di *outflow* venoso nullo, il picco di

assorbimento del MdC si verifica alla massima concentrazione nella via di *input*, si misura (Eq.9):

$$BF = \frac{\left. \frac{dc_T(t)}{dt} \right|_{max}}{c_i(t)|_{max}} \quad (9)$$

Che teoricamente significa (Eq.10):

$$BF = \frac{\text{Massima pendenza di } c_T(t)}{\text{Massima ampiezza di } c_i(t)} \quad (10)$$

Il metodo MS stima, dunque, il parametro BF dal rapporto tra la massima pendenza della TCC tessutale estratta e l'ampiezza del picco della TCC di *input* vascolare. Tuttavia, entrambe le misure, su *input* arterioso o tessuto, possono essere affette da artefatti da volume parziale. L'effetto si verifica quando, all'interno di un *voxel* sono presenti strutture con densità diversa, dalle quali viene estratto un valor medio di attenuazione che di fatto non corrisponde a nessuna di esse. Per quanto riguarda l'input vascolare, si limita il problema scegliendo un vaso di grandi dimensione, tipo l'aorta [3]. Per il tessuto, il rischio si riduce diminuendo lo spessore dei *voxel*, quindi acquisendo *slice* più sottili [17]. Se il metodo MS si applica ad un modello mono-compartmentale in cui viene distinto il *dual-input* (modello di Blomley sopra descritto), è possibile calcolare il BF arterioso (ABF) e portale (PBF). In questo caso serve estrarre la TCC nella milza, il cui picco viene assunto come indice separatore della fase pre-portale da quella portale [13].

I flussi ABF e PBF sono rispettivamente calcolati per mezzo delle seguenti Eq.11, 12, in cui $c_a(t)$ e $c_p(t)$ sono le concentrazioni del MdC rispettivamente in aorta e porta:

$$ABF = \frac{\left. \frac{dc_T(t)}{dt} \right|_{max\ pre-portale}}{c_a(t)|_{max}} \quad (11)$$

$$PBF = \frac{\left. \frac{dc_T(t)}{dt} \right|_{max\ portale}}{c_p(t)|_{max}} \quad (12)$$

laddove, infine, il BF totale è la somma dei due contributi (Eq.13):

$$BF = ABF + PBF \quad (13)$$

Il calcolo dei parametri BV, MTT non derivano direttamente dal metodo MS, ma si possono applicare sotto le stesse ipotesi che valgono per il MS, il metodo dei momenti e il TVC per ricavare rispettivamente BV ed MTT. Dall'Eq.6 e considerando il principio di conservazione della massa si ricava la relazione seguente (Eq.14) [18]:

$$F \int_0^{\infty} c_i(\tau) d\tau = F \int_0^{\infty} c_o(\tau) d\tau \quad (14)$$

Assumendo che la concentrazione media di MdC nel tessuto, $c_{T_m}(t)$, sia legata a quella dello stesso nel compartimento vascolare, $c_{i_m}(t)$, secondo l'Eq.15 (dove ρ indica la densità tessutale) [18]:

$$c_{T_m}(t) = \rho \cdot c_{i_m}(t) \cdot BV \quad (15)$$

Si ricava, assumendo $\rho = 1$, BV come rapporto tra l'integrale della concentrazione di MdC nel tessuto e la stessa nel vaso di *input* o alternativamente (per l'Eq.14) come rapporto tra la concentrazione nel tessuto e quella nella via di *output* (Eq.16):

$$BV = \frac{\int_0^{\infty} c_T(\tau) d\tau}{\int_0^{\infty} c_i(\tau) d\tau} = \frac{\int_0^{\infty} c_T(\tau) d\tau}{\int_0^{\infty} c_o(\tau) d\tau} \quad (16)$$

Considerando quindi l'intervallo di definizione dell'integrale tra 0 e t, ultimo istante di acquisizione del segnale, l'Eq.16 si semplifica nel calcolo di BV come area sotto la TCC (AUC) di tessuto e quella arteriosa (Eq.17) [18]. Invece, dal TVC, descritto nell'Eq.1 (Sez.1.2), noti BF e BV, si ricava l'MTT con la formula inversa (Eq.18).

$$BV = \frac{AUC \text{ tessutale}}{AUC \text{ arteriosa}} \quad (17)$$

$$MTT = \frac{BV}{BF} \quad (18)$$

Alternativamente, avendo a disposizione l'esatta misura del parametro MTT (derivante, ad esempio, dall'applicazione congiunta del MS con altri metodi analitici, quali la deconvoluzione, di seguito descritta), si può ricavare il BV dalla formula inversa dell'Eq.18, comunque sotto l'ipotesi del TVC.

Un grande vantaggio del metodo MS è la semplicità concettuale. Tuttavia, l'assunzione di *output* venoso nullo, quando si ha la massima pendenza della TCC tessutale, non è sempre verificata. Se, ad esempio, si registra un consistente efflusso venoso prima, vi sarà una sottostima del BF vero, a causa della sovrastima del denominatore dell'Eq.9 che trascura la sottrazione di $c_o(t)$. Invece, se il vaso da cui viene estratta la TCC arteriosa ha un lume ridotto, mediando l'informazione di assorbimento del MdC tra i *voxel* della ROI arteriosa, si causa una sottostima dell'ampiezza della relativa TCC, sovrastimando così il BF [10].

Inoltre, il metodo è relativamente sensibile al rumore, sicuramente meno di quanto non lo sia l'approccio con deconvoluzione (trattato nel successivo paragrafo), anche se è necessaria una frequenza di campionamento delle TCC estratte abbastanza alta, al fine di ottenere risultati affidabili. Invece, per il fatto di fare un'analisi al primo passaggio, la durata dell'acquisizione può essere ridotta al minimo, in modo da consentire un'acquisizione in apnea, riducendo così gli artefatti da movimento e rendendo l'ipotesi di *outflow* nullo più verosimile.

2.2.4.2 Deconvoluzione

Per ciascun sistema descritto stocasticamente, esiste una funzione densità di probabilità, $h(t)$, che spiega la distribuzione statistica dei tempi di transito. Se si ipotizza una quantità impulsiva in ingresso al sistema, q_0 , il prodotto $q_0 h(t) dt$ quantifica l'uscita tra il tempo t e $t+dt$; $h(t)$ è quindi detta funzione di risposta all'impulso (*Impulse response Function, IrF*). Pertanto, considerando la funzione nel tempo, $c_i(t)$ che descrive la concentrazione di MdC in ingresso al fegato, se ne

può calcolare l'*outflow* venoso, $c_o(t)$, per mezzo dell'operazione di convoluzione (Eq.19):

$$c_o(t) = c_i(t) \otimes h(t) = \int_0^t c_i(\tau) h(t - \tau) d\tau \quad (19)$$

L'integrale di $h(t)$ (Eq.20)

$$H(t) = \int_0^t h(\tau) d\tau \quad (20)$$

definisce la funzione di frequenza cumulativa che rappresenta la frazione della quantità in *input* che ha lasciato il sistema al tempo t . $H(t)$ è adimensionale e tende all'unità quando tutto il MdC ha raggiunto la via di *output*. (Eq.21)

$$H(t) = \int_0^{\infty} h(\tau) d\tau = 1 \quad (21)$$

Dal significato di $h(t)$, ne consegue che il suo momento di ordine uno definisce l'MTT (Eq.22) dove il denominatore può semplificarsi per l'Eq.21:

$$MTT = \frac{\int_0^{\infty} \tau h(\tau) d\tau}{\int_0^{\infty} h(\tau) d\tau} = \int_0^{\infty} \tau h(\tau) d\tau \quad (22)$$

Parallelamente, la funzione complementare di $H(t)$, ovvero $R(t) = 1 - H(t)$, è la frazione di *input* che rimane nel sistema (*Impulse Residue Function*, IRF).

Tra $h(t)$ e $R(t)$, esiste la relazione espressa nell'Eq.23:

$$h(t) = -\frac{dR(t)}{dt} \quad (23)$$

Dovendo stimare per mezzo della deconvoluzione $R(t)$, e di conseguenza $h(t)$, tutte le incertezze computazionali a carico dell'una si ripercuotono sull'altra. Pertanto, spesso viene approssimato il calcolo dell'MTT con la relazione dell'Eq.24, considerando che la distribuzione del MdC in uscita è assunta uguale alla distribuzione del MdC che rimane nel compartimento.

$$MTT = \int_0^{\infty} R(\tau) d\tau \quad (24)$$

L'estrazione della TCC tessutale restituisce la funzione nel tempo $c_T(t)$, che descrive l'assorbimento del MdC nel tessuto ed è, dunque, legata all'*input* vascolare dall'Eq.25:

$$c_T(t) = c_i(t) \otimes R(t) BF \quad (25)$$

Considerando il bilancio di massa tra il tessuto, $m_T(t)$, l'*input*, $m_i(t)$ e l'*output* venoso, $m_o(t)$, segue l'Eq.26:

$$m_T(t) = m_i(t) - m_o(t) \quad (26)$$

riscrivibile come (Eq.27),

$$m_T(t) = F \int_0^t (c_i(\tau) - c_o(\tau)) d\tau \quad (27)$$

dove F rappresenta il flusso di sangue in [ml/min]. Sotto l'ipotesi di *output* venoso nullo e riportando il bilancio di massa dell'Eq.27 al volume del tessuto, V_T , si ricava il corrispondente espresso per le concentrazioni (Eq.28):

$$\begin{aligned} c_T(t) &= \frac{F}{V_T} \int_0^t (c_i(\tau) - c_o(\tau)) R(t - \tau) d\tau = \frac{F}{V_T} \int_0^t c_i(\tau) R(t - \tau) d\tau = \\ &= \frac{F}{V_T} c_i(t) \otimes R(t) = c_i(t) \otimes R(t) \cdot BF \quad (28) \end{aligned}$$

L'obiettivo dell'operazione di deconvoluzione è la stima, a partire dall'Eq.28, della funzione $BF \cdot R(t)$, il cui valore massimo approssima la perfusione, quindi consente di ricavare il valore di $BF = \frac{F}{V_T}$ [18]. L'applicazione del metodo deconvoluzionale è estendibile al caso di adozione di un modello epatico *dual-input*; in questo caso, la funzione di *input* vascolare $c_i(t)$ è il risultato della somma di due contributi, combinati linearmente (Eq.29):

$$c_i(t) = \alpha c_a(t) + (1 - \alpha)c_p(t) \quad (29)$$

Nella relazione, $c_a(t)$ e $c_p(t)$ rappresentano rispettivamente le funzioni nel tempo dell'*input* aortico e di quello portale. Il coefficiente della combinazione lineare $\alpha = \text{HPI}$, indice di perfusione epatica, rapporta il BF di aorta (ABF) al BF totale, valutato come somma dei singoli apporti, ABF e PBF (Eq.30):

$$\text{HPI} = \frac{\text{ABF}}{\text{ABF} + \text{PBF}} \quad (30)$$

Analogamente, se sono noti BF e HPI, si ricava ciascuno dei due contributi con le seguenti Eqs.31 e 32 [6]:

$$\text{ABF} = \text{HPI} \cdot \text{BF} \quad (31)$$

$$\text{PBF} = (1 - \text{HPI}) \cdot \text{BF} \quad (32)$$

Applicando al modello l'ipotesi del TVC, si può ricavare anche il parametro BV (Eq.33):

$$\text{BV} = \text{BF} \cdot \text{MTT} \quad (33)$$

Dal punto di vista matematico, la deconvoluzione per la stima della IRF è un problema inverso mal posto, che non ha una soluzione unica. Per evitare risultati fisiologicamente non significativi (valori negativi o comportamenti oscillatori di $R(t)$), vengono generalmente applicati metodi di regolarizzazione, e in qualche caso si risolve il problema mediante un passaggio al dominio delle frequenze, con l'analisi di Fourier e l'applicazione di un filtro di Wiener, per il quale comunque devono essere individuate forma e frequenza di taglio adatte.

In ogni caso, nell'operazione, a causa dell'integrazione, variazioni infinitesime in ingresso dovute a disturbi sul segnale, producono variazioni finite sul segnale d'uscita. Di conseguenza, la deconvoluzione tra la TCC arteriosa e quella tessutale può dare origine ad una serie di soluzioni diverse tra loro [14] influenzando notevolmente i parametri di perfusione stimati.

2.3 Modelli bi-compartmentali e metodi di calcolo

2.3.1 Descrizione

Rispetto al caso mono-compartmentale, un modello bi-compartmentale separa il compartimento vascolare (plasma) dall'interstizio e consente l'analisi degli scambi tra di essi. Come descritto sopra, infatti, a seguito del *first pass* del MdC, si registra la fase di ricircolo che prevede un flusso bidirezionale tra il plasma e l'interstizio, che si arresta al raggiungimento dell'equilibrio. I principali processi che relazionano i due compartimenti sono fenomeni di diffusione passiva, che dipendono dalla permeabilità della membrana capillare e dalla superficie endoteliale. La **Figura 5** schematizza la struttura di un modello bi-compartmentale nel quale si separa l'ambiente plasmatico da quello interstiziale.

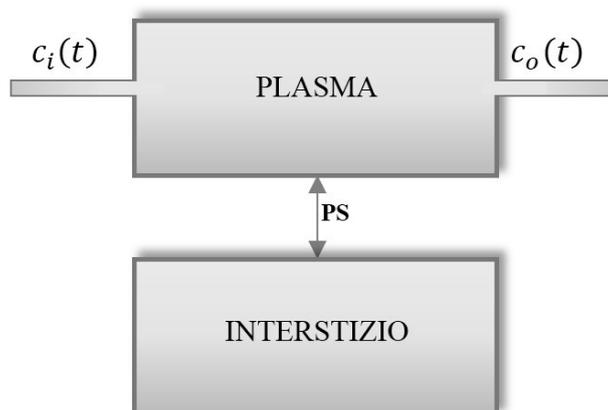


Figura 5 – Rappresentazione schematica di un modello bi-compartmentale: si separa il plasma dall'interstizio, tra i quali si verificano fenomeni di diffusione passiva. La separazione dei due compartimenti consente di valutare il parametro perfusivo PS. Il MdC arriva nel tessuto per mezzo di una via di *input* e fuoriesce per mezzo di quello di *output*. $c_i(t)$ e $c_o(t)$ descrivono le concentrazioni nel tempo nella via di *input* e in quella di *output*.

In **Figura 5**, sono indicate nel compartimento plasmatico la via di *input* e quella di *output*, che consentono l'arrivo del MdC e la relativa fuoriuscita. $c_i(t)$ e $c_o(t)$ descrivono le concentrazioni nel tempo nella via di *input* e in quella di *output*. Studiando un modello compartimentale si possono assumere due diverse condizioni di concentrazione del MdC intra-compartmentale: (1) *well-mixed* e (2) *plug-flow*. Nel primo caso, i compartimenti si assumono ben miscelati, nel secondo caso,

invece, si individua un gradiente di concentrazione all'interno del compartimento tra l'*input* e l'*output*.

Tra i modelli più usati, si distingue il modello di Patlak, le cui ipotesi alla base prevedono: (1) modello bi-compartmentale, (2) compartimenti *well-mixed*, (3) valori di ematocrito uguali tra i grandi vasi ed i capillari.

2.3.2 Parametri perfusionali

La cinetica tra i due compartimenti è descritta dal parametro K^{trans} [$ml \cdot (100ml \cdot min)^{-1}$], rateo cinetico di fuoriuscita del MdC dai vasi all'interstizio. Tipicamente, sotto l'ipotesi che entro i primi due minuti non vi sia ritorno del MdC dall'interstizio all'ambiente intra-cellulare, si trascura il rateo di ritorno.

In generale, lo studio di perfusione sulla base di un modello bi-compartmentale consente di valutare un ulteriore parametro di perfusione (oltre BF, BV, MTT), ovvero il prodotto tra la permeabilità e la superficie totale (PS) dell'endotelio capillare nell'unità di massa [$ml \cdot (100g \cdot min)^{-1}$]. Generalmente, alti valori di PS sono associati alla permeabilità accentuata di neo formazioni capillari patologiche.

L'utilizzo di un modello bi-compartmentale si traduce in un'analisi più dettagliata della fase di ricircolo delle TCC estratte, che diventa di particolare interesse. Pertanto, l'esecuzione di un esame di TCp sul quale si preveda di utilizzare un modello analitico bi-compartmentale, richiede tempi prolungati, anche per l'acquisizione di un maggior numero di scansioni e, di conseguenza, un'esposizione protratta del paziente a radiazioni ionizzanti.

2.3.3 Metodi di calcolo

Considerando le ipotesi del modello di Patlak (sopra descritto) ne segue un metodo di analisi computazionale della perfusione dei due compartimenti. Dalla precedente assunzione modellistica, secondo cui nei primi due minuti non vi siano trasporti trans-membrana di ritorno al plasma, per ogni istante di tempo la quantità di MdC in un elemento di volume del tessuto è definita dall'Eq.34:

$$c_T(t) = BVc_i(t) + K^{trans} \int_0^t c_i(u) du \quad (34)$$

dove $c(t)$ è la concentrazione totale di MdC al tempo t , $c_i(t)$ è quella nella via di *input*. Pertanto, nell'Eq.34, il primo termine descrive la componente intra-vascolare, il secondo quella extra- [3]. Il metodo di Patlak prevede una possibilità di risoluzione grafica. Dividendo i termini dell'Eq.34 per $c_i(t)$, si ottiene l'Eq.35:

$$\frac{c_T(t)}{c_i(t)} = BV + K^{trans} \frac{\int_0^t c_i(u) du}{c_i(t)} \quad (35)$$

Graficando sull'asse y il termine $\frac{c_T(t)}{c_i(t)}$ e sull'asse x $\frac{\int_0^t c_i(u) du}{c_i(t)}$, si ottiene una linea retta con pendenza K^{trans} e intercetta BV .

2.4 Estrazione delle TCC e correzione della *baseline*

Per poter estrarre da un esame di TCp le curve TCC è necessaria, in primo luogo, l'individuazione e la scelta di un vaso di grosso calibro, generalmente un'arteria, che rappresenti la maggiore via di irrorazione dell'organo. Ciò si traduce, dunque, nella selezione di una ROI, solitamente nel lume del vaso [13]. Dalla ROI vascolare scelta si estrae un unico segnale che quantifica l'assorbimento del MdC nel vaso, mediando l'informazione tra tutti i *voxel*. Per l'input arterioso si ottiene dunque una sola TCC, rappresentante la media del contributo fornito al tessuto.

In **Figura 6** si riporta la selezione di una ROI in aorta in tre istanti diversi, rappresentativi di momenti distinti dell'esame perfusionale: da sinistra *baseline*, *enhancement* e ricircolo riferiti allo stato dell'aorta. In **Figura 7** parallelamente, si visualizzano le stesse fasi, riferite al tessuto.



Figura 6 – Selezione della ROI aortica in tre diverse fasi delle sequenze acquisite: da sinistra verso destra, rispettivamente la fase di *baseline*, di *enhancement* e di ricircolo.

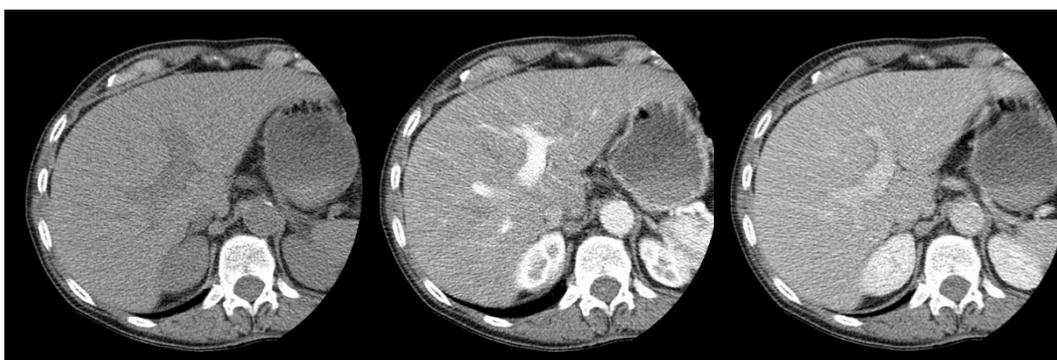


Figura 7 – Perfusione tissutale in tre diverse fasi delle sequenze acquisite: da sinistra verso destra, rispettivamente la fase di *baseline*, di *enhancement* e di ricircolo.

In **Figura 8** si visualizza la TCC di input arterioso estratta [14]. In ordinata, si riportano i valori di concentrazione in [HU], in ascissa l'andamento temporale in [s]. A tal proposito, il passo di campionamento dell'acquisizione di una sequenza TC deve essere al massimo pari a 2s fino alla fase del *first pass*, dopodiché eventualmente l'intervallo può essere più ampio.

Viene indicata, inoltre, con una linea verticale azzurra, il termine della fase di *first pass*, quindi l'inizio del ricircolo. La rete vascolare drena il MdC in più cicli cardiaci successivi, quindi la fase di ricircolo aortico consiste nel ritorno al cuore del MdC, dalla circolazione periferica, così come quella del tessuto consiste nel ritorno del MdC al tessuto.

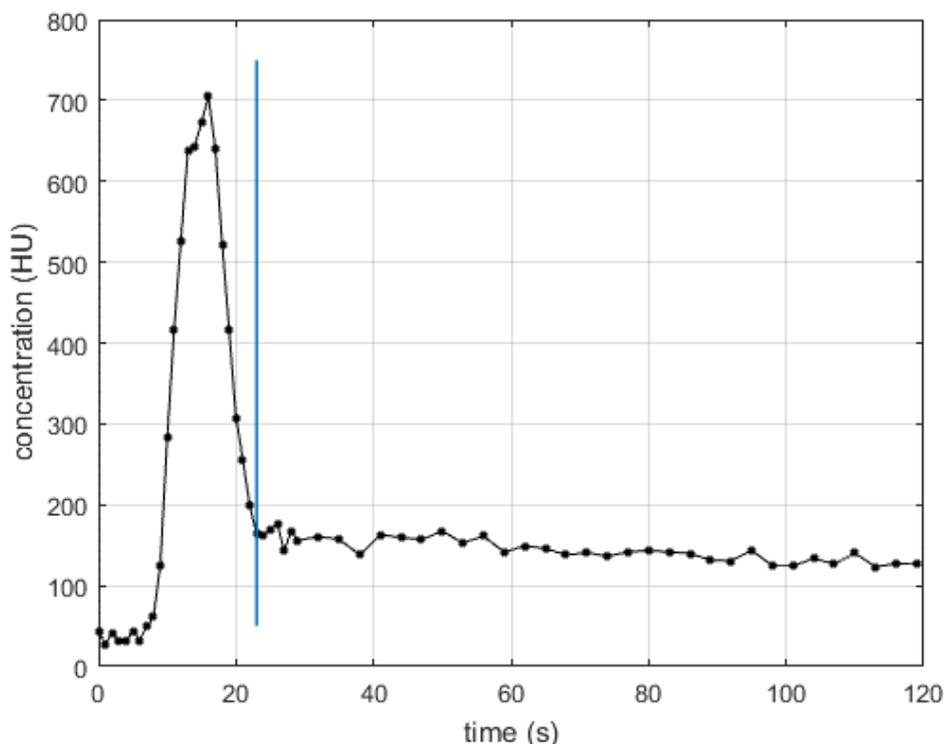


Figura 8 – TCC estratta da una ROI in aorta. In ascissa sono riportati i valori temporali [s], in ordinata la concentrazione del MdC [HU]. La linea azzurra indica la fine del *first pass* e l'inizio del ricircolo.

Anche per l'estrazione delle TCC tessutali è necessaria la definizione di una ROI sull'organo, con la prerogativa di escludere i vasi. A differenza dell'*input* arterioso, dal tessuto si estrae un'informazione *voxel-based*, ovvero si ricostruisce la TCC del MdC per ogni *voxel* della ROI, con il fine di valutare le variazioni nella distribuzione spaziale locale dei parametri di perfusione calcolati. La **Figura 9** mostra una serie di TCC *voxel-based* estratte da una piccola ROI di tessuto epatico. Si può notare che nel tessuto, dopo il picco, si mantiene comunque un'alta concentrazione del MdC. Si registra, così, una perfusione sostenuta, a causa sia dei meccanismi di diffusione tra i vasi e l'interstizio, sia dei ritardi tra il trasporto del MdC nella rete vascolare e l'arrivo nel tessuto. Si nota, inoltre, che nella fase precedente all'arrivo del MdC, vi è un valore non nullo di concentrazione (i segnali non partono da 0HU). Per valutare l'effettiva concentrazione del MdC, si sottrae a ciascun segnale il proprio valore di densità basale, ottenendo così delle curve di attenuazione (*Time Attenuation Curve*, TAC). La **Figura 10** mostra dunque, le TAC ottenute dalle TCC riportate in **Figura 9**.

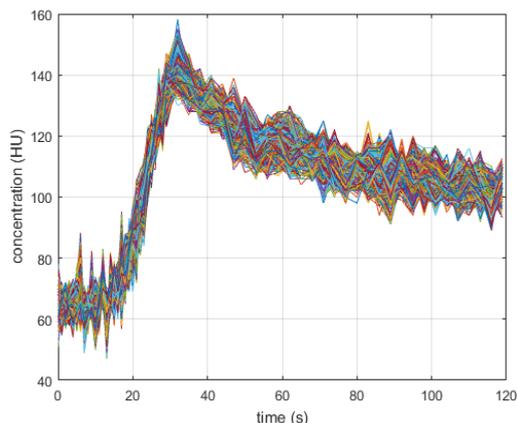


Figura 9 – Esempio di TCC *voxel-based* estratte da una piccola ROI selezionata sul tessuto epatico. In ascissa è riportato l'asse temporale [s], in ordinata i valori di concentrazione del MdC [HU].

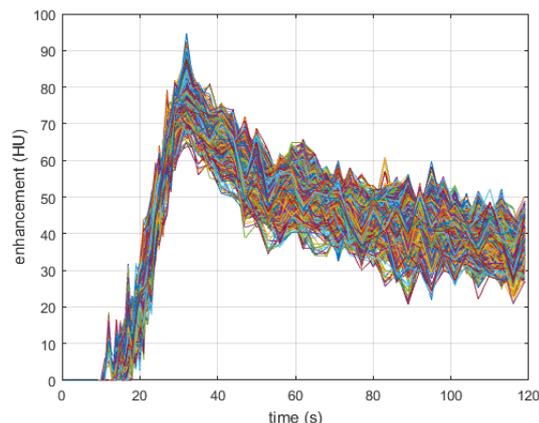


Figura 10 – Esempio di TAC *voxel-based*, ottenute dopo aver sottratto il valore basale alle TCC estratte (Fig.11). In ascissa è riportato l'asse temporale [s], in ordinata i valori di concentrazione del MdC [HU].

Per quanto detto, ad ogni TCC deve essere sottratto il valore di *baseline*. A tal proposito, pur essendo generalmente applicati algoritmi di *denoising*, i segnali conservano una componente di rumore che inficia la valutazione del corretto valore basale. L'estrazione della *baseline* è una fase di *pre-processing* fondamentale per il successivo processo analitico: scegliere il valor medio del segnale prima dell'arrivo del MdC in modo approssimativo, in molti casi rischia di introdurre una notevole componente d'errore. Avere a disposizione un valore di *baseline* calcolato per mezzo di algoritmi specifici, che vantano precisione ed accuratezza maggiori, consente non soltanto di ridurre ulteriormente gli artefatti dovuti al rumore nella prima porzione del segnale, ma anche di migliorare la qualità dell'informazione circa il valore di picco raggiunto in seguito.

È da notare, facendo riferimento ai diversi momenti di *baseline*, *enhancement* e ricircolo, che vi sono alcuni istanti di tempo, in corrispondenza delle transizioni tra le fasi, che non sono univocamente associabili ad una piuttosto che alla successiva. L'informazione che consente di eseguire una correzione della *baseline* ancora più adeguata è, pertanto, associata alla corretta identificazione dell'ultimo istante temporale in cui si possa affermare che il MdC non abbia ancora raggiunto il tessuto. L'importanza del dato è elevata poiché l'effetto indotto sulla curva, a seguito della correzione, è una variazione della pendenza della salita nei primi istanti dell'assorbimento. Tuttavia, a carico di questa conoscenza vi è un maggior grado di incertezza. Vi sono, ad esempio, tra la fine della *baseline* e l'inizio certo

dell'*enhancement* in aorta, istanti in cui non vi è un criterio tanto selettivo che permetta di considerarli appartenenti alla prima piuttosto che alla seconda fase del segnale.

Riassumendo, la descrizione più generale della quantificazione del BF e del BV tessutale può essere spiegata, sostanzialmente, con una comparazione della concentrazione locale del MdC con l'*input* vascolare ricevuto, secondo i metodi adatti al modello analitico scelto.

2.5 Presupposti ed obiettivi della ricerca condotta

Il confronto tra i metodi presentati, MS e deconvoluzione, evidenzia una marcata semplicità concettuale e computazionale a favore del primo, comportando tuttavia, una scarsa accuratezza nei risultati, a causa anche dell'instabilità rispetto a diverse condizioni dipendenti, ad esempio, dal rumore nelle acquisizioni e di conseguenza nei segnali o dalle assunzioni modellistiche. Parallelamente, il secondo, a fronte di un principio teorico più complesso, che si traduce anche in un problema matematico di non semplice risoluzione, dovrebbe fornire stime di misura più accurate, consentendo, tra l'altro, di alleggerire alcuni vincoli, anche in fase di acquisizione delle scansioni TC.

Sulla base delle problematiche ancora aperte che entrambi i metodi presentano, si è scelto di condurre un'indagine preliminare, rispetto al metodo deconvoluzionale, che consentisse di raggiungere un maggiore controllo delle variabili coinvolte.

I presupposti della ricerca sono, dunque, rappresentati dalle evidenze sui dati e da caratteristiche metodologiche, da cui dipendono le incertezze a carico dei risultati. In questo senso, la prima questione riportata è la presenza, nelle TCC estratte, di una fase di ricircolo che, utilizzando un modello mono-compartimentale, come spiegato in precedenza, non è considerata ai fini del calcolo dei parametri d'interesse: BF, BV, MTT. Oltre la fase di *first pass*, infatti, pur essendovi un decadimento consistente del valore massimo di concentrazione vascolare (in HU), permane un contributo non nullo che comporta un contrasto prolungato nell'organo perfuso. Questo influenza negativamente la determinazione delle condizioni iniziali più opportune per la risoluzione del problema di deconvoluzione.

A tal proposito, la stima della IRF è un problema matematicamente complesso e mal posto. Dalla risoluzione del processo inverso, a partire dalle TCC vascolari (secondo l'ipotesi *single e/o dual-input*) e tessutali estratte, si ottiene spesso un andamento differente rispetto a quanto atteso secondo la teoria di base, che rende molto complessa la fase ultima di quantificazione dei parametri perfusivi. In ciò risiede, infatti, un'altra evidenza riscontrata; il metodo deconvoluzionale presuppone la stima del BF come massimo della IRF calcolata. Questa approssimazione, già forte se si considera un modello epatico *single-input*, diventa ancora più ardua aggiungendo il contributo di *input* portale, conseguentemente al fatto che l'ipotesi di *outflow* compartimentale nullo sia quasi mai verificata. Teoricamente, inoltre, dovrebbe essere possibile calcolare la perfusione dalla TCC tessutale, per averne una misura diretta, piuttosto che una indiretta che rischia di propagare sul BF errori numerici del processo matematico implementato o dell'algoritmo di regolarizzazione adottato. Ed a tal proposito, e rispetto a quanto evidenziato inizialmente, il fatto che le TCC tessutali estratte presentino contrasto alto anche nella fase di ricircolo limita la possibilità di stimare il valore di BF direttamente dal tessuto (piuttosto che indirettamente dalla IRF).

Il processo analitico che è stato pensato, si è posto come obiettivo l'approcciare il problema della deconvoluzione da un'altra prospettiva, di modo tale da ricavare informazioni utili da sfruttare in una successiva fase di ottimizzazione del metodo. Avere una maggiore consapevolezza delle variabili e dei metodi diretti e inversi inclusi, consente, in una logica retroattiva, di migliorarne le prestazioni, di ridurre gli errori, di saper discernere i risultati matematicamente significativi e verosimili da quelli che invece sono frutto di artefatti o sono scarsamente accurati.

Quindi, l'idea di progetto perseguita è la diretta conseguenza delle problematiche riscontrate e delle condizioni auspiccate. Ci si è posti quindi quattro obiettivi: (1) individuare a priori una famiglia di funzioni matematiche che potessero stimare l'andamento di una IRF, (2) individuare delle funzioni che, analogamente, potessero riprodurre il comportamento delle TCC vascolari (nel caso *single e dual-input*) al più fino alla fine del *first pass*, (3) relazionare le curve trovate nei casi (1) e (2) con l'operazione di convoluzione (modello cinetico deconvoluzionale) per trovare delle riproduzioni delle TCC tessutali, (4) parametrizzare ed applicare le conoscenze acquisite a casi reali, per un'indagine paziente specifica, *voxel-based*.

Secondo questa linea di azione, ci si è resi conto che il processo analitico che si stava instaurando non sarebbe stato soltanto di supporto al metodo deconvoluzionale, ma avrebbe potuto trovare un senso anche parallelamente ad esso, risultandone dunque una possibile alternativa. In virtù di ciò, si è scelto di non approfondire il metodo deconvoluzionale ulteriormente, ma di soffermarsi sulle possibilità presentate dal progetto in corso, con l'idea di poter spendere il metodo in fase di sviluppo in un processo futuro di ottimizzazione della deconvoluzione.

La conferma al fatto che il metodo sviluppato potesse in maniera indipendente quantificare la perfusione è stata ricercata utilizzando un altro metodo (diverso dalla deconvoluzione), per confrontare i risultati attesi, in termini di parametri calcolati. Pertanto, ai quattro obiettivi sopra descritti sono stati aggiunti due passaggi procedurali: (1) lo studio di perfusione sulla base del metodo sviluppato, (2) la comparazione dei risultati con un altro metodo, preso come riferimento.

Il confronto ha, inoltre, consentito di evidenziare i punti di forza del nuovo processo analitico e di interrogarsi su eventuali criticità nascoste o questioni da approfondire, sulla base sia di quanto atteso dalla dettagliata analisi teorica effettuata, sia dai risultati emersi.

Capitolo 3

ALGORITMO “SIMULATION-BASED”

Nel capitolo che segue si spiegano il razionale alla base del metodo *simulation-based* ed il *workflow* definito in fase di progettazione: simulazione degli *input* vascolari e analisi della funzione scelta, definizione di un *set* di IRF e relativo modello matematico, combinazione degli elementi nella realizzazione di un simulatore. Inoltre, si chiariscono le ipotesi alla base del modello e le differenze rispetto a quello deconvoluzionale, che hanno consentito di condurre, altresì, uno studio di perfusione indipendente.

3.1 Simulazione degli *input* e definizione di un *set* di IRF

Come base teorica si è scelto un modello epatico mono-compartimentale, inizialmente *single-input*, poi esteso in un *dual-input*. Dovendo condurre un'indagine preliminare del metodo di deconvoluzione, si è scelto inizialmente di

avvicinarsi al problema semplificato, per incrementarne progressivamente la complessità, coinvolgendo gradualmente un maggior numero di variabili.

Perseguendo la teoria che nelle TCC vascolari, sotto l'ipotesi di un modello mono-compartimentale, le caratteristiche informative per la determinazione della perfusione epatica siano individuabili fino al termine della fase di *first pass*, si è innanzitutto pensato ad una modalità di esecuzione di un *fitting* delle curve, in modo da ottenere un segnale in cui fase di *baseline* e salita fossero più chiare, grazie al "filtraggio" del rumore presente nei dati. L'idea si è, dunque, concretizzata nell'individuazione di una funzione matematica che potesse simulare il comportamento della curva in questi tratti. In prima analisi, ci si è concentrati sulla TCC arteriosa, quindi anche su quella portale, nel momento in cui il modello epatico analitico, inizialmente *single-input*, è stato esteso ad uno *dual-input*.

Inoltre, allo scopo di approssimare il problema da un'altra prospettiva, è stata eseguita un'analisi preliminare finalizzata a comprendere, a priori, ciò che si vuole stimare mediante la deconvoluzione, ovvero la IRF. Si è cercata quindi una famiglia di curve adatta. Tale linea d'azione è talvolta il passaggio iniziale, svolto in quelli che sono definiti metodi deconvoluzionali parametrici, che tuttavia stimano la IRF impostandone una forma preferenziale, sulla base di un numero consistente di ipotesi aggiuntive riguardo il compartimento epatico e la rete vascolare. La definizione di un *set* di IRF permette di avere maggiore controllo su tutte le variabili coinvolte ed i parametri che la definiscono. Ciò consente di comprendere appieno il significato di ognuno di essi e le mutue influenze. Inoltre, questo approccio permette di indagare il funzionamento degli algoritmi numerici implementati e di verificare i risultati rispetto a quanto atteso dall'analisi teorica.

Al fine di riprodurre il comportamento di una TCC arteriosa reale, si è scelto di adottare la funzione matematica *Lag Normal* (LAGN), già nota [19,20] per essere impiegata nella descrizione dei fenomeni di trasporto in aorta o nell'analisi di componenti di un sistema *multi-path*, usando una procedura di deconvoluzione. Dal punto di vista matematico, la LAGN è un'equazione differenziale che rappresenta una densità di probabilità simile ad una distribuzione gaussiana, ma asimmetrica. In **Figura 11**, se ne mostra l'andamento nel tempo e l'Eq.36 ne fornisce la formulazione analitica:

$$f(t) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{t-t_c}{\sigma}\right)^2} - \tau \frac{df(t)}{dt} \quad (36)$$

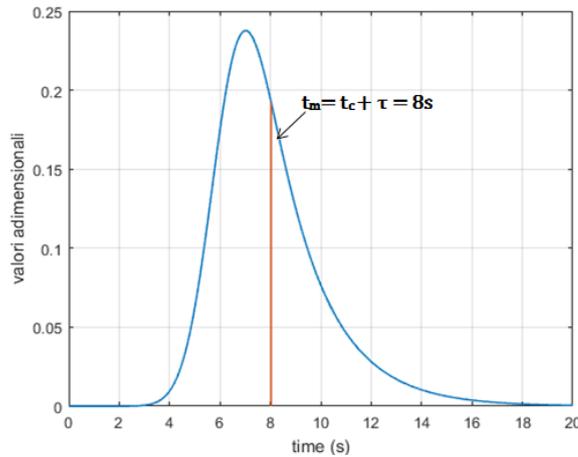
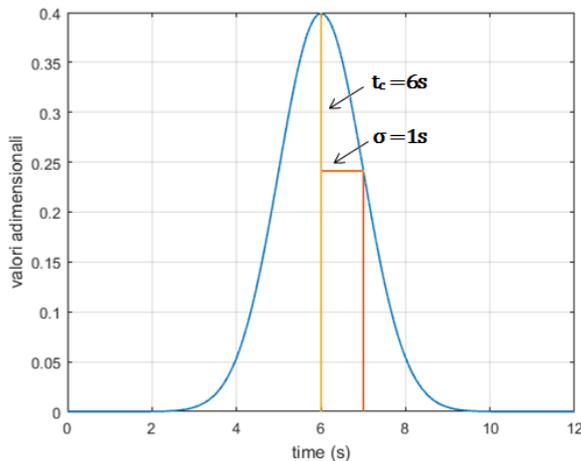


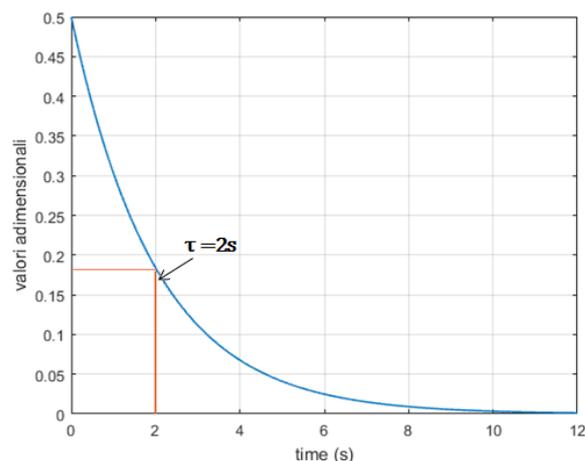
Figura 11 – Andamento nel tempo della funzione LAGN, descritta dall'Eq.36. Il parametro t_m indica il tempo medio del decadimento, che combina gli effetti del contributo, t_c , di un processo gaussiano e, τ , di uno esponenziale. In ascissa è riportato il tempo [s], in ordinata i valori assunti dalla funzione.

dove σ e t_c sono rispettivamente la deviazione standard ed il centroide di una funzione gaussiana, mentre τ è la costante di tempo di un processo di decadimento esponenziale del primo ordine. La LAGN, infatti, può essere considerata matematicamente come la composizione di due contributi, uno gaussiano ed uno esponenziale. La **Figura 12a,b** grafica i singoli andamenti nel tempo e le Eqs.37 e 38 li descrivono matematicamente:



$$f_1(t) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{t-t_c}{\sigma}\right)^2} \quad (37)$$

Figura 12a – Andamento nel tempo del contributo gaussiano, rappresentato dall'Eq.37, con centroide t_c e deviazione standard σ .



$$f_2(t) = \frac{1}{\tau} e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (38)$$

Figura 12b – Andamento nel tempo del contributo esponenziale, rappresentato dall'Eq.38, con tempo caratteristico di decadimento τ .

Considerando, quindi, a titolo d'esempio una TCC reale, è possibile osservare in **Figura 13** la simulazione dell'assorbimento del MdC nel vaso aortico, con una LAGN.

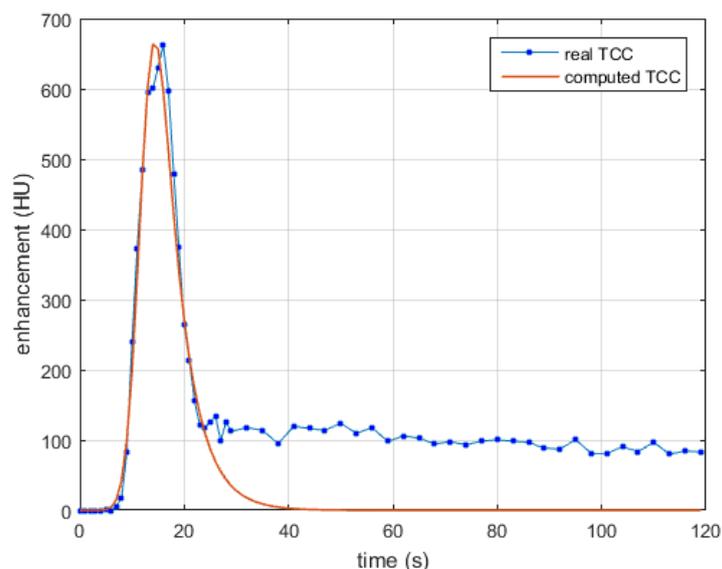


Figura 13 – Confronto tra la TCC aortica reale (a valori discreti, in blu) e la curva continua LAGN (in rosso) che simula la fase di salita (*first pass*) dell'assorbimento del MdC nel vaso.

La stessa funzione, LAGN, è stata impiegata per riprodurre il comportamento nella fase di *first pass* anche della TCC estratta dalla ROI apposta sulla vena porta, quando il modello è stato convertito per la rappresentazione del *dual-input*. La **Figura 14** consente quindi di valutare nell'insieme, le simulazioni degli *input*

vascolari, nello specifico della TCC arteriosa e di quella portale. Si nota quindi, in entrambi i casi, come le curve LAGN riproducano bene la fase di salita delle TCC reali. Inoltre, è evidente come le simulazioni realizzate differiscano da una comune procedura di *fitting* per una caratteristica: non presentano la fase di ricircolo che compare nelle TCC vascolari reali. Adottando, come noto dall'ipotesi iniziale, un modello mono-compartimentale, si riesce in tal modo anche a trascurare ciò che non è ritenuto d'interesse per l'analisi perfusiva di primo passaggio.

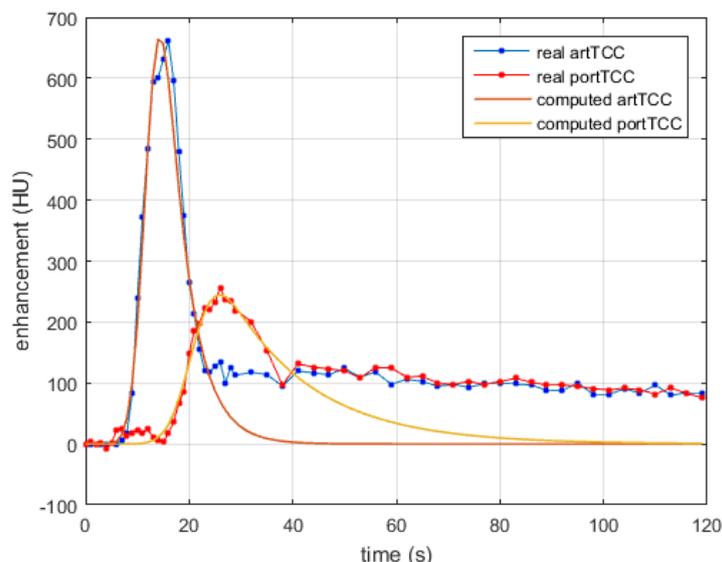


Figura 14 – Sono riportate le TCC reali di aorta e porta e le relative curve LAGN che ne simulano l'andamento, nello specifico nella fase di salita di concentrazione del MC.

Parallelamente, per descrivere la IRF, è stata individuata una funzione tra quelle della famiglia di Weibull (Cuenod et al. [6]). Nella teoria della probabilità, la distribuzione di Weibull è una densità di probabilità continua, definita sui numeri reali e positivi. È descritta da due parametri: (1) scala e (2) forma. Per chiarirne l'uso generale: se, ad esempio, una funzione di tipo esponenziale è tipicamente adottata per descrivere la “durata di vita” di un fenomeno privo di memoria, la distribuzione di Weibull si presta alla rappresentazione di fenomeni con “probabilità di morire” variabile nel tempo, in funzione del parametro di forma. Viene impiegata cioè per descrivere sistemi con tasso di guasto variabile, piuttosto che costante (che sono, invece, ben caratterizzati anche da un semplice decadimento esponenziale). Riportandosi ad un punto di vista biologico, dalla teoria IDT e dalla descrizione del tessuto come fosse un qualsiasi sistema Lineare Tempo Invariante

(LTI), la perfusione, quindi la permanenza del MdC nel compartimento tessutale, può essere analizzata secondo le relazioni matematiche che descrivono più in generale i sistemi elettronici e quindi la durata media di vita di un componente. Nello specifico, la formulazione adottata per la IRF parametrizzata è quella riportata dall'Eq.39:

$$g(t) = a(t) e^{-\left(\frac{t}{b/2}\right)^c} \quad (39)$$

con $a(t)$ descritta dall'Eq.40:

$$a(t) = \left(\frac{c}{b}\right) \left(\frac{t}{b}\right)^{c-1} \quad (40)$$

e definita per t nell'intervallo $[0, \infty)$, $b > 0$, $c > 0$. Nelle Eqs.39 e 40, b e c sono rispettivamente il parametro di scala e quello di forma. Rispetto alla formulazione originale, nell'Eq.39 si è scelto di dimezzare il fattore di scala all'esponente (quindi, di utilizzare il fattore $b/2$) per accelerare il decadimento della curva e garantire la convergenza a zero per $t=120s$, corrispondente alla durata dell'acquisizione delle TCC reali. Questo è importante nelle fasi successive del metodo, in cui la IRF così parametrizzata è impiegata. Dal punto di vista fisiologico, una IRF è rappresentativa di un MdC, il cui *first pass* termina al più entro i primi 70 secondi del segnale acquisito; è ragionevole, quindi, che se si esclude il ricircolo, il decadimento della IRF debba completarsi al massimo entro la durata totale dell'intervallo temporale (in questo caso entro 120s).

È stato inizialmente condotto uno studio preliminare sul comportamento della funzione di Weibull, con un approccio "*trial and error*", per valutare gli effetti della variazione dei parametri caratteristici all'interno di intervalli individuati come significativi per il problema trattato. Considerati i *range* di riferimento $b > 10$ e $0 < c < 2$, è stato valutato l'andamento della funzione $g(t)$ (Eq.39), con particolare riferimento ai quattro casi seguenti:

- a. $b > 10, c = 0.7$
- b. $b = 30, 0 < c < 1$
- c. $1 \leq c < 2, b = 30$
- d. $c = 1.4, b > 10$

La **Figura 15a,b,c,d** riporta gli andamenti ottenuti nei casi sopra descritti. La prima evidenza è che esiste una dipendenza tra i due parametri; l'andamento generale che la funzione assume può essere attribuito ad una tra due macro-classi: (1) simil-esponenziale o (2) simil-gaussiana.

La classificazione delle curve tra i due andamenti caratteristici è deputata al valore assunto da c : per la classe (1), c deve essere inferiore ad 1 (ad esempio, $c = 0.7$), per la classe (2), c deve essere maggiore o uguale ad 1 (ad esempio, $c = 1.4$).

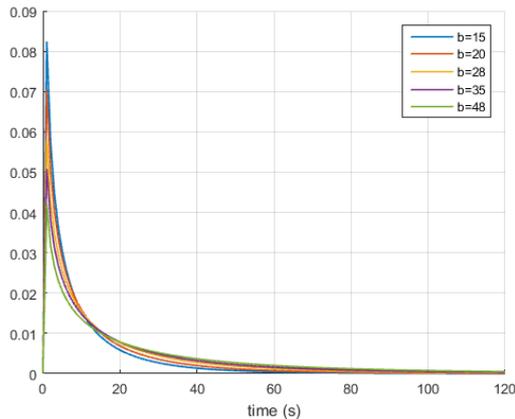


Figura 15a – Studio della distribuzione di Weibull per parametro di forma fissato ($c=0.7$) e $b>10$. L'andamento risultante è simil-esponenziale (classe (1)), con tempi di decadimento simili. All'aumentare di b , si riduce progressivamente il valore di picco.

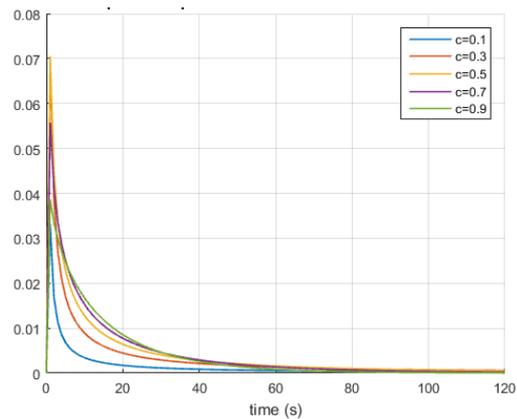


Figura 15b – Studio della distribuzione di Weibull per $b=30$ e $0<c<1$. L'andamento risultante è simil-esponenziale (classe (1)). I tempi di decadimento delle curve sono diversi tra loro.

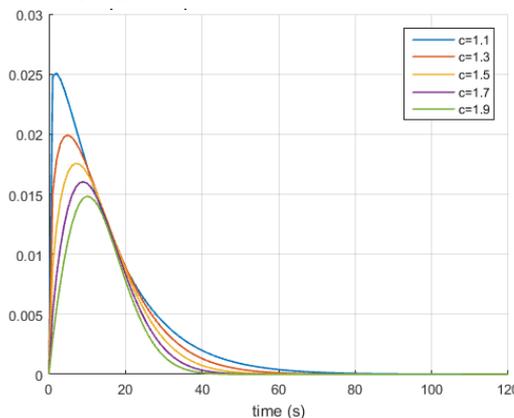


Figura 15c – Studio della distribuzione di Weibull per parametro di scala fissato ($b=30$) e $1<c<2$. L'andamento risultante è simil-gaussiano (classe (2)). Il decadimento delle curve è tra loro simile.

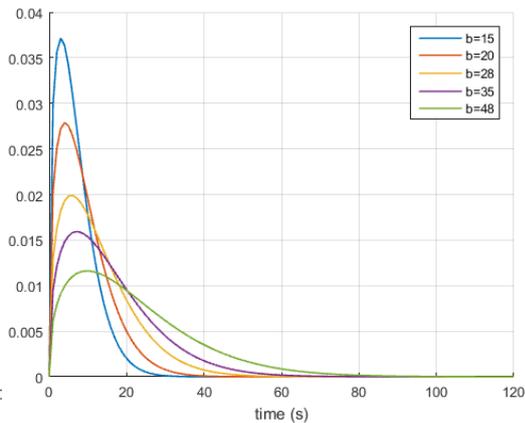


Figura 15d – Studio della distribuzione di Weibull per $c=1.4$ e $b>10$. L'andamento risultante è simil-gaussiano (classe (2)). I tempi di decadimento delle curve sono diversi tra loro.

Come si osserva in **Figura 15a,b**, per valori di forma compresi nell'intervallo $(0,1)$, la distribuzione di Weibull appartiene alla classe (1). È

tuttavia possibile individuare delle differenze all'interno della classe, a seconda che stia variando la forma o la scala. Infatti, nel caso in cui il valore della forma sia imposto (**Figura 15a**), l'effetto della variazione della scala è limitato alla determinazione del valore di picco. Si nota inoltre, che il massimo raggiunto si riduce progressivamente all'aumentare di b . L'influenza sulla costante di decadimento dell'esponenziale non è, in questo caso, forte; a differenza di ciò, fissando il parametro di scala (**Figura 15b**) e lasciando variare la forma per valori inferiori all'unità, l'influenza maggiore si rileva nella diversa fase di decadimento della curva.

Come visibile, invece, in **Figura 15c,d**, per valori di forma c tali che $1 \leq c < 2$, la distribuzione appartiene alla classe (2). In **Figura 15c**, in cui la scala è fissa, le curve ottenute al variare della forma sono tutte più simili tra di loro, rispetto al caso di **Figura 15d** in cui, mentre varia la scala, si osserva una variabilità dei tempi di decadimento e dei valori di picco, più ampia.

In conclusione, dallo studio condotto, si rileva un effetto predominante del fattore di forma, c , nel determinare l'appartenenza della Weibull ad una delle due classi, simil-gaussiana o simil-esponenziale; si verifica, in un certo senso, un fenomeno di adattamento conseguente del parametro di scala, b .

Avendo identificato due classi (di cui sopra) tra gli andamenti preferenziali assunti dalla IRF parametrizzata, si è ipotizzato che a ciascuna di esse potesse essere associato univocamente un modello *single* o *dual-input*. Nello specifico, si è pensato che il *dual-input*, essendo maggiormente rappresentativo della reale fisiologia del fegato, potesse essere rappresentato dai *range* dei parametri della IRF che ne fanno assumere andamento tipico della classe (1), avvicinando l'andamento della IRF stessa a quello teorico ideale. Infatti, una IRF dovrebbe avere andamento esponenziale; tuttavia, lavorando con casi reali, quali sono le TCC di una TCp, vi sono delle deviazioni dall'idealità, a causa, ad esempio, di fenomeni di ritardo (*delay*). A seguito anche di analisi preliminari, un modello *single-input* si è pensato che potesse essere rappresentato meglio dalle IRF della classe (2); sembra che non considerando l'*input* portale, che giunge almeno dieci secondi dopo quello arterioso, la rappresentazione di tale ritardo fisiologico sia "affidata" alla IRF, che quindi presenta un massimo *shiftato* di diversi secondi rispetto allo zero (facendole assumere andamento simil-gaussiano), per garantire comunque che venga

riprodotta, dopo la convoluzione dei due termini (*input* e IRF), la salita del tessuto nell'istante esatto.

Gli *step* procedurali del metodo, nelle fasi successive, sono stati definiti anche nell'ottica di verificare le ipotesi e condurre ulteriori valutazioni.

3.2 Modellazione di un simulatore

I due elementi di cui alla Sez. 3.1, ovvero (1) le simulazioni degli *input* vascolari e (2) le funzioni di Weibull parametrizzabili per rappresentare una IRF, sono stati impiegati, combinandoli, per definire un simulatore. Sulla base della IDT che spiega il modello cinetico deconvoluzionale, le funzioni IRF di Weibull sono state convolute con l'*input* vascolare per ottenere delle curve rappresentative dell'assorbimento del MdC nel tessuto. Più specificatamente, si sono cercati i valori ottimi dei parametri della Weibull che consentissero di ricavare delle curve "fedeli" alle TCC di tessuto estratte. Come detto prima, l'approccio seguito è stato inizialmente di carattere *trial and error*: sono stati esplorati diversi spazi di soluzione dei parametri della Weibull, fino a che le curve di tessuto ottenute non fossero ritenute soddisfacenti, sia considerando un controllo qualitativo visivo dell'*output*, sia basandosi sull'analisi dei residui calcolati rispetto alle TCC reali.

In una prima fase, la funzionalità del simulatore è stata testata sulle curve medie estratte dalla ROI epatica. E, seguendo un approccio progettistico *bottom-up*, la versione iniziale prevedeva una rappresentazione *single-input*: la simulazione dell'*input* aortico era convoluta con la Weibull, appositamente parametrizzata, per ottenere il *best-fitting* di una TCC media del fegato. In una seconda fase analitica, si è introdotta l'ipotesi di *dual-input*, quindi la funzione vascolare, convoluta con la Weibull, combinava le simulazioni rispettivamente dell'*input* aortico e di quello portale. Come è noto (Sez. 2.2.4.2), il coefficiente di tale combinazione è l'HPI, che deve essere definito per poter portare a termine il processo di simulazione. Ciò incrementa il numero di parametri necessari all'impiego del simulatore, poiché ai due della Weibull (forma e scala), ora se ne aggiunge un terzo. A tal proposito, va evidenziato come dallo studio di perfusione condotto con un qualsiasi modello cinetico, e più specificatamente, con un modello deconvoluzionale, la quantificazione dell'HPI è uno degli *output* dell'analisi. Avendo invece, alla base di questo progetto, spostato l'approccio al problema nella prospettiva opposta, si è

ottenuto conseguentemente l'effetto che l'HPI fosse diventato uno degli *input*. Il fatto di dover scegliere a priori un dato così rilevante dal punto di vista clinico, poteva rappresentare una criticità attesa. In ogni caso, con i processi analitici che sono stati implementati, anche di verifica dei risultati, si è potuta testare la sostanziale plausibilità dei dati.

L'ulteriore specificità introdotta è consistita nella realizzazione di simulazioni *voxel-based*. Il set di IRF è stato parametrizzato specificatamente per simulare ogni TCC estratta dalla ROI apposta sul fegato. Il grado di dettaglio raggiunto ha permesso di analizzare il problema di modellazione su più fronti: (1) sono state valutate qualitativamente le differenze tra le TCC di *voxel* adiacenti, (2) è stata investigata l'adattabilità dei parametri della IRF individuati per la TCC media della ROI epatica, alla simulazione delle TCC *voxel-based*, (3) in ragione di ciò, si è valutata la distribuzione spaziale dei parametri della IRF, all'interno della ROI.

C'è da notare, tuttavia, che avendo intrapreso la selezione dei parametri ottimi manualmente (sia per la Weibull, sia per l'HPI), l'esplorazione di un numero consistente di spazi delle soluzioni è stata tentata ma non metodologicamente approfondita. Dopo l'approccio iniziale, infatti, soprattutto con l'incremento della specificità della simulazione, lavorando con TCC *voxel-based*, l'obiettivo si è orientato verso la progettazione di algoritmi di scelta automatizzata di tali parametri, con l'idea di poter trarre i caratteri informativi, per la formulazione della IRF ottimale, dai dati reali, sfruttando sia le curve vascolari che quelle tessutali. Ovvero, il processo di automatizzazione è stato intrapreso per superare l'approccio *trial and error* ed acquisire maggiore consapevolezza sui dati reali, individuando le possibili ed eventuali relazioni causa effetto tra le TCC e le relative IRF. Ad esempio, si è cercato come la pendenza, il valore di picco, l'istante di massima pendenza della TCC tessutale reale potessero determinare la forma o la scala della IRF.

Nelle curve di tessuto ottenute in *output* dal simulatore vi è una caratteristica, che a propria volta consegue dalle proprietà delle funzioni che sono state combinate: così come non vi è ricircolo negli *input* vascolari, lo stesso non si presenta nei tessuti. Tuttavia, dipendentemente dal tempo di decadimento della IRF, e quindi dal fatto che al termine della durata totale dell'acquisizione, la funzione possa essere prossima a zero, ma non averlo raggiunto, potrebbe verificarsi la stessa condizione sulle curve di tessuto.

Nel funzionamento del simulatore, si è tenuto in conto, inoltre, la necessità di dover considerare nel processo di convoluzione dei singoli elementi la presenza di un ritardo tra le funzioni vascolari e le curve di tessuto. Ovvero, è stato quantificato l'eventuale *shift* temporale rilevato tra la curva di tessuto reale e la curva computata, allineandole di conseguenza.

A seguire si riportano nelle **Figure 16, 17 e 18**, a titolo d'esempio, i risultati intermedi di un'esecuzione secondo il *workflow* del simulatore: si grafica in **Figura 16** un esempio di *input* vascolari, combinati secondo la relazione definita dalla

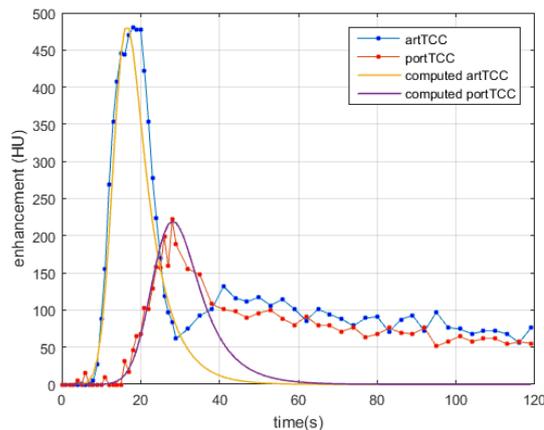


Figura 16 – Simulazione delle TCC di aorta e porta. Le funzioni computate sono combinate linearmente, adottando un valore di HPI=6.45% per ricavare la funzione di *input* vascolare del tessuto.

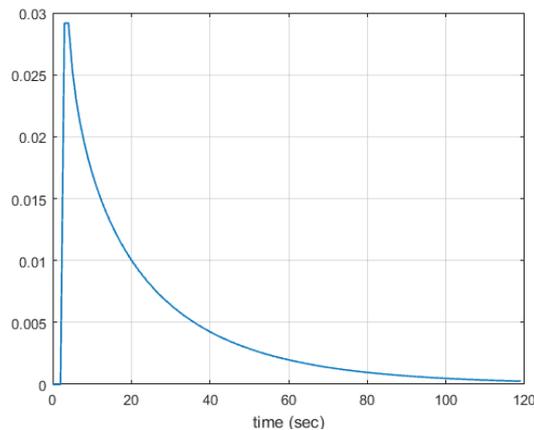


Figura 17 – Andamento nel tempo della IRF, parametrizzata secondo i parametri ottimi trovati (scala $b=45$ e forma $c=0.8768$). La IRF ha una forma simil-esponenziale; la simulazione considera infatti il *dual-input*.

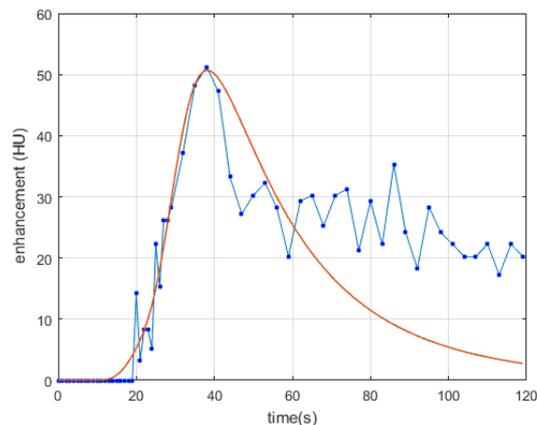


Figura 18 – Confronto tra la TCC tessutale reale e la curva che ne simula l'andamento, calcolata per mezzo dell'operazione di convoluzione imponendo a priori la parametrizzazione della IRF e considerando una combinazione lineare delle simulazioni di aorta e porta, come previsto dall'ipotesi del modello *dual-input*.

Eq.29 (Sez. 2.2.4.2), specificando il valore del parametro HPI utilizzato. Quindi, nella successiva **Figura 17** si illustra la IRF parametrizzata ed i parametri scelti per mezzo degli algoritmi automatici. Infine, in **Figura 18** si visualizza l'*output* della simulazione ed il confronto con la TCC reale di tessuto.

Di seguito, nello schema di **Figura 19** viene riportato un diagramma di flusso che riassume i principali passi procedurali implementati nel simulatore.

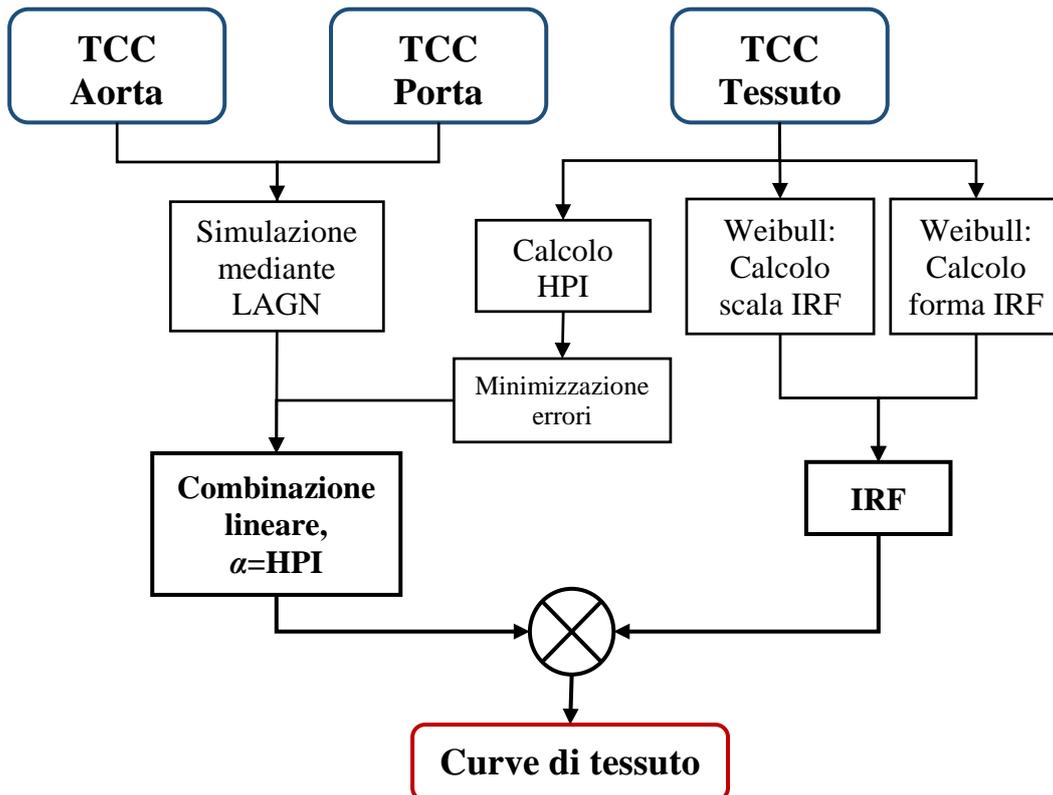


Figura 19 – Diagramma di flusso rappresentativo del *workflow* del simulatore: le TCC di aorta e porta vengono simulate e combinate linearmente secondo il coefficiente $\alpha=HPI$, ricavato dalle TCC di tessuto e sottoposto ad un algoritmo di minimizzazione degli errori. Parallelamente, dalle TCC di tessuto si calcolano i parametri di scala e forma per la IRF. Quindi, la IRF e la combinazione degli *input* vascolari sono convolute per restituire in *output* delle curve di tessuto che riproducano il comportamento delle TCC reali a valle della somministrazione del MdC.

3.3 Valutazioni di perfusione

Come già anticipato, l'algoritmo *simulation-based* è stato progettato per condurre un'indagine preliminare sul metodo deconvoluzionale. Gli algoritmi di regolarizzazione, generalmente applicati a quest'ultimo, possono essere ottimizzati

potendo quanto meno prevedere la forma della IRF che la deconvoluzione deve stimare o conoscendo meglio le criticità del processo diretto e inverso di convoluzione e deconvoluzione.

Tuttavia, dopo aver formalizzato teoricamente il simulatore nell'ultima versione *dual-input voxel-based* ed aver verificato la bontà delle curve ottenute a seguito dell'implementazione di tutti gli algoritmi, si è pensato che il modello progettato potesse funzionare anche *stand-alone*, ovvero che fosse possibile condurre un'analisi di perfusione quantitativa direttamente dalle curve computate, estraendo così i parametri di BF, BV, MTT.

Questo ha comportato un'analisi teorica ulteriore poiché ci si è resi conto che rispetto alle ipotesi modellistiche alla base del metodo deconvoluzionale, vi fossero delle assunzioni non più applicabili e che quindi avrebbero portato a risultati non significativi. Infatti, il comune approccio deconvoluzionale valuta la perfusione ricavando informazioni dalla stima della IRF, anche perché i dati reali conservano numerose componenti di "disturbo" che non consentono l'accesso diretto all'informazione ricercata. Ad esempio, il BF viene stimato come valore del massimo della IRF. Si tratta, tuttavia, di un'approssimazione, che diventa ancora più ardua quando il massimo della IRF non si verifica in corrispondenza dell'istante di tempo $t=0$. Si ricorda a tal proposito, che la IRF è la densità di distribuzione della quantità di MdC presente nel compartimento. Ci si aspetta, in virtù di ciò, che il massimo valore di MdC nel tessuto si abbia in corrispondenza dell'istante $t=0$, prima cioè che ne inizi la fuoriuscita. Stimando la IRF dopo l'operazione di deconvoluzione, l'andamento ottenuto è nel più dei casi ritardato rispetto a quello di un'esponenziale decrescente, sia perché si trattano dati reali affetti da rumore, sia per le criticità numeriche degli algoritmi implementati. Ciò si traduce nel fatto che si abbia il massimo valore per un tempo $t \neq 0$. Inoltre, il presupposto del modello resta quello di *outflow* venoso nullo, che è un'ulteriore condizione di difficile realizzazione, a maggior ragione quando il picco della IRF è ritardato. Ovvero, è scarsamente verosimile che non vi sia *outflow* venoso per più di qualche secondo al massimo, ancor più se si considera un modello *dual-input* che quantifica adeguatamente l'ingresso compartimentale. Rispetto a tutte queste valutazioni, il metodo *simulation-based* ha rappresentato l'opportunità di valutare la perfusione secondo i principi teorici, non compromessi da approssimazioni necessarie, in altri metodi, per problemi di implementazione o numerici.

Inoltre, tra i vantaggi del metodo proposto vi è quello di avere delle curve che simulano i comportamenti reali in fase di *enhancement* del MdC e ne escludono il ricircolo. Questo, al contempo, rappresenta un'opportunità per poter effettuare una stima della perfusione direttamente dal tessuto, piuttosto che indirettamente dalla IRF, riducendo ulteriormente le componenti d'errore.

Per quanto riguarda il parametro MTT, seppure il modello di deconvoluzione ne fornisca una relazione rigorosa dal punto di vista teorico (Eq. 22, Sez. 2.2.4.2), come già spiegato in dettaglio (Sez. 2.2.4.2), all'atto pratico si fa spesso uso di un'approssimazione (Eq.24, Sez. 2.2.4.2), ovvero che la distribuzione dei tempi di transito della quantità che sta uscendo sia pari a quella di ciò che rimane nel tessuto. Infatti, quando le condizioni analitiche sono "instabili", nel senso che la IRF non è nota a priori ma stimata (come si fa nel metodo deconvoluzionale), tutte le incertezze nell'andamento di IRF trovato (ad esempio eventuali fenomeni oscillatori) si ripercuotono nell'individuazione della funzione $h(t)$, con cui si stimerebbe correttamente l'MTT. Avendo invece a disposizione, con l'approccio *simulation-based*, delle IRF ben modellate e di chiara interpretazione matematica, l'applicazione di Eq.22 (Sez.2.2.4.2) non crea problematiche ulteriori.

L'idea è quella di sfruttare, in un lavoro futuro, tutte le informazioni ricavate dallo sviluppo di questo metodo come *input* per il metodo deconvoluzionale, consentendo di progettare al meglio gli algoritmi di regolarizzazione.

Una simulazione *voxel-based*, come quella realizzata consente di calcolare i parametri di perfusione con elevata specificità all'interno della ROI epatica selezionata. La variabilità dei parametri della IRF tra *voxel* adiacenti è logicamente connessa alla variabilità nelle curve che simulano i tessuti reali (in modo particolare, alla variabilità intra-ROI delle TCC reali) comportando, conseguentemente, una variabilità dei parametri di perfusione estratti nella ROI. Pertanto, per poter valutare la distribuzione spaziale dei parametri, si sono utilizzate delle mappe colorimetriche (in pseudo colori), una per ciascun parametro, in cui ogni colore rappresenta il valore del parametro, secondo una scala cromatica opportunamente scelta per massimizzare le differenze [15]. Generalmente, le mappe vengono visualizzate sovrapponendo la distribuzione colorimetrica della ROI ad una tra le *slice* delle scansioni TC acquisite; ciò consente di associare alle stime quantitative della perfusione, valutazioni qualitative derivanti da corrispondenze anatomiche.

Per poter validare i risultati di perfusione estratti si è ritenuto opportuno confrontarli con quelli estratti con un altro metodo (che non fosse la deconvoluzione) e che consentisse di verificare che tra i due vi fosse al più uno scostamento dovuto ad un errore sistematico, non casuale. La scelta di utilizzare il metodo del MS è derivata dal fatto che si tratta di un approccio semplice, non sempre accurato, ma in grado di poter fornire un *trend* verosimile della distribuzione dei valori di perfusione all'interno della ROI. Dato che il simulatore prevedeva un modello *dual-input*, anche il metodo MS è stato applicato sulla stessa ipotesi modellistica. Pertanto è stato ricostruito il segnale di milza, per poter sfruttare l'istante di massimo della TCC splenica come separatore della fase arteriosa e portale. Infatti, il flusso di sangue, quindi il MdC, raggiunge la vena porta dopo la circolazione splenica. Il picco del segnale di milza è usato come separatore tra le due fasi, assumendo che il flusso portale sia trascurabile negli istanti che precedono il massimo assorbimento del MdC nella milza [7].

Rispetto ai due metodi confrontati, si è cercato di individuare delle relazioni tra i parametri di BF, BV, MTT calcolati sulle stesse curve, ovvero quelle in *output* dal simulatore, con particolare attenzione per eventuali relazioni di primo o secondo grado. Il confronto è stato, dunque, corredato dall'analisi dei residui tra le TCC reali e le curve computate, per verificare che effettivamente queste simulassero i comportamenti reali, non essendo possibile a causa della quantità di curve estratte, fare un *checking* visivo per ognuna di esse.

Inoltre, si è messo in conto che una forte variabilità intra-ROI tra le curve stesse potesse generare una correlazione più ampia tra i due metodi. Analogamente, quando le caratteristiche del tessuto nella ROI scelta fossero state molto simili tra di loro, si è ipotizzato che i due metodi avrebbero fornito due *trend* di risultati ben correlati. Nelle aspettative, questa strategia dovrebbe permettere di verificare la bontà dei risultati ottenuti ed eventualmente di rilevare eventuali criticità nascoste.

Infine, le quantificazioni numeriche dei parametri di perfusione, estratti sulla base dell'algoritmo *simulation-based* qui presentato, sono state valutate nell'ottica di individuare una classificazione dei casi analizzati, tra misure in linea con i dati riportati in letteratura per fegati sani e valori che invece possano predire l'insorgere di una condizione patologica a carattere tumorale.

Capitolo 4

IMPLEMENTAZIONE DEL METODO

Per l'implementazione del metodo e la realizzazione del simulatore si è lavorato principalmente in ambiente MATLAB (©MathWorks, v. R2015b), ad eccezione della fase di simulazione degli *input* vascolari, per la quale ci si è interfacciati con il software JSIM (©NSR Physiome Project, MMID4 *model*), esportando comunque i dati in MATLAB per l'elaborazione successiva.

Nelle pagine che seguono è spiegata l'implementazione dell'algoritmo *simulation-based*. Viene dapprima descritto il calcolo dei parametri di perfusione dalle curve calcolate; quindi, si spiega come sono stati realizzati i singoli *step* procedurali: utilizzo del software JSIM per la simulazione degli *input*, automatizzazione dei parametri della IRF (forma e scala), calcolo dell'HPI e relativo algoritmo di minimizzazione degli errori, quindi quantificazione e correzione del *delay*. Infine, si chiarisce il processo di estrazione del segnale di milza.

4.1 Calcolo dei parametri di perfusione

Dal modello *simulation-based* (Sez. 3.2) e considerando le ipotesi ancora valide del modello deconvoluzionale, sono stati quantificati numericamente i parametri di perfusione, ovvero BF, MTT e BV.

Il calcolo dell'MTT discende dall'Eq.22 (Sez. 2.2.4.2), di seguito riproposta:

$$MTT = \int_0^{\infty} \tau h(\tau) d\tau \quad (22)$$

dove la funzione $h(\tau)$ è calcolata dalla Eq.23 (Sez. 2.2.4.2) come derivata prima, cambiata di segno, della IRF normalizzata. Nello specifico, per l'implementazione numerica si è adottata l'approssimazione della derivata alle differenze finite centrate, rispetto ad un vettore temporale discretizzato nell'intervallo [0,120)s, con passo unitario, ad eccezione dei punti estremi, sinistro e destro, per i quali si è implementata la formula alle differenze finite rispettivamente in avanti e all'indietro.

Per quanto riguarda il BF, (come anticipato nella Sez. 3.3) l'algoritmo *simulation-based* consente di estrarre il dato di perfusione direttamente dalle curve calcolate del tessuto, che escludono la fase di ricircolo, riproducendo, invece, soltanto l'andamento reale nella fase di assorbimento del MdC. Pertanto, il BF è calcolato come rapporto tra il valore di picco della curva di tessuto, $c_{comp_T}(t)$, e l'area sottesa dalla stessa, secondo l'Eq.41 che segue:

$$BF = \frac{c_{comp_T}(t)|_{max}}{\int_0^t c_{comp_T}(\tau) d\tau} \quad (41)$$

L'integrale definito tra $t=0$ e $t=119$ s è stato implementato con la formula dei trapezi, utilizzando la apposita *building-function* di MATLAB. Calcolati i valori di BF e MTT, si è ricavato il valore di BV facendo ricorso al TVC (Sez. 1.2 e 2.2.2).

4.2 Modellazione delle curve vascolari in JSIM

Per la simulazione degli input vascolari, di aorta e porta, ci si è interfacciati con il *software* JSIM, noto simulatore *open-source* per la modellazione in ambito medico-scientifico, che raccoglie una serie di modelli per la riproduzione di funzioni e fenomeni di scambio in cellule, organismi e organi [23]. Nello specifico, si è selezionato il modello MMID4, preposto alla simulazione del passaggio di un tracciante in un compartimento con al più venti sub-compartimenti interni, in cui, ognuno di essi può essere modellato con quattro regioni di scambio. La **Figura 20** [24] mostra il *layout* del modello MMID4 e l'organizzazione strutturale dei compartimenti.

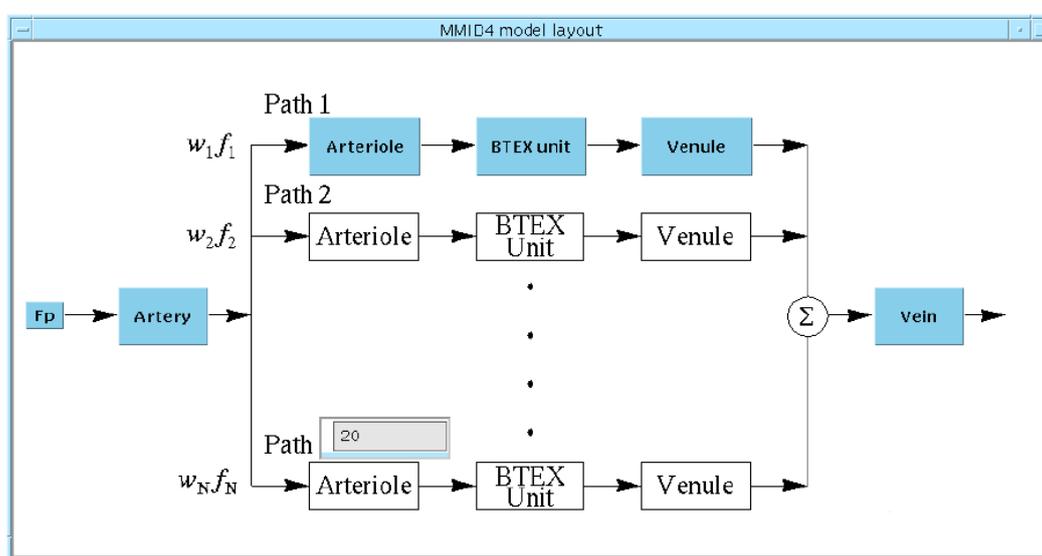


Figura 20 – *Layout* del modello MMID4, compilato nel *software* di simulazione JSIM. Si descrivono al più 20 possibili sub-compartimenti. MMID4 è tipicamente utilizzato per la rappresentazione dei flussi di un tracciante nella rete vascolare [24].

Tuttavia, il *software* non è stato utilizzato come simulatore, bensì al solo fine di sfruttare il generatore di funzioni in esso incluso. Indipendentemente, dunque, da tutto ciò che definisce MMID4 in senso stretto, ovvero le equazioni implementate al suo interno, le variabili ed i parametri descrittivi ed i metodi numerici, si è fatto uso esclusivamente di un annesso del modello, quale il generatore di funzioni. La scelta, in tal senso, è giustificata dalla volontà di approcciarsi e prendere confidenza con un *software* noto per essere utilizzato in ambito scientifico e in particolare nella letteratura della TCp o RMp (ad esempio, in [11]).

Per mezzo del generatore sono state simulate le funzioni LAGN ($f(t)$, Sez. 3.1, Eq.36); JSIM richiede, per questo scopo, la definizione di alcuni parametri. La **Figura 21a** mostra l'interfaccia di inserimento delle specifiche per la simulazione e di seguito si spiega il significato di ognuno di esse. La **Figura 21b**, nello specifico, mostra l'impostazione del dominio temporale, scelto nell'intervallo $[0,120]$ s con passo unitario.

Function Generator fgen_1

Domain	t
Function	LagNormal
area	
tMean	
RD	
skewn	
frPeak	1E-6
upslope	Regular
timeToRepeat	0

Figura 21a – Interfaccia del *software* JSIM per l'inserimento dei parametri necessari alla generazione della funzione LAGN [24].

Independent variable: time

Start	0	sec
Stop	119	sec
Number of values	120	dimensionless
Increment	1	sec

Figura 21b – Impostazione del dominio nel tempo, scelto tra $[0,120]$ s con passo unitario [24].

Nell'ordine, è spiegato il significato dei parametri richiesti dal generatore di funzione e variati in fase di utilizzo:

- *area*: indica l'area sottesa alla curva, di valore minimo di *default* pari ad 1. Formalmente coincide con l'integrale nel tempo tra l'istante 0 ed infinito, numericamente approssimato dall'intervallo definito dal dominio del tempo. Generalmente questo parametro viene variato per scalare opportunamente la funzione LAGN e raggiungere l'ampiezza desiderata. L'Eq.42 descrive la formula per il calcolo dell'area. Il dominio temporale è definito dagli estremi $[t_{min}, t_{max}] = [0,120]$ s.

$$area = \int_0^{\infty} f(\tau) d\tau \cong \int_{t_{min}}^{t_{max}} f(\tau) d\tau \quad (42)$$

- *tMean*: indica il tempo medio di transito della densità di probabilità (*Probability Density Function*, PDF), ovvero della LAGN. Il tempo t è la

variabile indipendente nella simulazione. Può essere approssimativamente quantificato come la differenza tra l'istante iniziale e l'istante di picco della LAGN. L'Eq.43 ne fornisce la formulazione analitica:

$$tMean = \frac{\int_0^{\infty} f(\tau)\tau d\tau}{\int_0^{\infty} f(\tau)d\tau} \cong \frac{\int_{t_{min}}^{t_{max}} f(\tau)\tau d\tau}{\int_{t_{min}}^{t_{max}} f(\tau)d\tau} \quad (43)$$

- *RD*: indica la dispersione relativa della PDF, ovvero la varianza della PDF divisa per il tempo medio di transito. Formalmente, è espressa dall'Eq.44:

$$RD = \frac{\int_0^{\infty} f(\tau)(\tau - tMean)^2 d\tau}{tMean} \cong \frac{\int_{t_{min}}^{t_{max}} f(\tau)(\tau - tMean)^2 d\tau}{tMean} \quad (44)$$

- *skewn*: indica la *skewness* della PDF. Se riferita ad una distribuzione gaussiana, questa assume valore nullo. Per la LAGN ha valore positivo. Rappresenta il terzo momento centrale normalizzato di una generica variabile aleatoria X , definito come il rapporto tra il momento centrale di ordine tre (μ è il valor medio) e il cubo della deviazione standard, σ . L'Eq.45 ne formalizza matematicamente la definizione:

$$skewn = \frac{E(X - \mu)^3}{\sigma^3} \quad (45)$$

Infine, i valori di *frPeak*, *upslope* e *timeToRepeat* non sono stati variati rispetto a quelli di *default*. Tali impostazioni determinano rispettivamente: (1) il valore minimo della LAGN raggiunto durante la convergenza verso lo zero nella fase di decrescita, successiva al picco; è espresso come frazione del valore massimo della LAGN stessa (generalmente 1E-06 del picco). (2) La modalità di salita della curva (si può eventualmente scegliere tra lineare o regolare, se invece segue un andamento interpolabile con un polinomio di grado superiore al primo), (3) il periodo della PDF (impostato a zero poiché si simula un solo andamento, senza ripetizioni dell'*input*).

Per via euristica, sono stati scelti i valori dei parametri (*area*, *tMean*, *RD*, *skewn*) adatti ad ottenere la corretta simulazione della TCC di riferimento. Rispetto alle simulazioni fatte, sono stati individuati sia per l'aorta che per la porta dei *range*

caratteristici, di cui ne è stata calcolato il valor medio e la deviazione standard (std, ovvero lo scostamento rispetto alla media, ipotizzando un modello di distribuzione gaussiana dei dati). La **Tabella 1** riporta rispettivamente i valori minimo, massimo, e $\text{media} \pm \text{std}$ per i parametri di aorta, $t\text{Mean}$, RD , $skewn$ delle simulazioni di aorta e porta testate.

		MIN	MAX	MEAN± STD			MIN	MAX	MEAN± STD
AORTA	<i>area</i>	3100	6450	4965±1078	PORTA	1200	7300	3783±1576	
	<i>tMean</i>	17	35	21.6±5.3		23	64.8	42.9±12.5	
	<i>RD</i>	1.1	1.65	1.24±0.21		0.9	2.24	1.63±0.45	
	<i>skewn</i>	0.23	0.33	0.27±0.03		0.23	0.5	0.37±0.1	

Tabella 1 – Range dei parametri di *area*, *tMean*, *RD*, *skewn* usati in JSIM per impostare il generatore di funzioni, al fine di ottenere delle funzioni LAGN che simulassero gli andamenti reali delle TCC vascolari di aorta e porta. Si riportano i valori minimi, massimi, medi±deviazione standard.

Tendenzialmente, si osserva un’alta variabilità tra i dati, conseguente all’alta variabilità delle TCC reali di riferimento. Tuttavia, si può individuare una maggiore compattezza dei *range* di tutti i parametri, riferendosi alle simulazioni di aorta, rispetto a quelle della porta.

4.3 Parametrizzazione della IRF

Come spiegato nella Sez. 3.1, i parametri per mezzo dei quali si imposta la funzione di Weibull, sono due, ovvero scala (b) e forma (c). Il procedimento di parametrizzazione è stato dapprima condotto manualmente in un’ottica volta a comprenderne il significato e capire come scala e forma interagissero nella determinazione del comportamento della IRF (come illustrato in Sez. 3.1). Successivamente, una volta capita la modalità di interazione dei due parametri, ci si è orientati verso algoritmi che ne automatizzassero la scelta dei valori ottimi sulla base delle caratteristiche delle TCC reali.

I due metodi implementati operano in maniera consequenziale, nel senso che prima viene stabilito il parametro di forma, quindi si seleziona il migliore parametro di scala, sulla base del criterio di seguito esposto. L’ordine procedurale imposto deriva dalle evidenze dello studio teorico preliminare che, come descritto in Sez.

3.1, consentono di attribuire al parametro di forma una maggior peso nel determinare la tipologia della Weibull (simil-gaussiana o simil-esponenziale).

4.3.1 Calcolo automatico del parametro di forma

Il segnale che risulta essere informativo per l'implementazione del calcolo del parametro di forma è la TCC tessutale. Nello specifico, la forma, c , della Weibull è stata calcolata come rapporto tra l'istante di tempo, nel dominio t , in cui si verifica la massima derivata della TCC reale ed il valore assunto dalla TCC, nel punto corrispondente. La formulazione matematica della definizione è quella riportata nell'Eq.46, dove $c_T(t)$ rappresenta la TCC di tessuto e $c_T'(t)$ la sua derivata.

$$c = \frac{t|_{c_T'(t)=\max(c_T'(t))}}{c_T\left(t|_{c_T'(t)=\max(c_T'(t))}\right)} \quad (46)$$

Nello specifico, la formula è stata implementata in MATLAB secondo i criteri che seguono:

- A causa della rumorosità del segnale reale, si esegue il calcolo della derivata su un *fitting* del segnale $c_T(t)$, ottenuto mediante la *building-function* di MATLAB, *'fit'*. Questa consente di eseguire un *fitting* non parametrico, per il quale è stato scelto un modello *'smoothingspline'* con parametro 0.05. Generalmente il modello usato consente di impostare un parametro, *'SmoothingParam'* compreso nell'intervallo [0,1] per definire la bontà di approssimazione del *fitting*. Quindi, se il parametro è impostato ad 1, il *fitting* è forzato a passare per tutti i punti del segnale (cioè, si comporta come un'interpolazione), viceversa se pari a 0, l'interpolazione è blanda. Lavorando su dati reali, la scelta del parametro più adatto del modello *'smoothingspline'* può variare in conseguenza della rumorosità del segnale estratto. Quindi per segnali poco rumorosi si può adottare anche un valore lievemente più alto, ad esempio 0.1-0.3, rispetto a 0.05 generalmente usato. L'*output* della *function* *'fit'* è un MATLAB *object* del tipo *'cfit'*.
- La derivata è calcolata con la *building-function* *'differentiate'*, che esegue appositamente un'operazione di derivazione su oggetti *'cfit'*.

- Quando si considera il valore assunto dal segnale $c_T(t)$ in corrispondenza del punto a massima derivata (Eq.46), in realtà si considera il valore, nello stesso istante, del *fitting* eseguito (di cui sopra).

La **Figura 22** chiarisce con un grafico esemplificativo la formulazione dell'Eq.46 per il calcolo del parametro c . Si nota quindi l'andamento della TCC reale ed il *fitting* non parametrico (di cui sopra). È indicato il punto di massima derivata del *fitting* della curva, corrispondente ai valori di 30s in ascissa e 32.35HU in ordinata. Dall'applicazione dell'Eq.46, in questo caso, otterremmo un parametro $c = \frac{30}{32.35} = 0.93$, che implicherebbe, su una Weibull eventualmente parametrizzata in tal senso, un andamento simil-esponenziale.

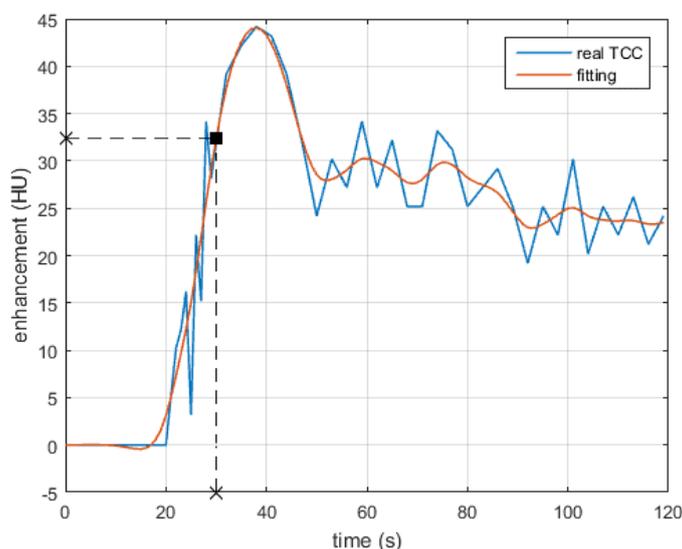


Figura 22 – Il grafico chiarisce la modalità di calcolo del parametro di forma secondo l'Eq.46. Sono riportate la TCC reale ed il suo *fitting* non parametrico, Quindi, il quadrato nero, evidenzia il punto a massima derivata del *fitting*, corrispondente a (30s, 32.35HU). Il rapporto dei due valori, nell'ordine, consente di stimare, in questo caso, $c = 0.93$

In accordo con il progetto dell'algoritmo “*simulation-based*”, il calcolo così implementato consente di avere una misura specifica per ogni TCC estratta dalla ROI epatica, quindi un dato che unitamente alla scala, consente di definire una Weibull *voxel-based*. A seconda delle caratteristiche dei segnali della ROI, si può ottenere una variabilità più o meno elevata dei parametri di forma. Quando infatti, nella ROI sono presenti TCC tessutali molto dissimili tra loro, anche i parametri di forma si spiegano in un *range* ampio. Viceversa, si può talvolta essere nella

condizione per cui lo stesso parametro di forma si adatta bene alla maggior parte dei segnali estratti, dipendentemente dal fatto che il fegato possa presentare caratteristiche più o meno omogenee tra zone adiacenti, nell'assorbimento del MdC.

Infine, il calcolo del fattore di forma secondo l'Eq.46 fornisce valori appartenenti allo stesso spazio delle soluzioni investigato quando, nella fase iniziale dello sviluppo del metodo *simulation-based*, si è parametrizzata la IRF manualmente, in un approccio *trial and error*.

4.3.2 Calcolo automatico del parametro di scala

Il calcolo del parametro di scala è stato implementato mediante un processo iterativo che seleziona il valore ottimo all'interno di un intervallo, a partire da uno *starting point (guess)* scelto dall'operatore. La scelta della condizione iniziale (C.I.) è del tipo *trial and error* ed è tuttavia fortemente influenzata dalla sensibilità acquisita dall'operatore rispetto ai dati ed al modello sviluppato. Dopo aver calcolato, per ognuna delle TCC reali, il corrispondente parametro c della Weibull, si procede con il calcolo di b (scala). L'algoritmo procede iterativamente secondo i seguenti passi:

- *step 1*: la funzione di *input* vascolare è convoluta con la Weibull parametrizzata secondo c specifico (valore riferito alla TCC in esame, uscente dall'algoritmo in Sez. 4.3.1) e b uguale alla C.I.
- *step 2*: viene calcolata la differenza, Δ , tra l'output della convoluzione (di cui allo step 0) ed il massimo valore della TCC reale. Se la differenza è positiva ($\Delta > 0$) significa che la curva di tessuto calcolata sovrastima in termini di ampiezza, la TCC reale. Viceversa, se la differenza è negativa, ($\Delta < 0$), significa che l'output calcolato ne è una sottostima.
- *step 3*: in base al valore di Δ , si sceglie se cercare il parametro di scala ottimo, in un intervallo di valori progressivamente maggiori o minori della C.I. Nello specifico, se $\Delta > 0$, si testano i valori del parametro b , con passo unitario, nell'intervallo: $[b_{init} + 1: b_{init} + 30]$, dove b_{init} indica la C.I. Ovvero, si cerca il b ottimo nei trenta valori più grandi, con passo unitario, in modo crescente. A tal proposito, si ritiene sufficiente la ricerca nei trenta

valori maggiori, in virtù di una C.I. opportunamente scelta dall'operatore. Se invece, $\Delta < 0$, si cercano i valori ottimi tra quelli minori di b_{init} nell'intervallo: $[b_{init} - 1: 10]$, procedendo con passo unitario in modo decrescente, fino a 10. A tal proposito, $b=10$ è scelto come limite inferiore tra i valori che la scala può assumere, poiché nell'impiego pratico pensato riguardo la Weibull (convoluzione per calcolo di curve tessutali fedeli a TCC reali), le misure minori di 10 non sono significative.

- *step 4*: si aggiorna il valore di b , con l' i -esimo valore dell'intervallo scelto.
- *step 5*: considerando il valore corrente all'interno dell'intervallo selezionato allo *step 3*, si realizza il funzionamento del simulatore: si calcola la funzione di Weibull, quindi la si convolve con gli *input*, si genera la curva di tessuto.
- *step 6*: si esegue il calcolo di cui allo *step 2* e si ricava il nuovo valore Δ_{new} .
- *step 7*: si valuta la condizione di terminazione, $|\Delta_{new}| > err$; se è soddisfatta l'algoritmo si arresta, poiché è stato trovato il parametro di scala che garantisce errore minimo, ovvero b_{ottimo} è il penultimo, cioè $(i-1)$ -esimo valore; oppure, se $i=1$ (prima iterazione), il valore ottimo è la C.I.
Se invece, non è soddisfatta, si pone $err = |\Delta_{new}|$ e si ritorna allo *step 4*, ripetendo i passi procedurali a seguire, considerando l'iterazione $i=i+1$.
Dato che gli intervalli in cui si cerca il valore ottimo contengono valori progressivamente crescenti o decrescenti (a seconda del caso), il fatto di aver trovato un minimo garantisce che questo sia globale e non locale.

Implementando in tal modo il calcolo automatico del parametro di scala, si ripropone il meccanismo di adattamento dello stesso a quello di forma, già evidenziato nello studio teorico preliminare condotto (Sez. 3.1). La **Figura 23** illustra il metodo implementato per il calcolo del parametro di scala, con un diagramma di flusso.

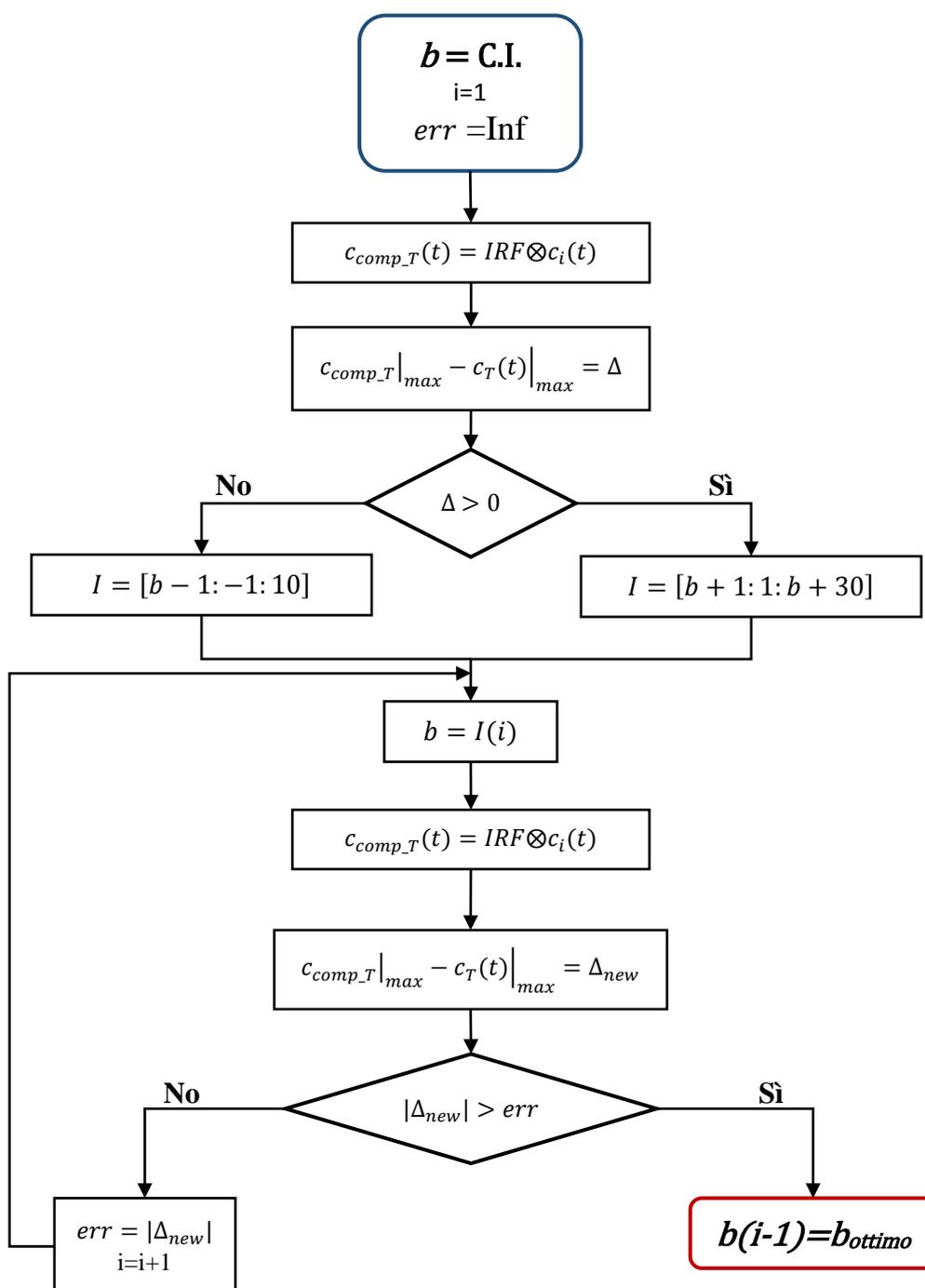


Figura 23 – Il diagramma di flusso chiarisce il metodo iterativo per il calcolo del parametro di scala della Weibull. A partire da una C.I. (dopo aver posto il parametro $err=Inf$, utile per la condizione di terminazione verificata in seguito), si parametrizza la Weibull e si calcola la curva di tessuto, c_{comp_T} . Quindi, si confronta il picco di c_{comp_T} con quello della TCC reale e si verifica la condizione $\Delta > 0$. A seconda del risultato, si sceglie uno dei due intervalli, quindi si esegue il calcolo di una nuova c_{comp_T} , confrontandola nuovamente con la TCC reale ed aggiornando il valore di Δ in Δ_{new} . A seconda del confronto tra Δ_{new} ed err , si può giungere alla terminazione dell'algoritmo o si ritorna ad uno dei passi precedenti, dopo aver aggiornato il contatore dell'iterazione.

4.4 Calcolo automatico dell'HPI e minimizzazione degli errori

Nel momento in cui il simulatore alla base del metodo proposto è stato convertito ad una versione *dual-input*, si è reso necessario inserire l'HPI come parametro aggiuntivo (oltre scala e forma della Weibull) poiché, come noto (Sez. 2.2.2.4), esso rappresenta il coefficiente della combinazione lineare tra gli *input* vascolari di aorta e porta.

Per individuare un algoritmo di calcolo automatico del parametro, si è dunque cercato, così come per i parametri di Weibull, di estrarre delle caratteristiche informative tra i dati reali. Secondo questa logica, si è giunti alla formulazione dell'Eq.47:

$$HPI = \frac{c_a(t)|_{max} + c_p(t)|_{max}}{c_T(t)|_{max}} \quad (47)$$

dove $c_T(t)$ è la TCC tessutale, $c_a(t)$ e $c_p(t)$ sono invece rispettivamente quelle di aorta e porta. Ci si riferisce, nello specifico, alle TCC dopo la procedura di correzione della *baseline* (Sez. 2.4). Dunque, l'HPI è stato stimato, in prima analisi, come rapporto tra somma di picco di aorta e picco di porta, e picco di tessuto.

In un secondo momento, dopo aver preliminarmente verificato che la formulazione dell'Eq.47 consentisse di ottenere, come *output* del simulatore, curve soddisfacenti sulla base di un controllo qualitativo visivo, si è pensato di implementare un algoritmo di minimizzazione degli errori. Questa scelta è stata fatta anche sulla base di un'evidenza fisio-metodologica che causa un certo grado di incertezza sulla misura a priori di questo dato. Ci si riferisce quindi, al concetto già anticipato nel corso della trattazione teorica in Sez. 3.2, per il quale comunemente, nei metodi analitici per la stima della perfusione epatica, l'HPI sia uno dei risultati, misurato dopo la stima del BF e la separazione del contributo del BF aortico da quello portale. Inoltre, applicando l'Eq.47 su un numero consistente di curve e casi reali, è stato possibile individuare dei casi di scarsa accuratezza dell'*output*, per i quali si è ipotizzato che la minimizzazione degli errori potesse essere migliorativa.

Questa fase dunque, è stata implementata utilizzando la *building-function* del software MATLAB, '*fmincon*', sfruttando l'algoritmo Interior Point, in essa incluso. Un algoritmo di minimizzazione degli errori presuppone l'individuazione

di: (1) una condizione iniziale (C.I.) e (2) di un intervallo di validità della soluzione, ovvero un limite inferiore ed uno superiore al valore che può assumere il parametro rispetto al quale si valuta la funzione costo dell'algoritmo.

Per quanto riguarda il primo punto si è adottato il valore numerico derivante dall'applicazione dell'Eq.47, mentre, in riferimento al secondo punto, si è scelto di cercare la soluzione in un *range* che rendesse valide due condizioni. Da un lato si è cercato di avere valori coerenti con quelli fisiologici, riportati in letteratura [25]; dall'altro, si è comunque tenuta in considerazione la bontà delle curve computate rispetto alle TCC tessutali reali. In virtù di ciò, sono stati scelti rispettivamente come limite superiore e inferiore, 0.20 e 0.08 (valori adimensionali), ovvero, il 20% e l'8%. Si deve notare, tuttavia, che impostando un intervallo di definizione della soluzione così specifico, si limita la possibilità di esplorare spazi delle soluzioni più estesi o semplicemente diversi. Comunque, la definizione dei limiti dell'intervallo è stata condotta anche sulla base dell'idea che l'analisi dei risultati degli *step* successivi, avrebbe potuto, in una logica retroattiva, consentire di ridefinirli sulla base di varie ed eventuali evidenze.

Inoltre, l'algoritmo è sensibile alla C.I. impostata; quindi, nell'ottica di un funzionamento *voxel-based* del simulatore, è stato ipotizzato di poter riscontrare una variabilità alta nella distribuzione spaziale dei valori di HPI (a seguito dell'algoritmo di minimizzazione degli errori), all'interno della ROI tessutale. Ciò, in virtù del fatto che è associata una C.I. diversa dell'algoritmo per ciascuna delle curve della ROI. In tal senso, si è valutato anche il caso in cui la minimizzazione degli errori avesse un'unica C.I. per tutte le curve della ROI.

4.5 Calcolo e correzione del *delay*

Come evidenziato nella Sez. 3.2, il metodo *simulation-based* include un algoritmo di quantificazione e correzione del *delay* che intercorre tra l'assorbimento del MdC nell'aorta e quello nel tessuto. Dal punto di vista matematico, questo ritardo fisiologico si può descrivere con la seguente condizione: la convoluzione della IRF parametrizzata (secondo i criteri di cui ai paragrafi precedenti) con la funzione che combina gli *input* vascolari, restituisce una curva di tessuto che anticipa la TCC tessutale estratta di un certo numero di secondi. Questo è dovuto al

fatto che, a monte, ovvero nella formulazione della Weibull, non sia stato incluso un termine che tenesse conto di questo fattore.

A livello implementativo si è scelto di attuare una correzione del *delay* rilevato, a posteriori, cioè sulla curva di tessuto computata, piuttosto che appesantire la formulazione della Weibull e soprattutto aggiungere un ulteriore parametro che si sarebbe dovuto stimare a priori rispetto all'operazione di convoluzione. Ciò, infatti, avrebbe introdotto un margine di incertezza a carico della stima, che è stato evitato.

Pertanto, il processo di quantificazione e correzione del *delay* si inserisce nel flusso procedurale (Sez. 3.2), subito dopo l'operazione di convoluzione. L'algoritmo implementato per questo scopo, inizialmente calcola il punto a massima derivata della salita della curva di tessuto computata (*output* della convoluzione), quindi valuta il valore assunto dalla curva stessa in corrispondenza di esso. Successivamente, viene cercato nella TCC reale (nello specifico, nella fase di salita) il valore più prossimo, in senso assoluto, a quello assunto dalla curva computata nel suo punto di massima derivata (calcolato in precedenza). La differenza tra gli istanti di tempo in cui questi due valori occorrono, quantifica lo *shift* temporale tra le due curve. Infine, la curva computata è traslata sull'asse temporale, di un numero di secondi pari a quelli del ritardo, allineandola così alla TCC reale.

I singoli passi implementativi, sono stati realizzati secondo le seguenti specifiche:

- Il calcolo del punto a massima derivata della curva computata è calcolato facendo uso di una derivata analitica, ricorrendo all'approssimazione numerica alle differenze finite centrate, utilizzando una finestra di spostamento di ± 2 campioni rispetto a quello centrale, n . La finestra di spostamento è ridotta all'intervallo $[n-1, n+1]$ per il secondo e penultimo campione dell'intera sequenza su cui viene calcolata la derivata e si trascura il calcolo della stessa negli estremi della porzione di segnale scelta, poiché questi sono scelti in modo da garantire che includano interamente il punto a massima derivata del segnale.
- Quando si ricerca, nella TCC reale, il valore più vicino (in modulo) a quello ricavato dalla curva computata in corrispondenza della derivata massima, lo si fa effettivamente su un *fitting* non parametrico del segnale reale,

realizzato con la funzione *'fit'* (di cui alla Sez. 4.3.1), utilizzando, un modello *'smoothingspline'*, con parametro di *smoothing* pari a 0.5, quindi rendendolo molto simile al segnale reale. La scelta è giustificata dalla riduzione, benchè minima, dell'influenza negativa delle componenti di rumore della TCC reale, sulla ricerca del valore. Inoltre, il *fitting* consente di inserire anche un'interpolazione del segnale reale, poiché viene valutato su un intervallo [0,120)s con passo unitario, a differenza dell'intervallo di campionamento dei dati reali, che generalmente ha passo unitario solo per i primi 60s. Ciò migliora la ricerca del valore desiderato nella TCC reale perché vengono valutati un maggior numero di campioni.

La **Figura 24** permette di valutare il disallineamento tra i due segnali subito dopo l'operazione di convoluzione e spiega graficamente, il calcolo del *delay* implementato. Cioè la ricerca del valore desiderato, nella TCC reale e l'individuazione dell'istante temporale corrispondente.

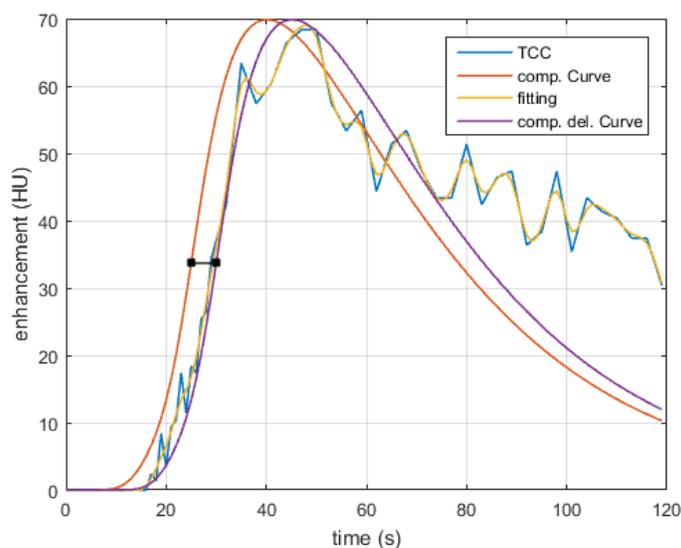


Figura 24 – Il grafico chiarisce la modalità di calcolo del *delay*, e conseguente allineamento della curva calcolata, alla TCC reale. È evidenziato il punto a massima derivata della curva calcolata e la sua trasposizione sul *fitting* della TCC reale, per calcolarne lo *shift* temporale che ne quantifica il *delay*. Quindi, il ritardo viene corretto, traslando la curva.

4.6 Ricostruzione del segnale di milza

La ricostruzione del segnale di milza ha richiesto una procedura differente, rispetto alla comune modalità di estrazione delle TCC, a causa della forte rumorosità a carico di questo segnale, che ne rendeva difficile la lettura, in riferimento all'informazione d'interesse che si voleva ricercare, ovvero l'istante di tempo di occorrenza del valore massimo. Pertanto, in virtù di ciò, si è cercato di acquisire un'informazione volumetrica proveniente da più *slice* adiacenti, scelte tra quelle in cui la milza fosse visibile. È stata apposta la stessa ROI su più *slice* e sono state estratte, per ciascuna di esse, tutte le TCC *voxel-based*.

Per ognuno dei secondi dell'intervallo temporale delle acquisizioni, è stato costruito un istogramma di tutti i valori dei *voxel* di ciascuna delle ROI. Quindi, dagli istogrammi graficati, è stato calcolato il valore medio ed il valore mediano, avendo cura di trascurare i valori negativi presenti, evidentemente non verosimili dal punto di vista fisiologico ed associati ad una componente d'errore. La sequenza, nell'ordine temporale, dei valori medi e mediani di ogni istogramma ha permesso di ricostruire due segnali di milza, sebbene ci si aspettasse che le due misure non differissero di molto, visto il grande quantitativo di dati su cui sono state stimate.

La procedura ha permesso di ridurre notevolmente il rumore a carico di questa informazione e di poter individuare distintamente il valore di picco e il relativo istante di occorrenza. Per il fatto che il dato informativo sia l'istante del picco, non è stata applicata al segnale, la correzione della *baseline*. La **Figura 25** mostra uno dei segnali di milza estratti, in cui si nota che il segnale medio e quello mediano estratto sono corrispondenti. In questo caso, il picco si verifica nell'istante temporale corrispondente a 27s.

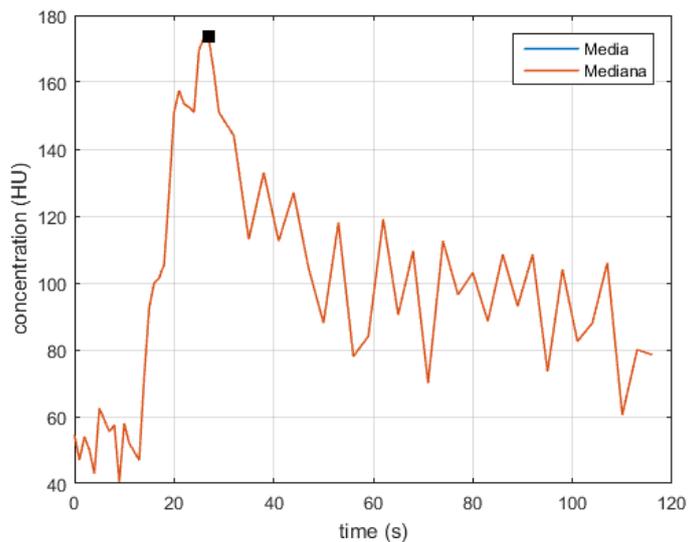


Figura 25 – Il grafico illustra un segnale di milza ricostruito a partire dall'informazione volumetrica di più *slice* adiacenti. Ciascun valore del segnale, per ogni secondo, è dato da media (e mediana) dell'istogramma che contiene tutti i valori della ROI di milza, per tutte le *slice* considerate. Come si può vedere, i due segnali sono perfettamente sovrapposti.

Capitolo 5

RISULTATI

In questo capitolo si espongono i risultati ottenuti testando il metodo *simulation-based* su dieci pazienti. Pertanto, dopo aver descritto la provenienza dei dati ed il relativo *pre-processing* necessario, si verifica la coerenza delle scelte metodologiche confrontando le misure di perfusione ottenute a valle dell'analisi con il metodo sviluppato, con quelle ricavate dal MS. In seguito, si effettua l'analisi dei residui tra le TCC reali e quelle calcolate. Infine, si conduce una valutazione quantitativa dei parametri perfusionali ottenuti, al fine di individuare gruppi di casi anomali, che consentano di individuare, almeno in via preliminare, la predittività di alcuni indici in merito allo sviluppo di metastasi in pazienti con fegato sano.

5.1 Dataset di esami TCp

L'algoritmo *simulation-based* (Sez. 3, 4) è stato implementato e testato sulla base di dati reali, nello specifico esami TCp. Questi afferiscono al *dataset* raccolto

nel corso dell'arruolamento dei pazienti al progetto PIXEL, di seguito descritto (Sez. 5.1.1).

Dalle sequenze di scansioni TCp vengono quindi estratti i segnali che descrivono l'assorbimento del MdC nelle varie sedi d'interesse, previa pre-elaborazione delle immagini (Sez. 5.1.2).

5.1.1 Progetto PIXEL

Il progetto PIXEL (*Perfusion IndeX: Evaluation for Liver metastases*), finanziato dall'assistenza ospedaliera pubblica francese (*Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, APHP, Centre hospitalier universitaire d'Île-De-France*), si basa sulla valutazione del valore prognostico dell'HPI, prima di qualsiasi trattamento terapeutico, circa la comparsa di metastasi epatiche, su dati di *imaging* funzionale di pazienti con cancro primario al colon-retto, inizialmente non metastatico. La coordinatrice del Progetto è la Prof.ssa Valérie Vilgrain, direttrice del Dipartimento di Radiologia dell'Ospedale Accademico Beaujon (Clichy, France) afferente all'Università Paris VII "D. Diderot".

Il protocollo d'acquisizione di TCp prevede:

1. Una prima scansione elicoidale basale, precedente all'iniezione del MdC.
2. L'esecuzione del protocollo perfusionale, riassunto di seguito nei principali requisiti:
 - Respirazione addominale del paziente per tutta la durata dell'indagine
 - Iniezione di un bolo di 40ml di MdC iodato, a 350mgI/ml, alla velocità di 5ml/s, con successivo risciacquo mediante 20ml di soluzione salina
 - *Focus* dell'acquisizione sul volume di tessuto epatico
 - Sincronizzazione tra la velocità di iniezione del bolo e l'acquisizione delle immagini
 - Acquisizione di immagini ad 80kV, 100mA, tempo di rotazione 1s e 100mAs. Entro i primi 30 secondi frequenza di acquisizione di 1

immagine per secondo. Oltre i primi 30 secondi ed entro i primi due minuti: 1 immagine ogni 3 secondi

Lo studio ha visto l'arruolamento nel complesso di circa 400 pazienti dislocati in 15 Centri francesi, in un periodo di inclusione pari ad un anno. Si tratta quindi, del più grande studio multicentrico Europeo di esami di TCp.

All'obiettivo primario dello studio PIXEL, ovvero l'individuazione di indici prognostici dello sviluppo di metastasi epatiche, si sono affiancati, altresì, obiettivi secondari: (1) la determinazione di una soglia per l'HPI per la classificazione dei pazienti che fino a tre anni dalla comparsa del tumore primario al colon, sviluppano o meno metastasi epatiche, (2) la valutazione dell'eventuale carattere informativo di altre misure di perfusione e l'analisi della variabilità inter-operatore tra le stime effettuate.

Dai dati a disposizione, sono stati scelti preliminarmente dieci pazienti da un unico Centro, senza che mi venisse comunicato se e quanti di questi pazienti avessero sviluppato metastasi.

Gli esami sono stati acquisiti con uno scanner GE Medical System Lightspeed VCT a 64 rivelatori, con immagini 512×512 corrispondenti a *slice* di 5mm, 8 *slice* per volume, spaziate di 5 millimetri, e *pixel* quadrato con lato di 0.488mm.

Sugli esami di questi pazienti è stato eseguito l'intero flusso procedurale previsto dall'algoritmo *simulation-based* (Sez. 3, 4).

5.1.2 *Pre-processing* dei dati

L'estrazione delle TCC degli *input* vascolari e tessutali dalle scansioni TC, è stata effettuata mediante un'interfaccia grafica già sviluppata e a disposizione del Computer Vision Group. Nello specifico, vi è una prima fase di *pre-processing* che consiste in un filtraggio delle immagini, al fine di ridurre l'impatto della discretizzazione, e del rumore acquisito durante la scansione, sull'accuratezza dei risultati [14]. A questo scopo, viene applicato un filtro mediano con finestra 5×5 .

Come già menzionato in Sez. 2.1, l'analisi della perfusione epatica secondo un modello a *dual-input* necessita dell'estrazione della TCC della vena porta, a carico della quale potrebbe esservi una componente di rumore maggiore, rispetto a quella arteriosa, per il fatto che questa non è sempre individuabile nelle scansioni d'immagini acquisite.

Tipicamente infatti, si appone la ROI su una delle *slice* dell'intero volume e la si mantiene fissa nel corso dell'intervallo di campionamento, al fine di ricostruire il segnale estraendo l'informazione sempre dalla stessa fetta di volume. Contrariamente a ciò, in molti casi, per l'estrazione della TCC portale si è dovuto effettuare un processo di allineamento, secondo due modalità: (1) la traslazione rigida della ROI sull'immagine per ogni *frame*, per individuare la porzione in cui fosse visibile chiaramente il vaso contrastato, (2) la trasposizione della ROI tra *slice* adiacenti a quella selezionata per il *frame* iniziale, qualora la porta non fosse visibile sempre a livello della stessa fetta. A tal proposito, quando i casi lo richiedono, è consentito scegliere una qualsiasi delle *slice* acquisite dall'intero volume, nello stesso *frame*.

La **Figura 26** permette di valutare il risultato sul segnale del *processing* di allineamento della ROI di porta. L'effetto migliorativo è notevole.

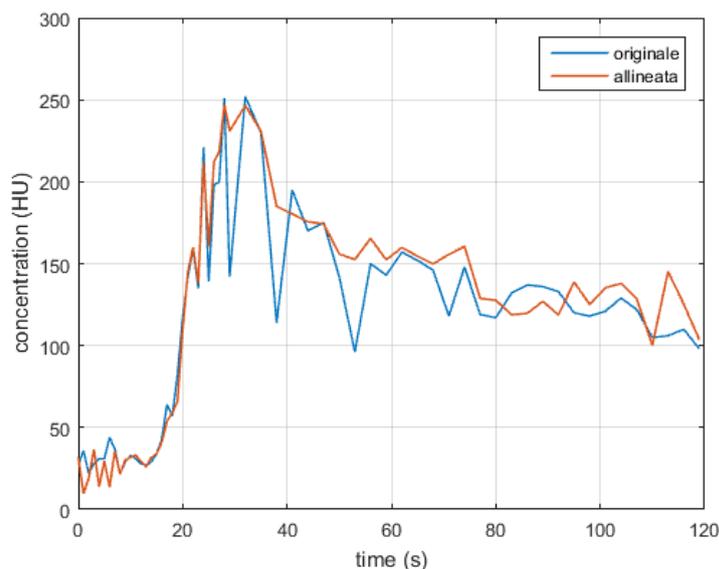


Figura 26 – Il grafico consente di valutare l'effetto dell'allineamento della ROI di porta sulle immagini per migliorare la qualità del segnale ricostruito.

5.2 Scatter plot di BF e HPI: correlazione lineare

Come già riportato, secondo l'approccio metodologico presentato nelle sezioni precedenti, i parametri di perfusione estratti dalle curve calcolate per mezzo del simulatore, sono stati confrontati con quelli ottenuti applicando il metodo del MS,

nella sua versione a *dual-input*. Il confronto si è concretizzato essenzialmente tramite *scatter plot* in cui si potesse, anche visivamente, ricercare una correlazione tra i valori dei parametri di perfusione dei *voxel* della ROI, estratti con l'uno e con l'altro metodo. Nello specifico sono state confrontate le stime di BF, BV, HPI, poiché come spiegato in Sez. 4.1, la misura dell'MTT è esattamente la stessa per entrambi i metodi. L'esistenza di una correlazione ci consente di verificare che tra i metodi possa esservi al più un errore sistematico e non un errore casuale.

Di seguito sono riportati, dalla **Figura 27a** alla **Figura 36a** (seguendo l'ordine per colonna), gli *scatter plot* del BF, nell'ordine per i pazienti 7, 39, 44, 53, 56, 60, 62, 66, 79, 87; entrambi i valori riportati in ascissa e in ordinata sono misurati in $[ml \cdot (min \cdot 100g)^{-1}]$. Le misure in ascissa sono ottenute da MS, quelle in ordinata dall'algorithmo *simulation-based*.

Parallelamente, dalla **Figura 27b** alla **Figura 36b**, sono riportati gli *scatter plot* dell'HPI. Entrambi i valori, in ascissa e ordinata, sono espressi in percentuale. In ascissa, vi sono le misure ottenute da MS, in ordinata quelle del metodo proposto. Quindi, i grafici ordinati per riga si riferiscono allo stesso paziente, quelli ordinati per colonna allo stesso parametro perfusionale.

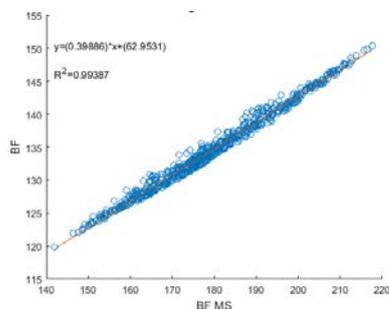


Figura 27a - 7

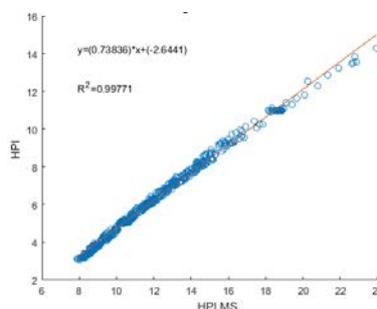


Figura 27b - 7

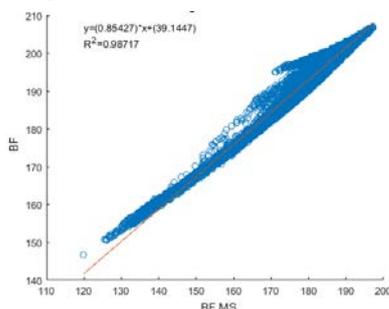


Figura 28a - 39

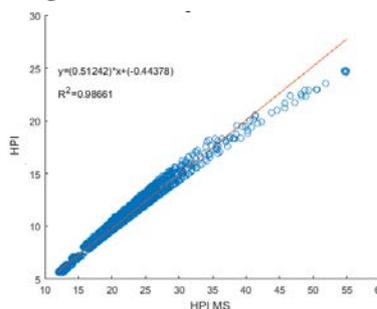


Figura 28b - 39

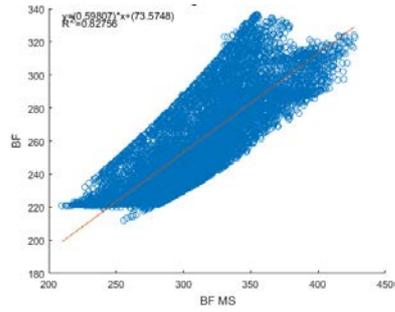


Figura 29a - 44

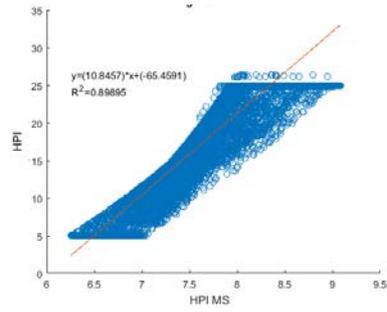


Figura 29b - 44

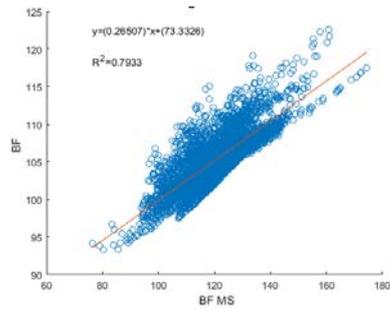


Figura 30a - 53

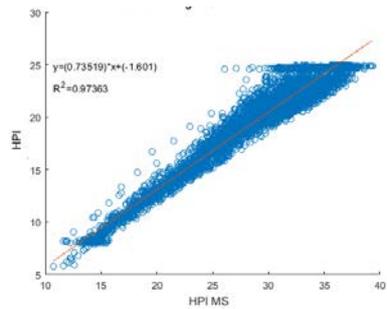


Figura 30b - 53

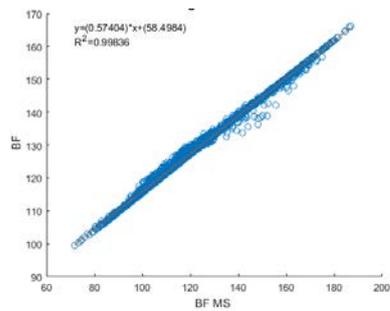


Figura 31a - 56

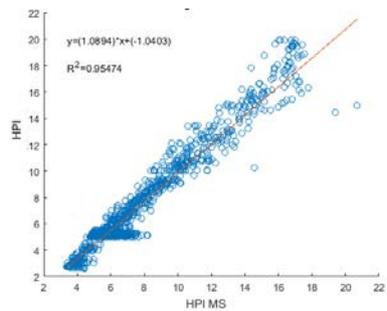


Figura 31b - 56

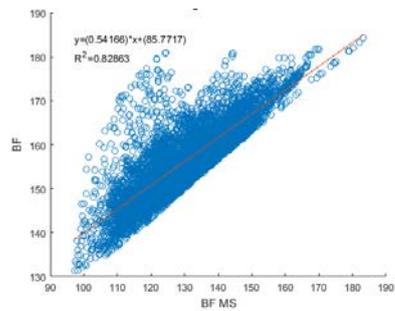


Figura 32a - 60

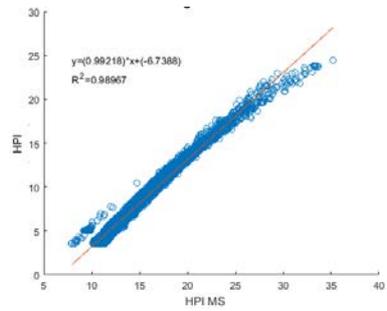


Figura 32b - 60

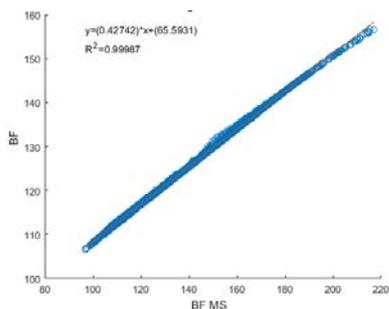


Figura 33a - 62

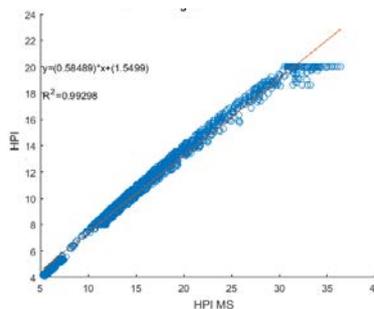


Figura 33b - 62

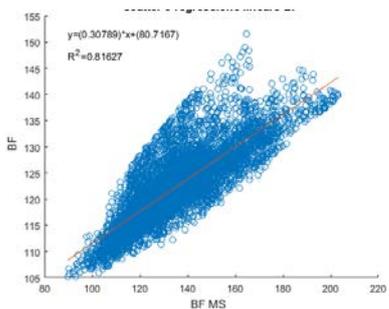


Figura 34a - 66

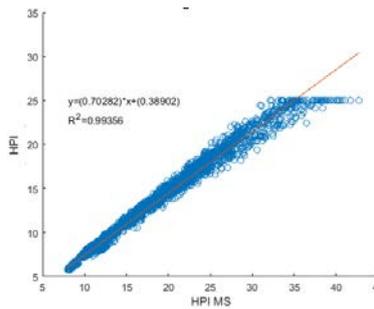


Figura 34b - 66

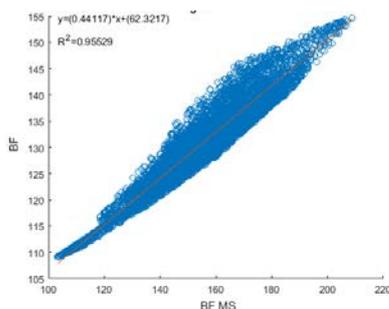


Figura 35a - 79

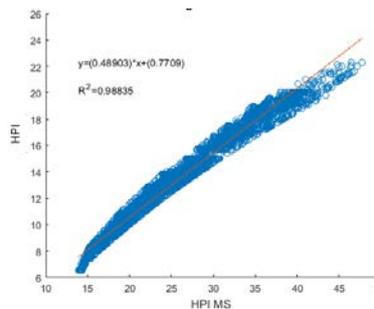


Figura 35b - 79

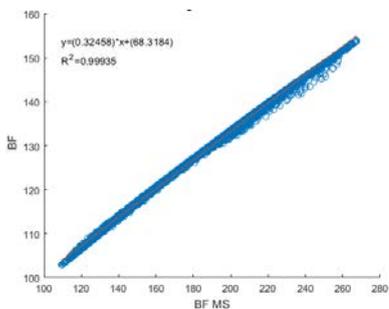


Figura 36a - 87

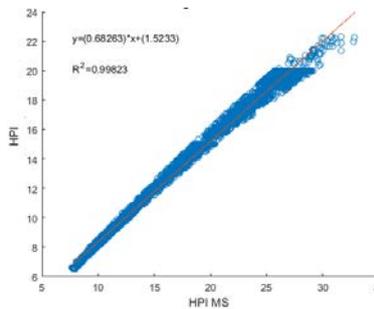


Figura 36b - 87

Figure 27a÷36a – Scatter plot tra il BF calcolato dalle curve calcolate con il metodo *simulation-based* (valori riportati in ordinata) ed il BF estratto con il metodo MS (valori riportati in ascissa). Sono graficate, inoltre, le rette di regressione lineare tra i dati. Nell'ordine i dati riguardano i pazienti 7, 39, 44, 53, 56, 60, 62, 66, 79, 87.

Figure 27b÷36b – Scatter plot tra l'HPI calcolato dalle curve calcolate con il metodo *simulation-based* (valori riportati in ordinata) e l'HPI estratto con il metodo MS (valori riportati in ascissa). Sono graficate, inoltre, le rette di regressione lineare tra i dati. Nell'ordine i dati riguardano i pazienti 7, 39, 44, 53, 56, 60, 62, 66, 79, 87.

Come si può vedere dagli *scatter plot* di BF ed HPI, alcuni evidenziano un'ottima correlazione lineare. Altri, invece, soprattutto per BF hanno uno spettro molto ampio e, seppure si possa intravedere una correlazione lineare, la varianza è effettivamente troppo alta. Comunque, per tutti dati è stata calcolata la retta di regressione. Dall'analisi emerge quindi che il coefficiente R^2 , ovvero il quadrato del coefficiente di correlazione, che quantifica la bontà della regressione stessa, assume, per il BF, valori compresi nell'intervallo [0.7933, 0.9999], con valor medio \pm std pari a 0.9200 ± 0.0905 . Nei relativi grafici si nota, infatti, come in qualche caso (ad esempio per i pazienti 44, 53, 60, 66) la dispersione dello *scatter plot* sia maggiore, con valori di $R^2 < 0,85$.

Le pendenze delle rette di regressione per il BF, assumono valori compresi nell'intervallo [0.26, 0.85], con valor medio \pm std pari a 0.47 ± 0.17 , mentre le intercette, tutte positive, si localizzano nell'intervallo [39, 85], con media \pm std di 66.50 ± 12.83 . Da ciò si evincono due condizioni: (1) la pendenza è sempre inferiore all'unità e (2) l'intercetta, che consente di quantificare un errore sistematico, è sempre positiva. Il fattore (1) è indice del fatto che i valori di BF con MS si distribuiscano in un *range* più ampio rispetto a quelli ottenuti con il metodo proposto. Questo, porterebbe a pensare che il MS sovrastimi sempre le misure, ma, in realtà, la coesistenza della condizione (2), ovvero intercette sempre positive, indica che per valori bassi, i dati ottenuti con MS sottostimino quelli dell'altro metodo, viceversa per valori alti, tendano a sovrastimarli. A valle di questa evidenza, possono essere avanzate alcune ipotesi. Dal punto di vista matematico-numerico, emerge che l'algoritmo *simulation-based* tende a limitare l'eterogeneità delle misure tra tutte le curve della ROI (comprimendo i *range*), dall'altra il MS risulta molto sensibile alle variazioni tra le curve, amplificando talvolta una variabilità che potrebbe anche non essere associata ad un'informazione clinica rilevante. Dal punto di vista più clinico invece, si potrebbe pensare che l'uno o l'altro metodo siano maggiormente appropriati a rappresentare condizioni fisiologiche differenti. Ovvero, se si ipotizza che bassi e alti valori di BF siano dovuti, a monte, a caratteristiche locali del tessuto differenti, allora si potrebbero rilevare le condizioni per cui l'applicazione di un metodo sia più efficiente dell'altra, in relazione alle proprietà del tessuto e quindi alle caratteristiche delle TCC estratte.

Per quanto concerne i *plot* dell'HPI, si nota come la scelta dei limiti inferiore e superiore dell'algoritmo di minimizzazione degli errori, implementato rispetto a tale parametro (Sez. 4.4), in taluni casi vincoli la distribuzione dei dati nel *plot*, presentando un fenomeno simile ad una saturazione sugli estremi (ad esempio, per i pazienti 44, 53, 62, 66). A tal proposito, la valutazione preliminare degli *scatter plot*, in fase di sviluppo, ha permesso di rilassare i vincoli dell'algoritmo di minimizzazione, fintanto che fosse comunque garantita la bontà delle curve calcolate rispetto alle TCC reali, e quindi, che l'analisi dei residui (riportata nella successiva Sez. 5.5), condotta parallelamente, mantenesse errori bassi.

Per l'HPI, il coefficiente di determinazione, R^2 , appartiene all'intervallo [0.8990, 0.9982], con valor medio \pm std pari a 0.9774 ± 0.0305 . Guardando i valori di pendenza e intercetta delle rette di regressione, si individuano tuttavia *trend* differenti: (1) il valore del coefficiente angolare, m , è sempre positivo ma in un caso è sensibilmente maggiore dell'unità (paziente 44, coefficiente $m=10.84$) mentre, in altri due casi è molto prossimo all'unità (paziente 56, $m=1.08$ e paziente 60, $m=0.99$), (2) i valori delle intercette sono talvolta negativi (pazienti 7, 39, 44, 53, 56, 60), talvolta positivi (62, 66, 79, 87). Per tutti i pazienti, escluso il 44, il *range* di m è compreso nell'intervallo [0.48, 1.08] con valor medio \pm std pari a 0.72 ± 0.20 . Per l'intercetta invece, l'intervallo di valori positivi è [0.38, 1.55], con media \pm std di 1.05 ± 0.58 , l'intervallo di valori negativi (escludendo il paziente 44) è [-6.7, -0.44] con media \pm std di -2.48 ± 2.49 . La regressione dei dati nel paziente 44, evidenzia un *offset* all'origine di -65, consistentemente più alto, in valore assoluto, degli altri.

Rispetto al caso del BF, l'errore sistematico tra i due metodi, nel calcolo dell'HPI, è molto basso. Ed il fatto che le pendenze siano al più pari all'unità, tranne in un caso, evidenzia, anche per l'HPI, una maggiore distribuzione dei valori ottenuti con MS, in un intervallo più ampio. Il fatto di registrare, nel più dei casi (per 6 pazienti, con intercetta negativa) una sovrastima del MS rispetto all'algoritmo *simulation-based*, è una conseguenza dei vincoli imposti nell'implementazione della minimizzazione degli errori, basata sull'HPI. In quella fase, infatti, come descritto in Sez. 4.4, la scelta del *range* [8, 20]% (con successivo riadattamento in alcuni casi) influenza il risultato. Questo, potrebbe evidenziare il fatto che il metodo *simulation-based*, al momento non sia il più adatto per l'interpretazione clinica del parametro perfusionale HPI.

La presenza di alcuni *scatter plot* non ideali, quale ad esempio quelli del paziente 44, permette di orientare l'attenzione, in fase di analisi dei risultati su alcuni casi che mostrano andamenti particolari o anomali. I dati che sono presentati in questa prima fase sono comunque ritenuti consistenti dal punto di vista dell'approccio metodologico e per quanto concerne le eventuali non idealità, si è cercata conferma o ragione, con il proseguimento dell'analisi statistica dei risultati (di seguito discussa).

5.3 Implicazioni dell'approccio metodologico sui risultati

Rispetto agli *scatter plot* del BF ed HPI, presentati in Sez. 5.2, possono essere condotte delle valutazioni che ricerchino una coerenza tra i risultati ottenuti e le condizioni analitiche e metodologiche da cui derivano. Nello specifico possono essere affrontate due questioni:

- Come atteso, la variabilità intra-ROI, del parametro di forma della IRF, calcolato per mezzo dell'algoritmo automatico implementato, incide sulla variabilità dei risultati, in particolare delle misure di BF. Negli *scatter plot* del BF infatti, le correlazioni migliori si notano nei pazienti 56, 62, 87, per i quali le seguenti **Figure 37a,b,c** mostrano chiaramente come la distribuzione spaziale del fattore di forma della IRF sia scarsamente variegata. Si visualizzano quindi le mappe colorimetriche in cui, nella ROI selezionata, è riportata la distribuzione di tali valori. Il fatto di avere un parametro di forma simile tra le IRF *voxel-based* della ROI è indice di due fattori: (1) dal punto di vista fisiologico significa che le TCC reali di quella ROI sono molto simili le une alle altre e quindi che in quella sede il tessuto epatico è molto omogeneo, (2) dal punto di vista matematico, significa che le curve calcolate sono tutte più simili, l'una all'altra e quindi, questo "facilita" il fatto che i punti di MS (aortico e portale) tra curve calcolate riferite a TCC diverse, siano localizzati sempre nell'intorno di istanti corrispondenti, consentendo quindi di ottenere misure di BF simili tra curve diverse e sempre ugualmente proporzionali a quelle ottenute con il metodo proposto. Il MS è infatti, fortemente sensibile, al calcolo del punto a massima derivata. Quindi se questi punti sono localizzati per tutta la ROI,

quasi nello stesso istante di tempo, le misure di BF ottenute sono conseguentemente poco disperse.

Le **Figure 38a,b,c,d,e,f** consentono invece di osservare la variabilità intra-ROI del fattore di forma della IRF in cui si è individuata una delle possibili cause dell'apertura in larghezza degli *scatter plot* di BF dei pazienti 7, 39, 44, 53, 60, 66, 79. Questa, al tempo stesso, può essere rappresentativa, in alcuni casi, della maggiore eterogeneità del tessuto tumorale, cui generalmente è associata una prognosi peggiore.

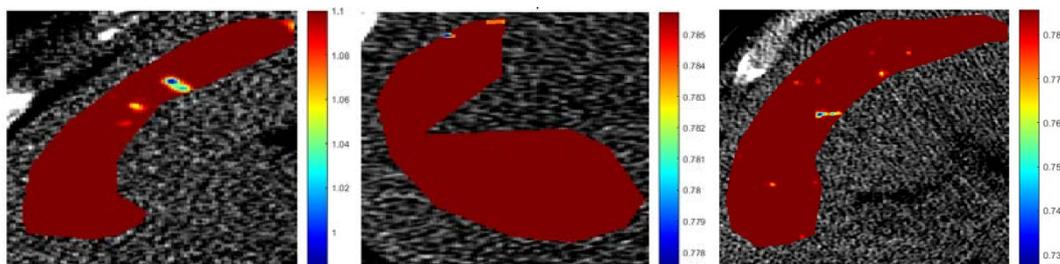


Figura 37a - 56

Figura 37b - 62

Figura 37c - 87

Figure 37a,b,c – Distribuzione spaziale intra-ROI del fattore di forma della IRF. Si nota come per i pazienti 56, 62, 87 questa sia molto omogenea e a ciò corrispondono gli *scatter plot* di BF migliori (nelle **Figure 31a, 33a, 36a**)

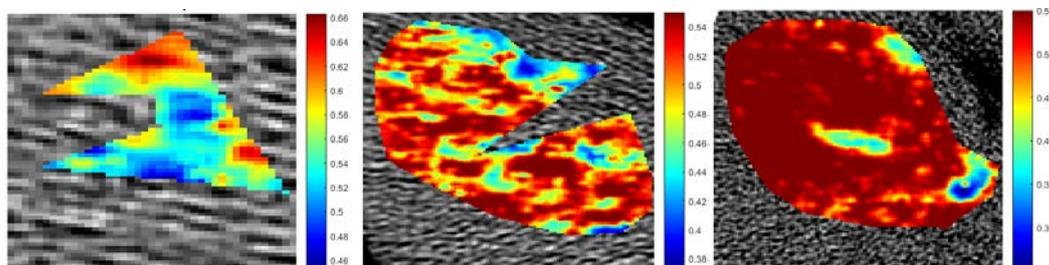


Figura 38a - 7

Figura 38b - 39

Figura 38c - 44

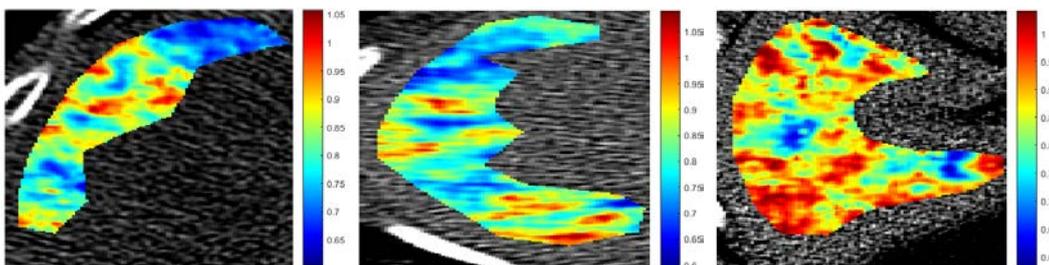


Figura 38c - 53

Figura 38d - 60

Figura 38e - 66

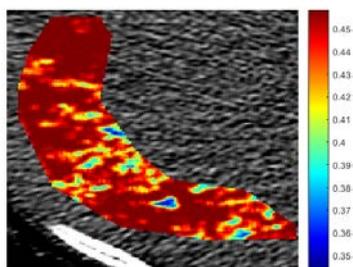


Figura 38f - 79

Figure 38a,b,c,d,e,f – Distribuzione spaziale intra-ROI del fattore di forma della IRF. Si nota come per i pazienti 7, 39, 44, 53, 60, 66, 79 questa sia molto variegata e a ciò corrispondono gli *scatter plot* di BF più dispersi (nelle **Figure 27a, 28a, 29a, 30a, 32a, 34a, 35a**)

- Come anticipato in Sez. 4.4, l'algoritmo di minimizzazione dell'HPI è influenzato dalla C.I. Ciò si traduce nel fatto che la scelta di una C.I. uguale per tutte le curve della ROI, orienta l'algoritmo, in riferimento ad ogni TCC *voxel-based* verso la stessa direzione. Pertanto, si riscontra lo stesso effetto, osservato per la relazione fattore di forma-*scatter* BF, descritto al punto precedente. In questo caso, la scelta di una C.I. uguale per tutta la ROI di ciascun paziente consente di migliorare gli *scatter plot* ottenuti. Per il fatto che ciò non mostri delle problematiche o incoerenze dal punto di vista concettuale, si è scelto, dopo una valutazione preliminare dei dati (*scatter plot* e analisi dei residui, di seguito presentata), sempre in accordo con quella logica retroattiva propria dell'approccio metodologico usato, di adottare una C.I. uguale per le singole ROI.
- Infine, per quanto concerne la separazione del contributo aortico e portale, sia per il BF che per l'HPI da MS, non si è registrata una variazione significativa negli *scatter plot* quando, come indice separatore, il picco di milza è stato approssimato con l'intersezione tra la TCC dell'aorta e quella della porta. Quindi, tale approssimazione, sembra non inficiare i risultati, anche se non vi sono al momento riscontri in letteratura.

5.4 Analisi del confronto tra BV

Sulla base della disponibilità dell'esatto valore di MTT, derivante dal calcolo della IrF (a sua volta derivante da IRF, Sez. 4.1), si è scelto di considerare la stessa

misura anche per il MS, e ricavare il BV, anche per il metodo MS, applicando il TVC (Sez. 2.2.4.1). Analogamente a quanto fatto per i parametri BF ed HPI, si è ricercata una correlazione tra i due metodi circa il BV, pur non aspettandosi che ci dovesse essere necessariamente. Infatti, innanzitutto, confrontare due misure ricavate in maniera indiretta (BV da MS e da curve calcolate), comporta una maggiore incertezza, a causa di una probabile propagazione di errori, associata in questo caso eventualmente alla stima del BF; in secondo luogo, il metodo scelto come confronto, ovvero il MS, definisce essenzialmente una modalità di calcolo per il BF e l'HPI. Per quanto riguarda il BV, infatti, il MS si basa sulle assunzioni di altri metodi, che teoricamente sono basati su ipotesi non in contrasto, ma nella pratica possono trascurare dei fattori “nascosti” che emergono dai risultati, e che quindi vanno indagati. Ancor più, se si lavora su un modello *dual-input*, in cui le relazioni intrinseche possono avere effetti sulla variabilità dei risultati.

Tuttavia, sono stati comunque calcolati gli *scatter plot* del parametro, sovrapponendovi l'approssimazione dei dati con un modello del secondo ordine per otto casi su dieci, allo scopo, in virtù delle ragioni sopra descritte, di alleggerire il vincolo di una regressione lineare. In due casi, invece, si è mantenuto, dopo una valutazione preliminare dei *plot*, un modello lineare. Pertanto, dalla **Figura 39** alla **Figura 48** sono riportati i grafici per tutti i pazienti sopra menzionati (Sez. 5.2). In ascissa vi sono i valori corrispondenti alle stime da MS, in ordinata quelli estratti con il metodo proposto. Su entrambi gli assi le misure sono riportate in [ml/100g].

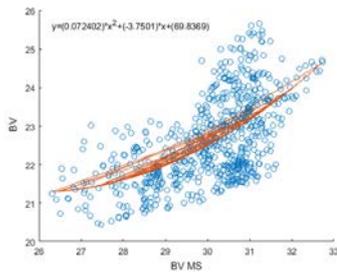


Figura 39 - 7

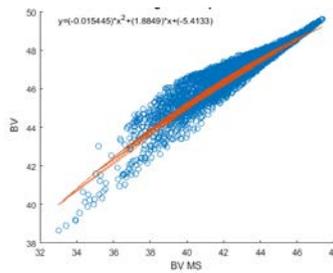


Figura 40 - 39

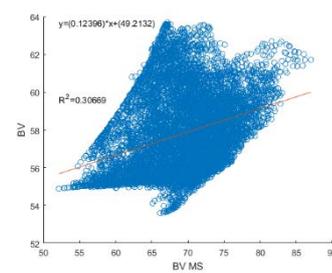


Figura 41 - 44

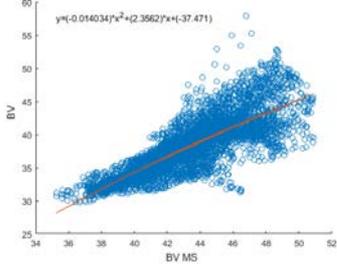


Figura 42 - 53

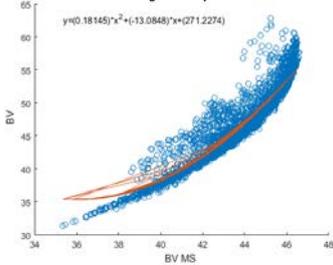


Figura 43 - 56

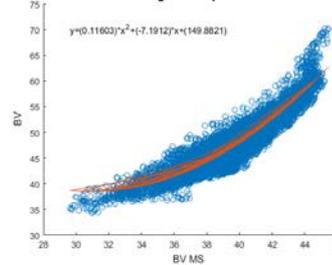


Figura 44 - 60

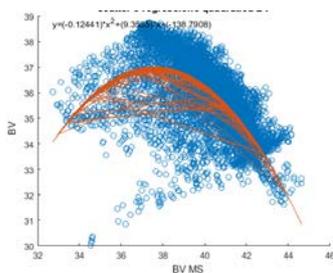


Figura 45 - 62

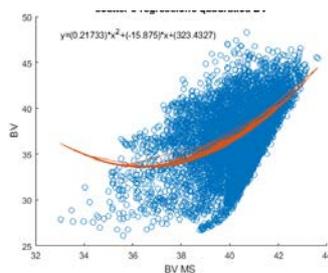


Figura 46 - 66

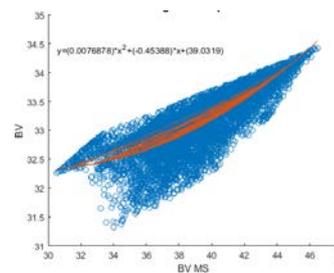


Figura 47 - 79

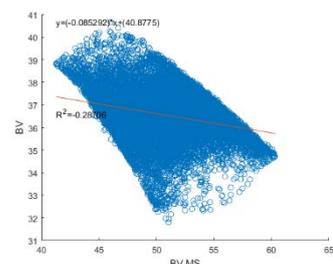


Figura 48 - 87

Figure 39-48 – *Scatter plot* di confronto tra il BV estratto con l’algoritmo *simulation-based* ed il metodo MS. Non si nota la presenza di una correlazione numerica tra le misure calcolate.

Di fatto dunque, si osserva una mancanza di correlazione numerica tra le misure di BV secondo i due distinti metodi, sebbene in taluni casi, alcuni andamenti (ad esempio 39, 60) potrebbero far pensare all’esistenza di una relazione al secondo ordine. Anche nei casi in cui si è adottato un modello lineare (per i pazienti 44 e 87), il coefficiente R^2 è risultato molto basso (rispettivamente 0.3 e -0.28).

Pertanto, per il futuro si avanza l’idea di scomporre il problema, ritornando ad un approccio *single-input*, per separare i contributi del BV tra aorta e porta, e ricomponendo i singoli elementi in una fase successiva. Questo potrebbe portare alla luce relazioni o implicazioni metodologiche di cui non si è tenuto conto in questa fase, considerato anche che la misura del BV, in quasi tutti i metodi è ricavata indirettamente e quindi questo ne aumenta il grado di incertezza e la difficoltà interpretativa.

5.5 Analisi degli istogrammi d’errore

Per valutare quantitativamente la bontà delle curve calcolate rispetto alle TCC reali, è stato implementato il calcolo di una serie di misure. Tra queste vi sono, ad esempio, il calcolo dei residui ed il loro valor medio, la distanza di Hausdorff, la somma cumulata dei residui punto a punto, distinguendo i contributi: (1) del primo

tratto della salita (da fine *baseline* al picco di milza o sua approssimazione), (2) da quest'ultimo punto al massimo del segnale, (3) la somma delle fasi (1) e (2).

Rispetto alle metriche calcolate, un'informazione immediata circa l'adattabilità delle curve calcolate alle TCC tessutali reali, è fornita dall'analisi dei residui. Nello specifico, i residui sono calcolati come differenza, punto a punto, tra la curva calcolata e quella reale. Pertanto quando otteniamo valori maggiori di zero significa che la TCC reale si trova sotto quella calcolata (che ne fa una sovrastima), quando invece i residui sono negativi, la TCC reale è sopra (e ne fa una sottostima).

Negli istogrammi delle distribuzioni della media dei residui si vuole individuare prevalentemente un andamento gaussiano, a valor medio nullo. Tuttavia, si è notato che in qualche caso la distribuzione può essere centrata in un valore non nullo. A tal proposito, nella fase (1), una delle cause è da ricercare nel processo di correzione della *baseline*, ma più nello specifico, nell'istante di fine *baseline*. Come già descritto (Sez. 2.4), dopo l'istante temporale in cui termina con certezza la *baseline*, vi può essere un intervallo di durata variabile in cui non è certo se l'assorbimento del MdC sia iniziato o meno, quindi questi punti non sono sottoposti allo stesso procedimento di *denoising* dei secondi precedenti. Ciò comporta che, se in questa fase il segnale reale presenta picchi di rumorosità verso l'alto o verso il basso, questi inficino l'ampiezza del residuo calcolato. In ragione di ciò, l'eventuale presenza di un istogramma decentrato rispetto allo zero (di pochi valori) non è stata ritenuta una condizione negativa, nel complesso, perché non è indice del fatto che la curva calcolata rispetto alla TCC reale non ne riproduca bene la fase di salita (di interesse per l'estrazione dei parametri di perfusione).

Inoltre, quando il valor medio è spostato, nella stessa fase (1), verso la positività (condizione più rara del caso di spostamento verso un valore negativo), la causa può essere imputata comunque all'istante di fine *baseline*, ma per una ragione differente. Ovvero, può accadere che una correzione della *baseline* per un intervallo troppo lungo renda l'inizio della salita della TCC troppo ripido, a differenza di un andamento più *smooth* della curva calcolata e quindi si verifica che la calcolata presenti uno scostamento positivo rispetto alla reale nei primi tratti della salita.

Nella **Figura 49a,b** si mostra un esempio, riferito al paziente 56, in cui l'istogramma della media dei residui nella fase (1) ha valore medio leggermente negativo (circa -3), nella fase (2) è invece centrato sullo zero. La **Figura 50** invece, mostra il confronto tra una curva calcolata rispetto alla TCC reale, in cui sono

evidenziati i picchi spuri che sono una delle cause (sopra descritte) dello scostamento del valor medio dell'istogramma, in fase (1) verso la negatività.

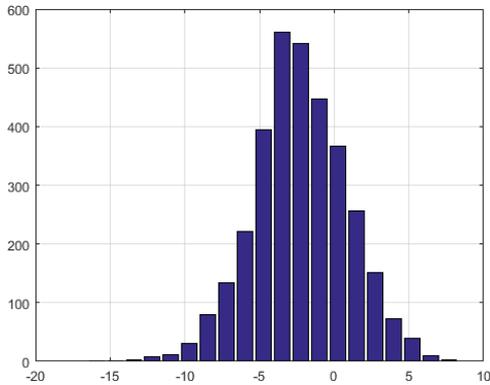


Figure 49a – Paziente 56: istogramma della media dei residui, calcolata per ogni curva della ROI, nell'intervallo compreso tra la *baseline* ed il picco di milza, con il quale si individua la fase (1) della salita della curva. Si nota che l'andamento gaussiano ha il valor medio spostato verso la negatività, a causa del processo di correzione della *baseline*.

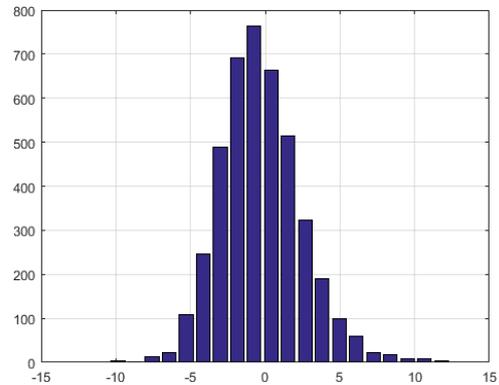


Figure 49b – Paziente 56: istogramma della media dei residui, calcolata per ogni curva della ROI, nell'intervallo compreso tra il picco di milza, con il quale si individua la fine della fase (1) della salita della curva ed il valore massimo del segnale (fase (2)). Si nota che la distribuzione è gaussiana con valor medio nullo.

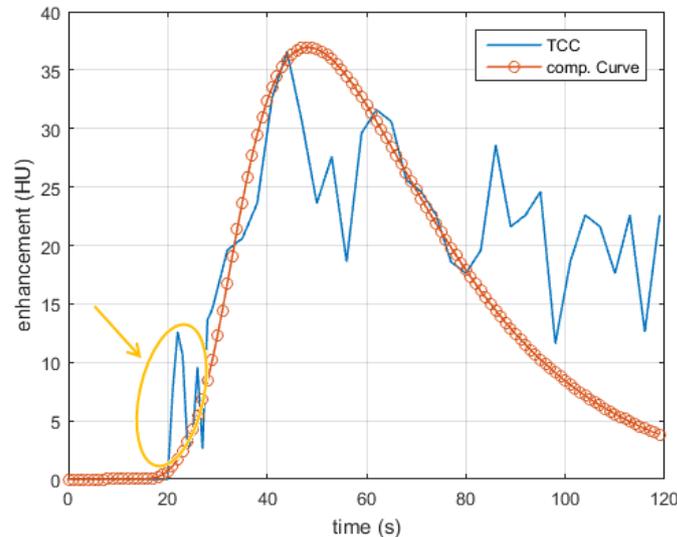


Figure 50 – Il grafico confronta una curva calcolata, riferita alla relativa TCC reale. Si evidenzia la presenza nella prima fase di salita, di picchi spuri sulla TCC reale che sono una delle cause per cui il valor medio dell'istogramma (**Figure 49a**) è spostato verso la negatività.

Per quanto riguarda, invece, la fase (2), quindi quella che arriva al massimo dell'assorbimento del MdC nel tessuto, gli scostamenti del valor medio, qualora si verificano, sono prevalentemente positivi. Ciò è dovuto al fatto che la curva calcolata tende a raggiungere il massimo della TCC reale, trascurandone gli eventuali picchi spuri verso il basso. Sempre riferendosi alla precedente **Figura 50**, si può notare come la curva calcolata dal valore di massimo *enhancement* prosegua verso il decadimento, trascurando i picchi negativi nei secondi intermedi.

In **Figura 51a,b** si mostra un esempio di due istogrammi in cui, a differenza del caso precedente, nella fase (1) della salita (istogramma di sinistra), il valor medio è nullo, mentre nella fase (2) (istogramma a destra), il valor medio è spostato verso la positività.

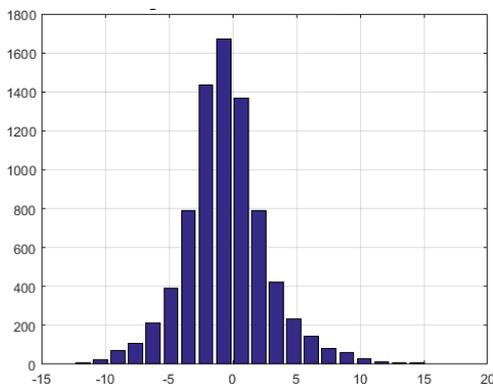


Figure 51a – Paziente 62: istogramma della media dei residui, calcolata per ogni curva della ROI, nell'intervallo compreso tra la *baseline* ed il picco di milza, con il quale si individua la fase (1) della salita della curva. Si nota che l'andamento gaussiano ha valor medio nullo.

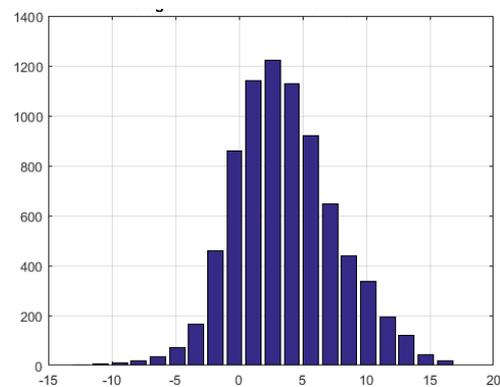


Figure 51b – Paziente 62: istogramma della media dei residui, calcolata per ogni curva della ROI, nell'intervallo compreso tra il picco di milza, con il quale si individua la fine della fase (1), ed il massimo della curva. Si nota che l'andamento gaussiano ha valor medio positivo (circa +3).

Per quanto concerne la fase (2) infine, si è valutato anche, in via preliminare, il calcolo dei residui per qualche punto oltre il valore massimo della TCC. Tuttavia, spesso questo faceva registrare un peggioramento dei risultati, poiché, causa rumore, spesso le TCC reali hanno dei decadimenti oltre il picco, non proporzionali alla fase di salita. Quindi una brusca riduzione dell'*enhancement* aumenta i residui in questo tratto, traslando i valor medi degli istogrammi.

Nelle seguenti **Figure 52** e **53** si mostrano altri due casi, a titolo esemplificativo; nel primo, il paziente 87, l'istogramma in fase (1) (a sinistra) è spostato verso la negatività, in fase (2) verso la positività, quindi nella complessiva

fase (3) (a destra), l'istogramma è gaussiano con valor medio nullo. Nel secondo caso, si mostrano gli istogrammi del paziente 79, in cui per ogni fase la distribuzione dei residui è gaussiana con valor medio nullo.

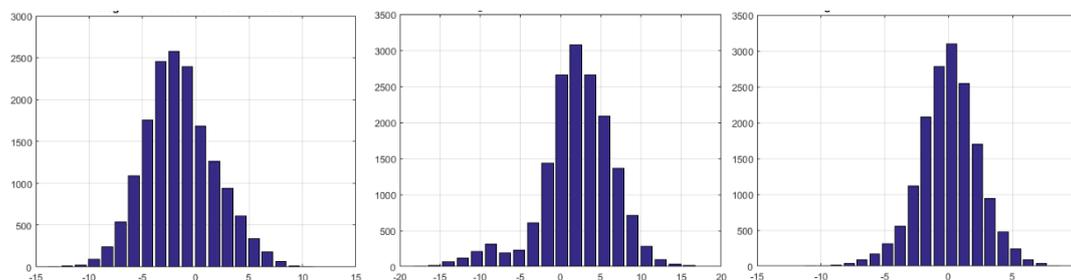


Figure 52 – Paziente 87: istogramma della media dei residui, calcolata per ogni curva della ROI, nella fase (1) (a sinistra), con valor medio leggermente negativo, in fase (2) (al centro), con valor medio positivo ed in fase (3) a destra, con valor medio nullo, somma dei contributi delle due fasi precedenti.

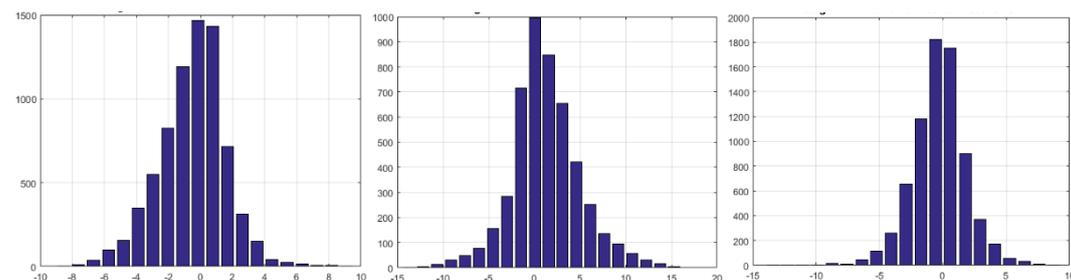


Figure 53 – Paziente 79: istogramma della media dei residui, calcolata per ogni curva della ROI. In tutti i casi gli istogrammi hanno valor medio nullo. Ciò si verifica tipicamente, nella maggior parte dei casi ed in presenza di segnali reale, scarsamente rumorosi, con andamenti facilmente individuabili.

5.6 Valutazioni quantitative dei dati

Per un'analisi quantitativa dei valori di perfusione estratti, si considerano le mappe colorimetriche di BF, BV, MTT.

Di seguito, dalla **Figura 54** alla **61**, si riportano le mappe del BF, per otto dei dieci pazienti analizzati, ottenute applicando il metodo *simulation-based*.

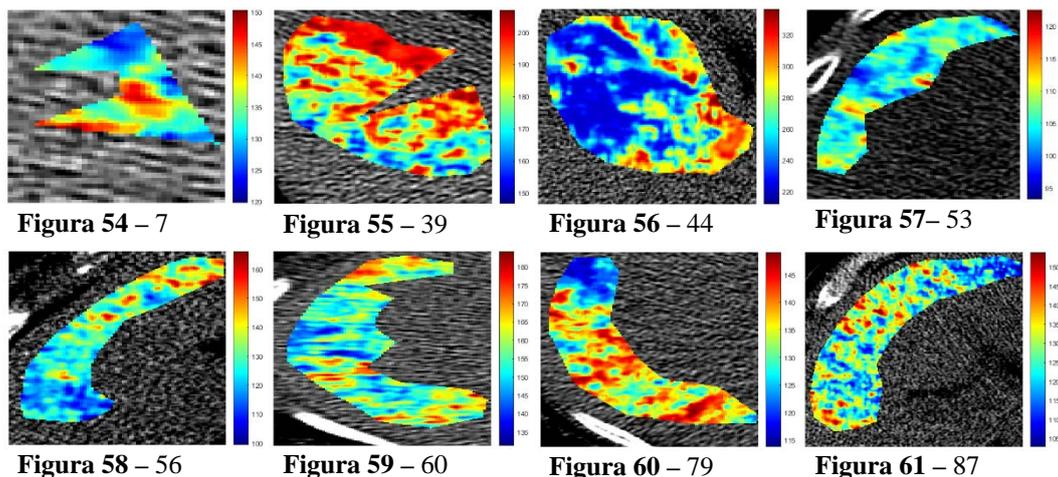


Figure 54-61 – Mappe colorimetriche del BF, estratto mediante l’algoritmo *simulation-based*, per otto tra i dieci pazienti analizzati.

Per i restanti due pazienti, ovvero 62 e 66, si riporta il confronto, nelle **Figure 62a,b** e **63a,b**, tra le mappe colorimetriche ottenute estraendo il BF con i due metodi, *simulation-based* e MS, come esempio dei casi di migliore e peggiore correlazione, in riferimento agli *scatter plot* di Sez. 5.2. Come si nota, nel primo caso la distribuzione spaziale del BF è identica, a meno della variazione del *range* di valori rappresentato. Nel secondo caso, invece, si riscontrano delle differenze, sebbene non molto accentuate: il MS tende ad evidenziare più zone con valori di perfusione elevati. Comunque, anche nel caso di correlazione numerica peggiore, le mappe colorimetriche mantengono una forte correlazione semantica.

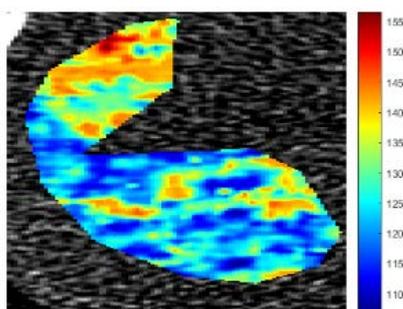


Figura 62a – 62

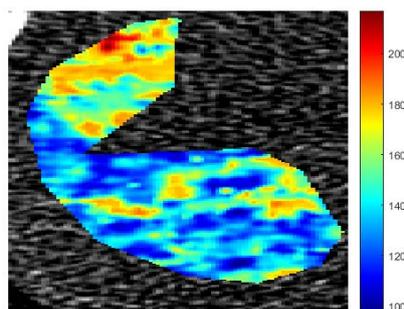


Figura 62b – 62

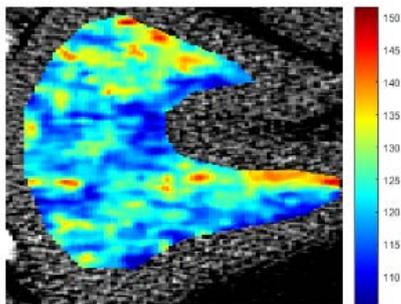


Figura 63a – 66

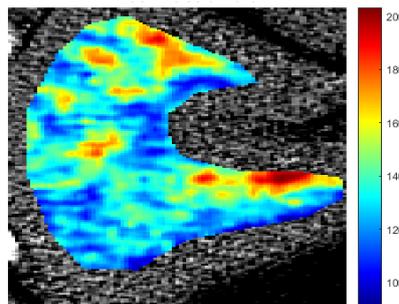


Figura 63b – 66

Figure 62 e 63 – Mappe colorimetriche del BF per i pazienti 62 e 66, come esempi di migliore e peggiore correlazione tra i due metodi, *simulation-based* e MS. Nel primo caso le distribuzioni di valori nella ROI, sono identiche. Nel secondo caso, il MS presenta zone più ampie con valori di perfusione massimi.

La seguente **Figura 64**, riporta i *Boxplot* delle distribuzioni di BF dei dieci casi analizzati. Il rettangolo è delimitato dal primo e dal terzo quartile ed all'interno viene indicato il secondo quartile, cioè il valore mediano. Quindi, i segmenti uscenti, raggiungono il minimo ed il massimo valore della distribuzione. Lo scopo del grafico è quello di riportare il confronto tra le dieci distribuzioni ottenute. Si nota che per almeno sei pazienti, i valori di BF appartengono ad intervalli non troppo distanti ed i valori mediani sono simili, ovvero per i pazienti 7, 56, 62, 66, 79, 87, (rappresentati dagli indici in ascissa 1, 5, 7, 8, 9, 10). Nei casi dei pazienti 39, 44, 60, (indici nel *plot* 2, 3, 6), invece, si riscontrano forti differenze del valore mediano, così come nel caso del paziente 53 (indice 4), in cui però lo scarto rispetto agli altri è minore.

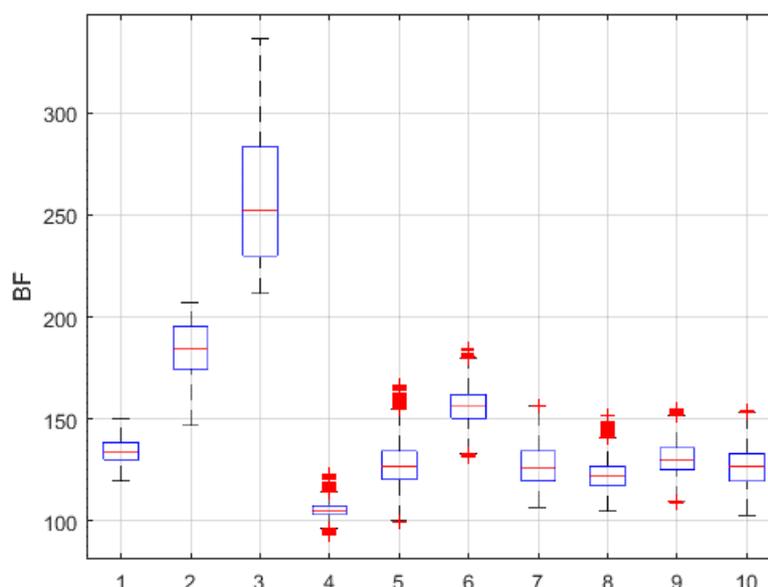


Figure 64 – *Boxplot* delle distribuzioni di BF per i dieci pazienti. Il rettangolo delinea il primo ed il terzo quartile, la linea rossa orizzontale segna il valore mediano. I segmenti uscenti, rispettivamente il minimo ed il massimo valore raggiunto. Si notano forti differenze tra le distribuzioni in almeno tre casi (pazienti 39, 44, 62, rispettivamente agli indici 2, 3, 6) e meno accentuate nel paziente 53 (indice 4). Gli altri valori medi sono molto simili gli uni agli altri.

Si possono confrontare i valori medi ottenuti con i riferimenti della letteratura, sebbene nel farlo, si è consapevoli del fatto che si confrontano valori estratti con tecniche differenti e spesso sotto condizioni analitiche differenti. Ciascuna tecnica utilizzata ha infatti, un proprio modello alla base, con specifiche ipotesi, ed i risultati estratti ne dipendono numericamente. Il fatto che l’algoritmo *simulation-based* risulti innovativo, tra le tecniche comunemente usate, complica il confronto con i dati di letteratura. Inoltre, esiste un’ulteriore problematica, in tal senso, nel campo della TCp, ovvero il fatto che non esistano ancora delle misure che siano considerabili come un *gold standard*, quindi la comparazione tra stime ottenute con tecniche differenti deve accompagnare al mero confronto numerico, anche una verifica di correlazione e proporzionalità.

I riferimenti [26], [27], [28], riportano rispettivamente valori di BF pari a $160 \pm 56 \text{ ml}/(\text{min} \cdot 100\text{g})$, considerando $\text{media} \pm \text{std}$ e valori mediani compresi tra $134 \div 222 \text{ ml}/(\text{min} \cdot 100\text{g})$ con scarto interquartile (IQR) corrispondentemente tra $94 \div 145 \text{ ml}/(\text{min} \cdot 100\text{g})$, se ottenuti ricostruendo i segnali con intervalli di campionamento progressivamente crescenti tra 0.5s e 4s. Rispetto al *Boxplot* di **Figura 64**, il valor mediano estraibile tra i pazienti 7, 53, 56, 60, 62, 66, 79, 87 è di

127ml/(min · 100g), con una deviazione mediana assoluta (MAD) di 4 ml/(min · 100g). I casi 39, 44 hanno invece valori mediani ben più alti, rispettivamente di 184 ml/(min · 100g) e 252 ml/(min · 100g).

Analogamente al caso precedente, dalla **Figura 65** alla **Figura 73**, si riportano le mappe colorimetriche estratte per il parametro del BV, per nove pazienti su dieci. Quindi, in **Figura 74a,b** si riporta la mappa del paziente 79 confrontata con quella ottenuta con il metodo MS. Si nota, in virtù della mancanza di correlazione di cui si è parlato in Sez. 5.4, una differente distribuzione spaziale del parametro, all'interno della ROI selezionata, in termini di valori numerici. Tuttavia, le mappe mantengono un'eccellente sovrapposibilità strutturale. Il calcolo effettuato con il MS rende più evidenti le transizioni tra zone adiacenti.

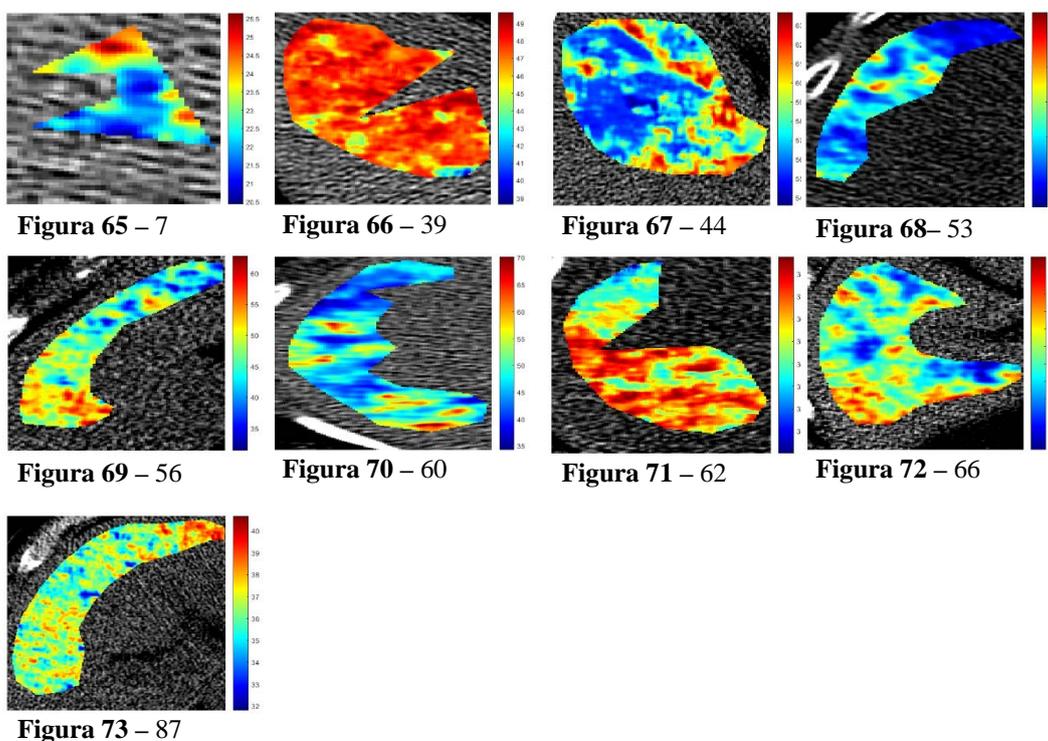


Figure 65÷73 – Mappe colorimetriche del BV per nove pazienti su dieci.

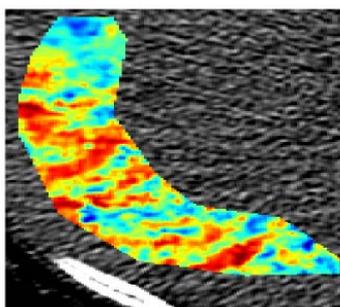


Figura 74a – 79

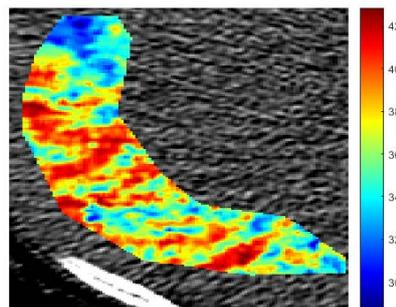


Figura 74b –79

Figura 74a,b – Confronto tra la mappa di BV, ottenuta per il paziente 79, con i due metodi (a destra, il MS). Si nota un'eccellente sovrapposizione strutturale tra le mappe, a fronte però di differenti valori numerici distribuzione spaziale intra-ROI del parametro. Il MS accentua le transizioni tra zone adiacenti.

La seguente **Figura 75** riporta i *Boxplot* delle distribuzioni di BV, calcolate con il metodo *simulation-based*. Tale parametro ha una variabilità inter-paziente molto alta. Si osserva che i valori mediани sono molto diversi tra loro; tuttavia, si possono individuare casi di similarità, ad esempio tra il gruppo di pazienti 53, 62, 66, 87 (con riferimenti nel *plot* 4,7, 8 e 10) con valore mediano attorno a 35ml/100g e tra il gruppo dei pazienti 39, 56, 60 (indici 2, 5 e 6) con un valor mediano di circa 48ml/100g.

Rispetto al riferimento [26] i valori di BV ottenuti sono comparabili. È ivi riportato, infatti, il valor medio±std di $39\pm 5\text{ml}/100\text{g}$, poco distante rispetto al valore $40\pm 9\text{ml}/100\text{g}$, ottenuto tra tutti i casi dei dieci pazienti analizzati. Tuttavia, vi è una forte sovrastima dei dati rispetto al riferimento [27] che riporta valori mediани di BV compresi tra $14\div 17\text{ml}/100\text{g}$ con IQR tra $7\div 9\text{ml}/100\text{g}$. È evidente, dunque, come anche i dati di letteratura presentino notevole variabilità.

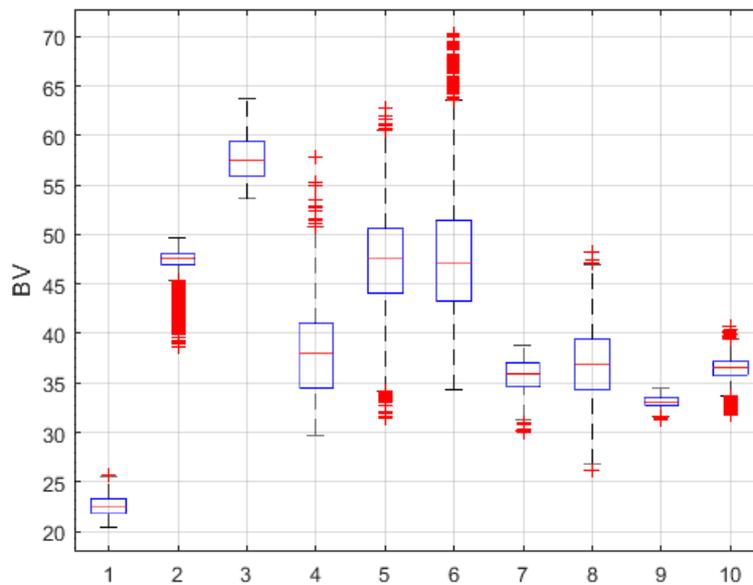


Figure 75 – *Boxplot* delle distribuzioni di BV per i dieci pazienti. Il rettangolo delinea il primo ed il terzo quartile, la linea rossa orizzontale segna il valore mediano. I segmenti uscenti, rispettivamente il minimo ed il massimo valore raggiunto. Si notano forti differenze tra tutte le distribuzioni; tale parametro evidenzia un'alta variabilità inter-paziente. Ciò nonostante, si riscontrano similarità tra i casi dei pazienti (53, 62, 66, 87, (indici 4, 7, 8 e 10), con un valore mediano di BV di circa 35ml/100g e tra i pazienti 39, 56, 60, (indici 2,5 e 6) con un valore mediano di circa 48ml/100g. Il valor mediano del paziente 79 (indice 9) è leggermente inferiore ai 35ml/100g, mentre i pazienti 7 e 44 (indici 1 e 3) hanno rispettivamente i valori di BV medi minore e maggiore.

In seguito, dalla **Figura 76** alla **85** si riportano le mappe del parametro MTT, per i dieci pazienti analizzati, quindi nella successiva **Figura 86** si riportano i *Boxplot* relativi. Solo nel primo caso si evidenzia una forte differenza rispetto al valore mediano di tutti gli altri. Ciò può essere dovuto al fatto che le dimensioni della ROI del primo paziente sono ridotte, quindi può essere stata selezionata una zona particolarmente omogenea del tessuto, in termini di MTT. Al contrario, soprattutto nei pazienti 56 e 56 (riferimenti del *plot* 4 e 5) si presenta un'elevata ampiezza dei *range*. I valori mediani dal paziente 60 all'87 (indici dal 6 al 10) sono simili. Nei casi del 39 e 44 (indici 2 e 3), il valore mediano è leggermente inferiore alla maggioranza ma le distribuzioni sono molto compatte in entrambi i casi.

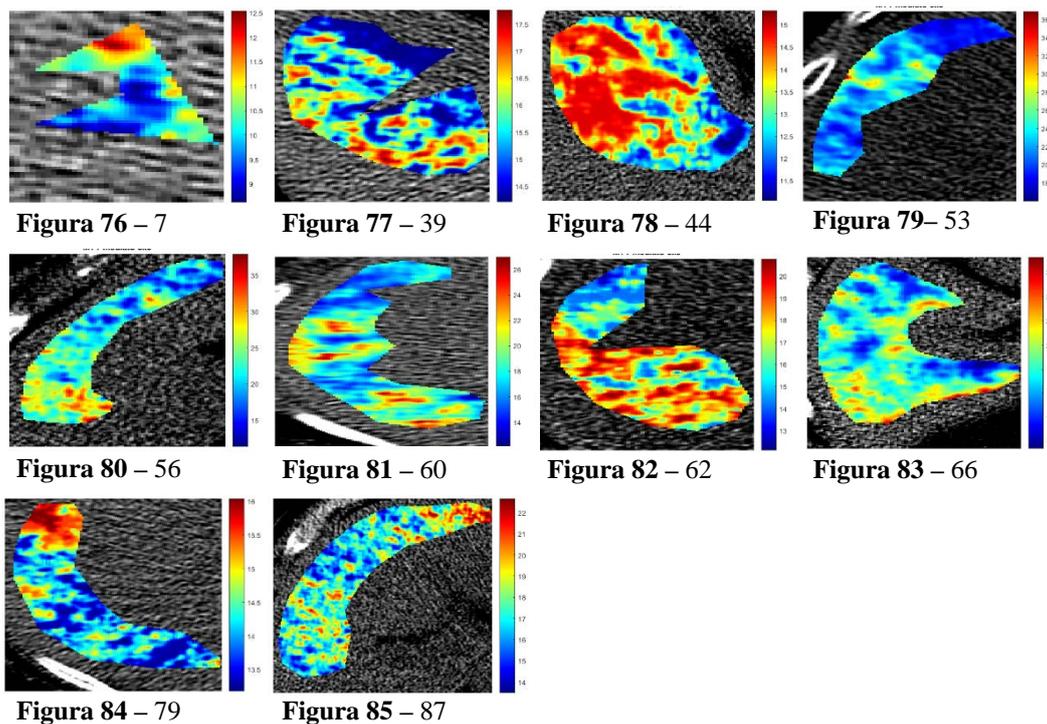


Figure 76-85 – Mappe colorimetriche del parametro MTT per i dieci pazienti analizzati.

Infine, la comparazione dei dati ottenuti, riportati in **Figura 86**, consente di rilevare, un valore mediano tra tutti i casi, di 17s, maggiore, se comparato con alcuni dati mediani, riportati in [27], [28], compresi tra 6÷9s.

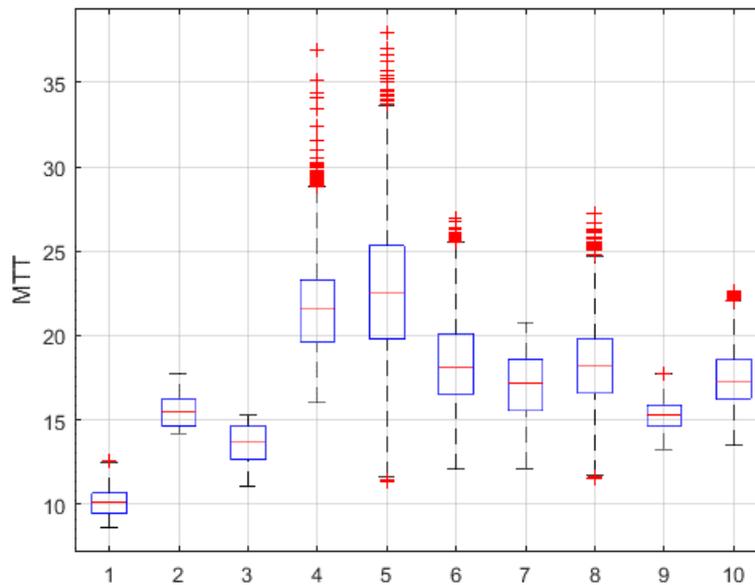


Figure 86 – *Boxplot* delle distribuzioni di MTT per i dieci pazienti. Il maggiore scostamento del valor mediano, rispetto agli altri, si verifica per il paziente 7 (indice 1), con un MTT di circa 10s, a differenza della maggior parte dei casi in cui il valore mediano è tra 15 e 20s. Nei pazienti 56 e 56 (indici 4 e 5) si riscontra, inoltre un'elevata ampiezza dei *range* di distribuzione dei valori. I casi dal 6 al 10 (pazienti dal 60 all'87) hanno MTT mediano simile. Il 39 e 44 (indici 2 e 3) hanno *range* piccoli e valori mediani lievemente inferiori a quelli della maggioranza dei casi.

5.7 Individuazione di cluster

Come fine ultimo del progetto si è studiata la possibilità di verificare che a partire dai parametri di perfusione estratti nei dieci casi analizzati si potessero riscontrare delle “anomalie” di qualsiasi genere, che potessero essere predittive dello sviluppo di metastasi epatiche nei successivi tre anni dall'esame TCp. Infatti, tra i dieci pazienti su cui è stato testato il metodo, sei di essi sviluppano metastasi epatiche in un tempo variabile tra alcuni mesi e massimo tre anni dall'analisi di perfusione, mentre i restanti quattro pazienti rimangono con il fegato sano. Nello specifico, i pazienti che sviluppano metastasi sono i seguenti: 39, 44, 53, 60, 66, 87.

Dalle distribuzioni dei valori della ROI relativi a BF, BV, MTT ed HPI sono stati calcolati diversi parametri statistici, ed in particolare (1) il valor medio, (2) la mediana, (3) la *skewness* e (4) la *curtosi*. Quindi, a partire dalle quattro *feature* per

ciascuno dei quattro parametri, si sono ottenuti sedici descrittori in totale. Infine, su tutte le possibili $\binom{16}{2}=120$ coppie di *feature* considerate è stata effettuata una classificazione non supervisionata in due classi, tramite l'algoritmo *k-means*.

Scopo di questa classificazione preliminare era verificare se esistessero combinazioni di *feature* che consentissero di individuare due gruppi distinti, di cui auspicabilmente presentasse valori anomali di almeno una delle due *feature*. E così è stato: infatti sono emerse diverse combinazioni che consentono di individuare gruppi (al più di tre elementi), i quali si riferiscono esattamente solo a casi dei pazienti il cui tessuto epatico ha sviluppato metastasi. Seppure non tutti i pazienti metastatici sono stati individuati, si è ottenuta una specificità del 100%, seppure rimane un numero non nullo di falsi negativi.

Di seguito, dalla **Figura 87** alla **Figura 93**, si riportano i risultati della classificazione per la terna dei pazienti 44-53-87. In sette diverse combinazioni di *feature* si è individuato un gruppo che include solo questi tre pazienti. Nelle varie combinazioni riportate le classi sono separate linearmente da un iperpiano di separazione (nello spazio bi-dimensionale, una retta). In particolare, nel caso di **Figura 90**, la separazione lineare consente di integrare al *cluster* già individuato dal *k-means*, anche il caso 39, aumentando a quattro il numero di anomalie caratterizzate con la stessa coppia di *feature* e garantendo un buon margine di separazione tra le classi.

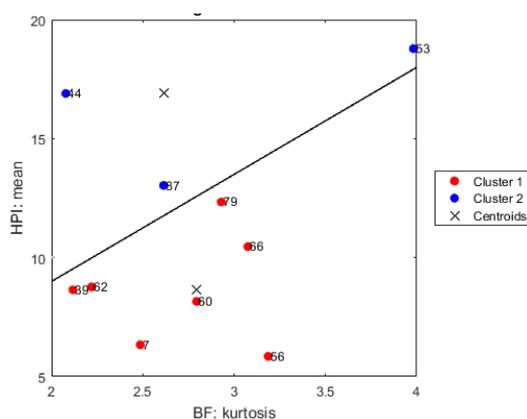


Figura 87

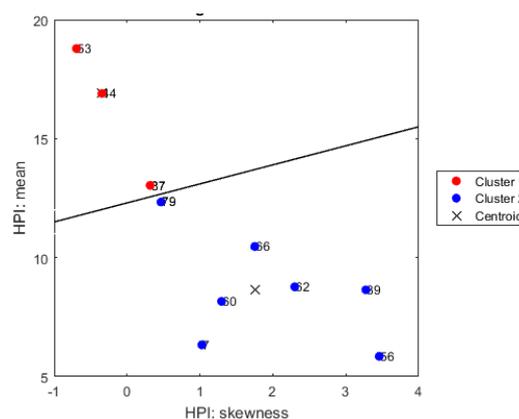


Figura 88

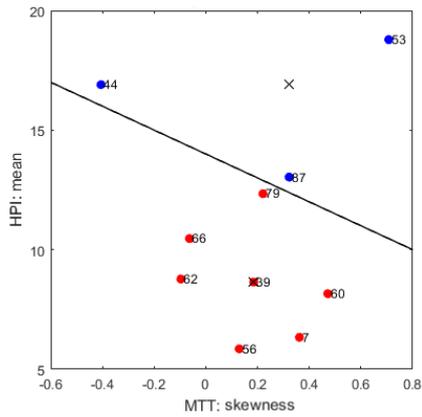


Figura 89

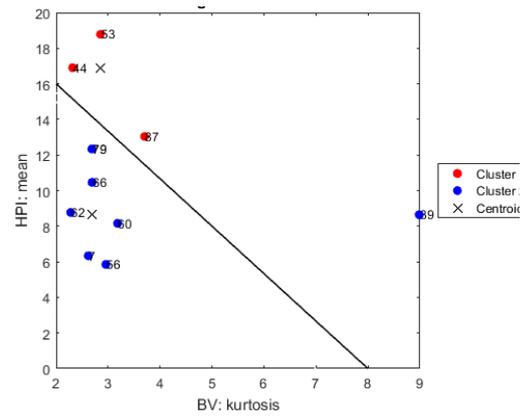


Figura 90

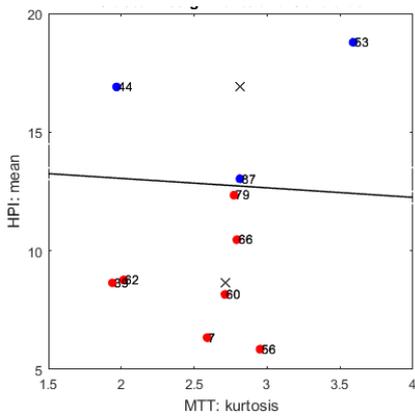


Figura 91

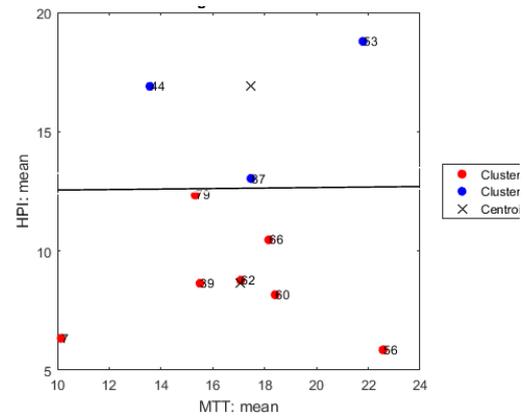


Figura 92

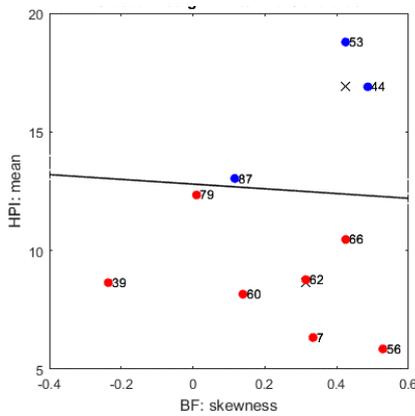


Figura 93

Figure 87-93 – Le figure rappresentano le classificazioni ottenute applicando l’algoritmo *k-means* che ha consentito, nei sette casi riportati, di separare linearmente lo spazio delle *feature* ed individuare, per combinazioni di attributi differenti, la caratterizzazione dei casi 44, 53, 87. Nel quarto caso (seconda riga, seconda colonna), la retta di separazione consente di includere nel semispazio cui appartiene il *cluster* 1 (rosso) trovato dal *k-means*, anche il paziente 39, portando a quattro il numero di veri positivi individuati contemporaneamente.

Analogamente, le **Figure 95 e 96**, descrivono il *cluster* individuato per la terna 39-44-60. Si riportano, dunque, due combinazioni di *feature* in cui vengono caratterizzate queste anomalie. Entrambe sono adeguatamente separate per mezzo di una retta, nello specifico verticale. Ciò indica che, in questo caso, la separazione è individuabile facendo uso esclusivamente del valore mediano di BF, quasi indipendentemente dagli altri due attributi, ovvero media e mediana del BV. Tuttavia, la possibilità di utilizzare due *feature* consente di operare anche in caso di eventuale correlazione non nulla tra di esse, e quindi di irrobustire una eventuale classificazione.

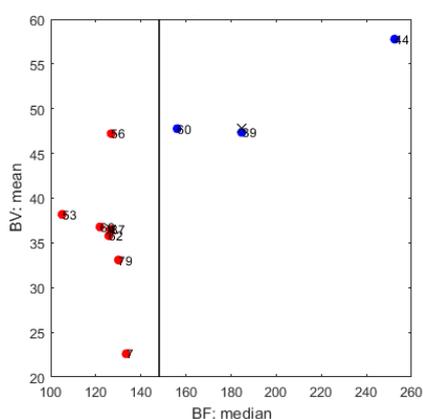


Figure 95

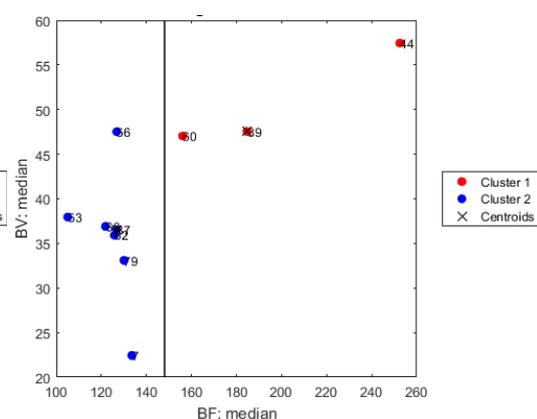


Figure 96

Figure 95,96 – Le figure rappresentano le classificazioni ottenute applicando l’algoritmo *k-means*, secondo due coppie differenti di *feature*. In entrambi i casi sono raggruppati i pazienti 39, 44, 60, successivamente metastatici. La separazione è resa mediante una retta nello spazio degli attributi considerati.

La classificazione riportata è da ritenersi, ovviamente, assolutamente preliminare e dimostra come alcuni casi di fegato metastatico presentino già alcuni indici anomali ben prima dello sviluppo di metastasi.

Come è deducibile, infatti, la componente sostanziale dei risultati riportati riguarda le fasi di test e validazione dell’algoritmo *simulation-based*, sulla base, rispettivamente, dell’estrazione di parametri di perfusione (BF, BV, MTT) e del confronto dei dati ottenuti con quelli del metodo MS. L’individuazione di *cluster* è stata ricercata per verificare un eventuale riscontro clinico che potesse comprovare la correttezza e la bontà del metodo sviluppato. Non dimenticando che gli esami di TCp sui quali si è lavorato, provengono dal progetto PIXEL che proprio nella ricerca di un indice predittivo basato sui valori perfusionali pone le proprie basi. Questa fase analitica necessita, pertanto, di ulteriori approfondimenti. In primo

luogo, l'analisi va estesa ad un numero elevato di casi, volta in ogni caso a valutare la generalizzabilità del risultato ottenuto mantenendo tanto elevata, quanto quella attuale, la specificità della classificazione ma incrementandone in maniera consistente la sensibilità. Inoltre, va approntato un classificatore supervisionato specifico, in grado di sfruttare le informazioni preliminari ottenute attraverso il *k-means*, e di confermarne le potenzialità a livello predittivo e, auspicabilmente, anche prognostico.

Il dato rilevato, nonostante i pochi casi analizzati, resta comunque estremamente rilevante e promettente circa le valutazioni che saranno condotte nel prossimo futuro, in quanto spesso i valori di almeno una delle *feature* considerate si trova fuori dal *range* di normalità.

Capitolo 6

CONCLUSIONE E SVILUPPI FUTURI

Il progetto di ricerca svolto si è inserito nell'ambito dei metodi e delle tecniche analitiche afferenti allo studio della TCp ed al calcolo dei parametri perfusionali epatici con modello a *dual-input*, con particolare interesse per la determinazione della IRF. Lo scopo fissato, infatti, è stato quello di condurre un'indagine preliminare, nel contesto dello studio del metodo deconvoluzionale, volta a comprendere nel dettaglio le mutue relazioni tra le componenti coinvolte nel processo diretto di convoluzione, nell'ottica di impiegare le conoscenze acquisite per la futura ottimizzazione degli algoritmi di regolarizzazione del relativo processo inverso.

A questo fine, è stato sviluppato e messo a punto un simulatore che utilizza informazioni estratte dai dati reali per riprodurre l'andamento delle TCC tessutali ricostruite dalle sequenze di *slice* dell'esame TCp. La caratteristica primaria del progetto realizzato è dunque il cambio di prospettiva rispetto all'approccio deconvoluzionale: la IRF non viene stimata a posteriori, risolvendo un problema matematico inverso e mal posto, bensì viene ipotizzata a priori e parametrizzata in

maniera altamente specifica rispetto alla curva tessutale *voxel-based* che si vuole riprodurre. In proposito, dopo un'accurata fase di studio dei dati reali, sono state individuate quali fossero le caratteristiche informative delle TCC tessutali, che hanno consentito di mettere a punto il metodo di calcolo dei parametri della IRF. Pertanto, alla luce delle relazioni trovate, il processo di determinazione della IRF è stato completamente automatizzato. Sono quindi stati definiti degli algoritmi *voxel-based*, operanti su singola TCC, per il calcolo: (1) del parametro di forma della IRF, (2) del parametro di scala, (3) dell'HPI, (4) del ritardo tra la TCC reale e la curva calcolata.

Il simulatore sviluppato esegue, quindi, la convoluzione tra la IRF così parametrizzata e la combinazione lineare (rispetto al parametro HPI) dei *fitting* parametrici (secondo una opportuna funzione) degli *input* vascolari di aorta e porta, per restituire in *output* una TCC tessutale, che riproduce fedelmente l'andamento di quella reale fino al massimo *enhancement* del MdC.

Le simulazioni degli *input* vascolari realizzate, escludono la rappresentazione della concentrazione del MdC nella fase di ricircolo, poiché dopo la fase cinetica di primo passaggio convergono a zero. Analogamente, lo stesso andamento si è riversato sulle curve tessutali calcolate nelle quali, avendo adottato un modello mono-compartimentale, è d'interesse soltanto il trasporto del MdC nei vasi e non la sua diffusione nell'interstizio. Quindi, nelle curve in *output* dal simulatore è chiaramente distinta e di proposito trascurata la fase successiva al *first pass*.

Questo, ha consentito, altresì, di definire una modalità di calcolo del BF direttamente dalle curve in *output* dal simulatore, piuttosto che stimarlo dalla IRF approssimata con calcolo inverso mediante il metodo deconvoluzionale.

A tal proposito, il confronto effettuato tra i valori perfusionali (BF, BV, MTT ed HPI) estratti con l'algoritmo *simulation-based* e quelli ottenuti applicando il MS alle stesse curve in *output* dal simulatore, è derivato da un preciso approccio metodologico, volto a verificare in primo luogo la coerenza tra i dati e successivamente anche la correttezza numerica. I metodi *simulation-based* e MS sfruttano modalità di calcolo del BF del tutto indipendenti: il primo effettua un processo di integrazione, il secondo di derivazione. La comparazione numerica, che ha consentito di verificare l'esistenza di correlazione e proporzionalità tra le misure, avvalorava la validità teorica del metodo proposto ed anche l'identità del metodo

stesso come un'alternativa *stand-alone* per l'esecuzione di un'analisi di perfusione sul fegato.

A maggior ragione, questa direzione potrà essere percorsa, in virtù dei risultati, seppur preliminari, ottenuti con l'individuazione di *cluster* che identificano tessuti epatici inclini allo sviluppo di metastasi. Questo, infatti, ha rappresentato un'ulteriore conferma della validità metodologica impostata e rende favorevole la prospettiva di un interesse e di un'applicabilità clinica del metodo.

I risultati raggiunti con l'algoritmo *simulation-based* sviluppato, da un lato sono coerenti con la teoria di base ed efficaci rispetto agli obiettivi preposti, dall'altro consentono altresì, di porsi ulteriori interrogativi, ponendo i presupposti per il proseguimento della ricerca in merito a questa tematica. Infatti, i dati preliminari ottenuti consentono anche di evidenziare alcuni punti di criticità del flusso procedurale implementato. Tra questi, ad esempio, vi è il fatto che l'algoritmo di minimizzazione degli errori, implementato rispetto all'HPI, introduce inevitabilmente un vincolo rispetto all'individuazione dell'esatto valore fisiologico, poiché il *range* di valori esplorati è limitato. L'HPI, in aggiunta, teoricamente dovrebbe essere uno degli *output* dell'analisi TCp, quindi, se lo si usa, come nel caso del metodo sviluppato, come *input*, si rende necessario il confronto, rispetto a questo parametro, con il risultato ottenuto tramite un altro metodo analitico indipendente (quale il MS utilizzato) applicato caso per caso, al singolo paziente.

Dal confronto dei dati di BV, tra il metodo *simulation-based* ed il MS, è emersa una scarsa correlazione numerica, affiancata però da una eccellente sovrapposibilità delle due relative distribuzioni spaziali del parametro. Questo, è probabilmente dovuto ad una maggior sensibilità del metodo MS, che va però confermata. Invece, nell'ipotesi in cui la causa dell'"errore" in questo confronto risieda nel metodo *simulation-based*, probabilmente bisognerà partire da una scomposizione dei contributi arterioso e portale, per ricercare l'esistenza di eventuali fattori che determinano questa condizione.

Riferimenti bibliografici

- [1] G. Petralia, L. Bonello, S. Viotti, L. Preda, G. d'Andrea, M. Bellomi, "CT perfusion in oncology: how to do it", *Cancer Imaging* (2010) 10(1): 8-19.
- [2] B. I. Levy, E. L. Schiffrin, J.-J. Mourad, D. Agostini, E. Vicaut, M. E. Safar, H. A.J. Struijker-Boudier, "Impaired Tissue Perfusion, A pathology Common to Hypertension, Obesity, and Diabetes Mellitus", *Circulation* (2008) 118:968-976.
- [3] K. A. Miles, C. Charnsangavej, F. T. Lee, E. K. Fishman, K. Horton, T-Y Lee, "Application of CT in the Investigation of Angiogenesis in Oncology", *Acad Radiol* (2000) 7(10):840-850.
- [4] R. K. Jain, "Angiogenesi e Cancro", *Le Scienze* (2008) 476:70-77.
- [5] G. Petralia, L. Preda, G. D'Andrea, S. Viotti, L. Bonello, R. De Filippi, M. Bellomi, "CT perfusion in solid body tumours. Part I: technical issues", *Radiol med* (2010) 115(6):843-857.
- [6] C. A. Cuenod, I. Leconte, N.Siauve, F. Frouin, C. Dromain, O. Clément, G. Frija, "Deconvolution Technique for Measuring Tissue Perfusion by Dynamic CT: Application to Normal and Metastatic Liver", *Acad Radiol* (2002) 9(Suppl 1):S205-S211.
- [7] R. G. Figueiras, V.J. Goh, A. R. Padhani, S. B. González, M. Garrido, L. León, A. G. Caamaño, "CT perfusion in oncologic imaging: a useful tool?", *AJR Am J Roentgenol* (2013) 200(1):8-19.
- [8] G. Ladurner et al., "Measurement of regional cerebral blood volume by computerized axial tomography", *J Neurol, Neurosurg Psychiatry* (1976) 39(2):152-155.
- [9] H. Traupe et al., "Hyperperfusion and enhancement in dynamic computed tomography of ischemic stroke patients", *J Comput Assist Tomogr* (1979) 3(5):627-632.
- [10] T-Y. Lee, "Functional CT: physiological models", *Biotechnology* (2002) 20(Suppl 8):S3-S10.
- [11] G. Brix, J. Griebel, F. Kiessling, F. Wenz, "Tracer kinetic modelling of tumour angiogenesis based on dynamic contrast-enhanced CT and MRI measurements", *Eur J Nucl Med Mol Imaging* (2010) 37(Suppl 1):S30-S51.

- [12] K. A. Miles, T.-Y. Lee, V. Goh, E. Klotz, C. Cuenod, S. Bisdad, A. M. Groves, M. P. Havball, R. Alonzi, T. Brunner, “Current status and guidelines for the assessment of tumour vascular support with dynamic contrast-enhanced computed tomography”, *Eur Rad* (2012) 22(7):1430-1441.
- [13] S. H. Kim, A. Kamaya, J. K. Willmann, “CT perfusion of the Liver: Principles and Applications in Oncology”, *Radiology* (2014) 272(2):322-344.
- [14] A. Bevilacqua, D. Barone, S. Malavasi, G. Gavelli, “Quantitative assessment of effects of motion compensation for liver and lung tumors in CT perfusion”, *Acad Radiol* (2014) 21(11):1416-1426.
- [15] CS. Ng, AG. Chandler, W. Wei, et al., “Effect of dual vascular input function on CT perfusion parameter values and reproducibility in liver tumors and normal liver”, *J Comput Assist Tomogr* (2012) 36(4):388-393.
- [16] L. Axel, “Cerebral blood flow determination by rapid-sequence computed tomography. A theoretical analysis”, *Radiology* (1980) 137(3):679-686.
- [17] Mathias Prokop, Michael Galanski, “Tomografia computerizzata. Spirale e multistrato”, Elsevier editore, XV-1100p, 2006.
- [18] A. Fieselmann, M. Kowarschik, A. Ganguly, J. Hornegger, R. Fahrig, “Deconvolution-Based CT and MRI Brain Perfusion Measurement: Theoretical Model Revisited and Practical Implementation Details”, *Int J Biomed Imaging* (2011) 2011, ArticleID 467563, 20 pages.
- [19] J. B. Bassingthwaighe, F. H. Ackerman, E.H. Wood, “Application of the Lagged Normal Density Curve as a Model for Arterial Dilution Curve”, *Circ Res* (1966) 18(4):398-415.
- [20] T.J. Knopp, W.A. Dobbs, J. F. Greenleaf, J. B. Bassingthwaighe, “Transcoronary Intravascular Transport Functions Obtained via a Stable Deconvolution Technique”, *Ann Biomed Eng* (1976) 4(1):44-59.
- [21] E. Butterworth, B.E. Jardine, G.M. Raymond, M.L.Neal, J.B. Bassingthwaighe, “JSim, an open-source modeling system for data analysis”, *F1000Res* (2013) Dec 30;2:288.
- [22] University of Washington, Department of Bioengineering, “MMID4 Manual”, *National Simulation Resource for Mass Transport and Exchange*, MMID4 Version 2.3, Documentation Version 3.0, 1998.

- [23] M. Wintermark, P. Maeden, J.-P. Thiran, P. Schnyder, R. Meuli, “Quantitative assessment of regional cerebral blood flows by perfusion CT studies at low injection rates: a critical review of the underlying theoretical models”, *Eur Radiol* (2001) 11(7):1220-1230.
- [24] University of Washington, Department of Bioengineering, “The Physiome Project”, <http://nsr.bioeng.washington.edu/>
- [25] C. A. Cuenod, I. Leconte, N. Siauve, A. Resten, C. Dromain, B. Poulet, F. Frouin, O. Clément, G. Frija, “Early Changes in Liver Perfusion Caused by Occult Metastases in Rats: Detection with Quantitative CT”, *Radiology* (2001) 218(2):556-561.
- [26] N. K. G. Jensen, M. Lock, B. Fisher, R. Kozak, X. Chen, J. Chen, E. Wong, T.-Y. Lee, “Prediction and Reduction of Motion Artifacts in Free-Breathing Dynamic Contrast Enhanced CT Perfusion Imaging of Primary and Metastatic Intrahepatic Tumors”, *Acad Radiol* (2013) 20(4):414-422.
- [27] C. S. Ng, B. P. Hobbs, W. Wei, E. F. Anderson, D. H. Herron, J. C. Yao, A. G. Chandler, “Effect on Perfusion Values of Sampling Interval of CT Perfusion Acquisition in Neuroendocrine Liver Metastases and Normal Liver”, *J Comput Assist Tomogr* (2015) 39(3):373-382.
- [28] C. S. Ng, A. G. Chandler, J. C. Yao, D. H. Herron, E. F. Anderson, C. Charnsangavei, B. P. Hobbs, “Effect of Pre-Enhancement Set-Point on CT Perfusion Values in Normal Liver and Metastases to the Liver from Neuroendocrine Tumors”, *J Comput Assist Tomogr* (2014) 38(4):526-534.

Ringrazio il Prof. Alessandro Bevilacqua per tutto quello che mi ha insegnato e per il modo in cui l'ha fatto. Lo ringrazio per come ha saputo ascoltarmi, consigliarmi ed indicarmi sempre le direzioni più efficaci.

Ringrazio Silvia Malavasi per la sua pronta disponibilità a collaborare.

Ringrazio la Prof. Valérie Vilgrain per avermi accolta presso il Dipartimento di Radiologia dell'*Hôpital Beaujon* e per i suoi preziosi suggerimenti.

Ringrazio Jean-Luc Daire e tutti i ragazzi del Laboratorio di *Imaging Biomarkers* per le affettuose attenzioni che mi hanno riservato.

Ringrazio le persone a cui sono profondamente legata, che arricchiscono in maniera inestimabile ogni mia esperienza.

Ringrazio Barbara, per essere sempre pronta a condividere ogni dubbio ed ogni gioia.

Ringrazio mia sorella, per essere sempre, con estrema fiducia, dalla mia parte.

Ringrazio mio padre e mia madre perché hanno lasciato che scegliessi la mia strada coltivando quella del mio ritorno a casa. Li ringrazio per le parole e l'amore con cui sanno essermi costantemente e ovunque vicini.

