

ALMA MATER STUDIORUM · UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

---

Scuola di Scienze  
Dipartimento di Fisica e Astronomia  
Corso di Laurea in Fisica

**Valutazione “along-tract” della  
microstruttura dei tratti di sostanza bianca  
cerebrale in RM a 3T**

**Relatore:**  
Dott.ssa Claudia Testa

**Presentata da:**  
Elena Cantoni

**Correlatore:**  
Dott.ssa Lia Talozzi

Anno Accademico 2018/2019



# Sommario

Il presente lavoro di tesi riguarda l'imaging di risonanza magnetica pesato in diffusione (DW-MRI) e in particolare lo sviluppo di un metodo di analisi di dati di DW-MRI cerebrale attraverso un algoritmo di trattografia di tipo probabilistico applicato su un campione di 20 individui sani esaminati presso l'IRCCS, Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna. In particolare, sono stati studiati due fasci della sostanza bianca cerebrale: il tratto cortico-spinale, coinvolto nella motricità volontaria, e la radiazione ottica, riguardante l'ambito visivo. In generale il processo diffusivo delle molecole d'acqua nei tessuti è anisotropo e nella sostanza bianca le direzioni privilegiate di diffusione corrono lungo i fasci di assoni. Con la trattografia, vengono utilizzate le informazioni raccolte dal DWI per fornire una misura della connettività e una descrizione più accurata dell'architettura cerebrale. Il progetto è stato organizzato con lo scopo di ottenere una ricostruzione dei tratti di interesse, una parametrizzazione di questi fasci con una suddivisione in 19 segmenti per stimare lungo il tratto ("along-tract") i parametri di diffusione. Lo sviluppo di un'analisi "along-tract" ha permesso di delineare la geometria e il percorso dei fasci considerati, andando ad approfondirne il profilo caratteristico al variare dei parametri lungo il tratto. Con questo progetto di tesi è stato condotto un lavoro di analisi di tipo quantitativo automatizzato tramite degli script e per questo applicabile anche nella clinica.



# Indice

<b>Introduzione</b>	<b>1</b>
<b>1 Risonanza magnetica di diffusione e trattografia</b>	<b>3</b>
1.1 Tensore di diffusione . . . . .	3
1.2 Imaging di Risonanza Magnetica pesato in diffusione . . . . .	6
1.3 Metodi deterministici e probabilistici per il DWI . . . . .	8
1.4 Deconvoluzione Sferica . . . . .	10
1.5 Trattografia . . . . .	11
<b>2 La sostanza bianca e i tratti di interesse</b>	<b>13</b>
2.1 Tratto cortico-spinale . . . . .	13
2.2 Radiazione ottica . . . . .	15
<b>3 Metodi e Materiali</b>	<b>17</b>
3.1 Soggetti . . . . .	17
3.2 Preprocessing . . . . .	17
3.3 Ricostruzione Trattografica . . . . .	18
3.4 Suddivisione "along-tract" . . . . .	19
3.5 Analisi statistica . . . . .	20
<b>4 Risultati</b>	<b>21</b>
4.1 Ricostruzione trattografica e mappe di variabilità . . . . .	21
4.2 Visualizzazione dei segmenti "along-tract" . . . . .	24
4.3 Differenze "along-tract" dei parametri di diffusione . . . . .	26
<b>Conclusioni</b>	<b>33</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>35</b>



# Introduzione

L'imaging pesato in diffusione è una tecnica di risonanza magnetica che consente studiare i processi diffusivi delle molecole d'acqua nei tessuti biologici. Il fenomeno di diffusione molecolare in questi casi è anisotropo perché è vincolato a seguire una direzione di diffusione privilegiata. Nella sostanza bianca cerebrale, infatti, sono presenti delle strutture cellulari, come fibre e membrane, che interferiscono con il moto delle molecole e ne ostacolano la loro propagazione. Inoltre essa è organizzata in fasci di assoni, ovvero filamenti mielinici che trasportano i segnali nervosi agli organi e ne prediligono la direzione di diffusione molecolare principale, ovvero parallela al loro decorso.

Nel DWI si utilizzano gradienti di campo magnetico applicati lungo diverse direzioni per stimare il tensore e gli indici di diffusione caratteristici del tessuto come l'*Anisotropia Frazionaria* (FA) e la *Diffusività Media* (MD).

Lo studio dell'architettura e della connettività cerebrale è possibile con la trattografia, un metodo di risonanza magnetica che permette un'analisi dei principali fasci di sostanza bianca *in vivo* ed in modo non invasivo. Esistono diversi algoritmi trattografici per ricostruire i fasci di interesse: tutti, sebbene le loro peculiarità, mirano ad individuare il percorso privilegiato lungo il quale la diffusione è meno ostacolata. Con un algoritmo deterministico si considera, voxel per voxel, la direzione dominante dei tratti. Questo metodo, a causa della disomogeneità dei tessuti, perde accuratezza in quanto trascura i possibili incroci di fasci. Il presente lavoro adotta un algoritmo di tipo probabilistico che, a differenza del precedente metodo, non esclude alcuna direzione minoritaria, ma genera una distribuzione delle possibili traiettorie per ogni voxel. In questo modo è possibile tracciare una mappa di connettività che sia formata da ricostruzioni più dettagliate dei tratti di interesse di sostanza bianca.

Con il lavoro di tesi svolto, ci si è proposto di analizzare ed elaborare dati di DWI cerebrale di un gruppo di controllo di 20 volontari sani. Tutte le acquisizioni, effettuate presso l'Ospedale Bellaria di Bologna, sono state ottenute a 30 e 64 direzioni del gradiente di diffusione. In particolare, sono state valutate delle ricostruzioni trattografiche di due fasci di fibre mieliniche, facenti parte del sistema nervoso centrale, e ne sono state studiate le caratteristiche e i parametri di interesse con un'analisi "along-tract". I fasci di fibre presi in considerazione sono il

tratto cortico-spinale, che è la via motoria che consente il controllo dei movimenti volontari guidati dalla corteccia motoria fino alle vie periferiche; e la radiazione ottica, un fascio di fibre nervose che trasporta le informazioni visive alla corteccia.

Gli obiettivi principali del progetto vertono nel ricostruire questi tratti, stimando il loro percorso favorito attraverso un algoritmo probabilistico, e nel valutare i valori dei parametri di diffusione confrontando i dati ottenuti dopo aver acquisito il segnale applicando un diverso numero delle direzioni del gradiente di diffusione. Inoltre la valutazione dei fasci è stata fatta anche "along-tract" cioè parametrizzando i fasci con una divisione in 19 segmenti di uguale lunghezza. Con questa tecnica è stato possibile raccogliere i dati relativi agli indici di diffusione direttamente lungo la traiettoria dei tratti potendone così offrire una stima distribuita lungo il loro decorso.

L'elaborato di tesi è organizzato in quattro capitoli. Nel primo capitolo vengono trattate le nozioni fisiche di base dell'imaging del tensore di diffusione e dell'imaging di risonanza magnetica pesato in diffusione; nel campo del DWI si discute sui metodi deterministici e probabilistici e sulla tecnica di trattografia, inoltre si introduce il concetto di deconvoluzione sferica. Il secondo capitolo racchiude una panoramica sulla struttura anatomica del tratto cortico-spinale e della radiazione ottica. Il terzo capitolo riporta le caratteristiche del gruppo di controllo su cui sono stati acquisiti i dati e descrive i metodi applicativi di ricostruzione del tratto, suddivisione "along-tract" ed analisi statistica. I risultati ottenuti sono descritti nel quarto capitolo.

# Capitolo 1

## Risonanza magnetica di diffusione e trattografia

La risonanza magnetica di diffusione, introdotta nella metà del 1980, è una tecnica di notevole importanza che affonda le sue radici nello studio del fenomeno di diffusione delle molecole d'acqua nei tessuti. L'imaging di diffusione molecolare dell'acqua consente, dunque, di sondare le proprietà microstrutturali dei tessuti biologici. La mobilità delle molecole in un dato fluido, ovvero lo spazio percorso da esse nel loro moto stocastico, è descritta dal coefficiente di diffusione  $D$  che ricopre un ruolo di notevole importanza nella classificazione delle regioni di diffusività. Se nei mezzi omogenei isotropi il moto molecolare non mostra alcuna dipendenza dalla direzione, in mezzi anisotropi non è così: a causa della libera diffusione di strutture come neurofilamenti, fibre mieliniche, organelli intracellulari e membrane cellulari, il movimento molecolare viene limitato in alcune direzioni [16].

Nel caso dei tessuti, che sono strutture molto disomogenee, occorre tener conto di fenomeni di diffusione ostacolata e anisotropa, perciò il coefficiente di diffusione  $D$  in assenza di ostacoli viene sostituito con uno più pertinente al caso: il coefficiente di diffusione apparente (ADC). Le mappe ADC sono molto utilizzate nello studio di processi di diffusione cerebrale, ma il loro limite resta la direzionalità: l'ADC cambia al variare dell'orientamento del gradiente di campo magnetico.

Una generica regione di diffusione anisotropa prevede, tuttavia, una mappatura a più dimensioni degli spostamenti, quindi non è possibile descriverla utilizzando una grandezza scalare come l'ADC.

### 1.1 Tensore di diffusione

In presenza di anisotropia, la diffusione non è più caratterizzata dal coefficiente di diffusione considerato come uno scalare, bensì da un tensore di diffusione in

grado di descrivere completamente la mobilità delle molecole lungo ogni direzione e la correlazione tra le direzioni medesime. L'espressione è la seguente:

$$D = \begin{bmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{bmatrix} \quad (1.1)$$

I tre elementi sulla diagonale ( $D_{xx}, D_{yy}, D_{zz}$ ) rappresentano la diffusività lungo i tre assi principali e i restanti termini indicano gli spostamenti che avvengono in direzioni perpendicolari. Il tensore di diffusione è un'entità simmetrica, ovvero  $D_{ij} = D_{ji}$  con  $i, j = x, y, z$ ; ciò significa che sono necessari sei termini indipendenti per descriverlo [17]. Dunque, se nel caso di diffusione libera (in acqua per esempio) la perdita di segnale era descritta da:

$$S = S_0 e^{-bD} \quad (1.2)$$

in cui  $S$  ed  $S_0$  indicano rispettivamente l'intensità di segnale in presenza ed in assenza di diffusione e  $b$  rappresenta il fattore di diffusione in pesatura; quando si vuole valutare in modo completo gli effetti di diffusione anisotropa occorre tenere in conto la correlazione tra gli spostamenti molecolari in ogni direzione descritta dal tensore, pertanto la riduzione del segnale assume la seguente forma:

$$S = S_0 \exp\left(-\sum_{i=x,y,z} \sum_{j=x,y,z} b_{ij} D_{ij}\right). \quad (1.3)$$

Calcolare  $b$  diventa più complicato quando vengono utilizzate più direzioni del gradiente di diffusione, ma questa operazione risulta necessaria per una accurata determinazione del tensore e per una analisi sugli effetti della diffusione anisotropa.

Geometricamente parlando, quando si studia l'imaging in diffusione, viene determinato per ogni voxel il cosiddetto ellissoide di diffusione che descrive, ad un tempo fissato, l'ADC delle molecole d'acqua in ogni direzione. Ogni voxel sarà dunque caratterizzato da un ellissoide con forma propria. Nel caso della diffusione isotropa, in cui il coefficiente di diffusione apparente è uguale in tutte le direzioni, la forma dell'ellissoide si riduce ad una sfera. In mezzi anisotropi, invece, la diffusione delle molecole ha una direzione privilegiata rispetto alle altre. I tre assi principali del tensore di diffusione, altrimenti detti *autovalori*, possono essere calcolati diagonalizzando  $D$ :

$$\Lambda = \begin{bmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2 & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_3 \end{bmatrix} = RDR^T \quad (1.4)$$

dove  $R$  è la matrice di rotazione che è composta dagli autovettori del sistema e  $R^T$

la sua trasposta [20].

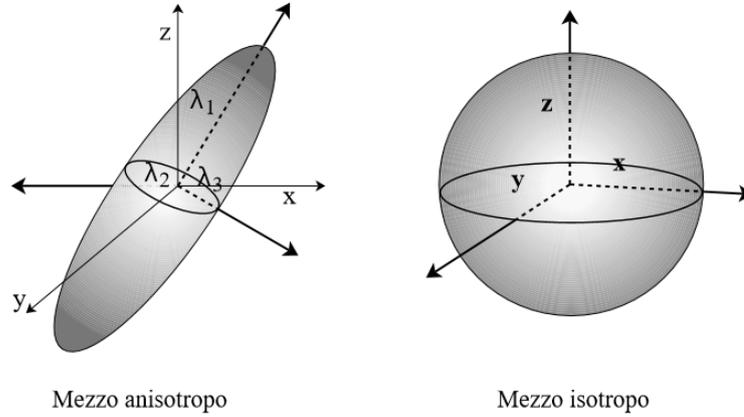


Figura 1.1: Ellissoide di diffusione in mezzo isotropo (a destra) e in mezzo anisotropo (a sinistra) con autovalori  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$ ,  $\lambda_3$  [7].

Una volta definito il tensore di diffusione, risulta possibile ottenere maggiori informazioni a partire dagli autovalori e autovettori che lo caratterizzano: come si può osservare in Figura 1.1,  $\lambda_1$  rappresenta l'autovalore primario, anche detto "*Diffusività Assiale*", in quanto indica il contributo di diffusione delle molecole lungo l'orientazione dominante delle fibre. L'autovalore associato a  $\lambda_1$  è molto importante nello studio trattografico dei fasci di fibre in quanto ne evidenzia la direzione privilegiata. Gli autovalori  $\lambda_2$  e  $\lambda_3$  sono ortogonali a  $\lambda_1$  e rappresentano l'ampiezza di diffusione nel piano trasverso ai fasci assonali. La media aritmetica di questi due prende il nome di "*Diffusività Radiale*".

Attraverso l'imaging del tensore di diffusione (DTI, Diffusion Tensor Imaging), si ha l'opportunità di studiare voxel per voxel la microstruttura tessutale delle regioni d'interesse. Di grande rilievo sono infatti gli indici di diffusione ottenuti dall'analisi del tensore, quali la *Diffusività Media* (MD) e l'*Anisotropia Frazionaria* (FA), che rivestono un ruolo preponderante nell'applicazione di questa tecnica.

La *Diffusività Media* è un parametro che caratterizza lo spostamento quadratico medio delle molecole e quantifica gli ostacoli nella diffusione; per poter fare una valutazione complessiva della zona d'interesse dell'immagine acquisita, è necessario descrivere in modo univoco il sistema e tenere in considerazione i possibili effetti di diffusione anisotropa del tessuto.

Indipendentemente dal sistema di riferimento, la traccia del tensore  $Tr(D) = D_{xx} + D_{yy} + D_{zz}$  è una grandezza invariante per rotazioni e proprio per questo viene utilizzata per caratterizzare l'MD:

$$MD = \frac{(\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3)}{3} = \frac{Tr(D)}{3}. \quad (1.5)$$

L'*Anisotropia Frazionaria* è anch'essa una grandezza invariante e rappresenta il grado di anisotropia, ovvero descrive l'ampiezza degli spostamenti molecolari nel mezzo. L'espressione è la seguente:

$$FA = \sqrt{\frac{3}{2}} \sqrt{\frac{[(\lambda_1 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_2 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_3 - \langle \lambda \rangle)^2]}{(\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2)}} \quad (1.6)$$

in cui  $\langle \lambda \rangle$  è la diffusività media. Questo indice varia nell'intervallo  $[0, 1]$ . Un alto valore di FA indica la presenza di una direzione di diffusione privilegiata, ovvero vi sarà un autovalore molto più grande degli altri due che determinerà l'orientazione dominante dell'ellissoide. Un indice basso indica che le molecole diffondono in un mezzo che tende ad essere isotropo [20].

## 1.2 Imaging di Risonanza Magnetica pesato in diffusione

La risonanza magnetica pesata in diffusione è considerata una tecnica diagnostica di notevole interesse dell'imaging moderno. La sensibilizzazione delle sequenze RM è avvenuta con l'introduzione di gradienti pulsati.

Nel 1965, con Stejskal e Tanner, vengono applicati per la prima volta due gradienti di breve durata. Come da Figura 1.2, il primo gradiente segue un impulso a radiofrequenza (RF) di  $90^\circ$ , il secondo è successivo ad un impulso RF di  $180^\circ$ .

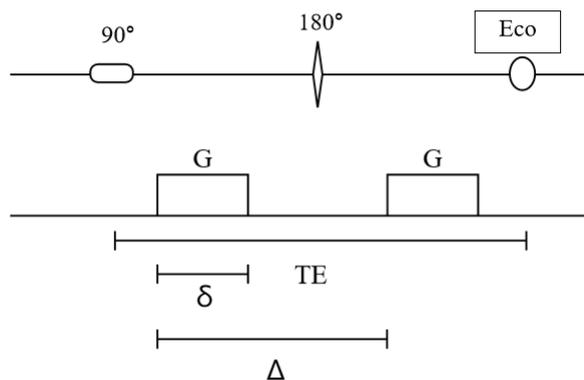


Figura 1.2: Sequenza Spin-Eco con gradienti pulsati [7].

Dalla sequenza Spin-Eco (SE), quello che si osserva perciò è che la fase del sistema ( $\Phi = \gamma G \delta (x_0 - x_i)$ ) dipende dal movimento degli spin: se questi sono stazionari la fase sarà nulla, se si muovono coerentemente la variazione di fase è la stessa ed è calcolabile, se invece lo spostamento è casuale, gli spin assumono,

allo scorrere del tempo, una differenza di fase sempre maggiore e ciò comporta una riduzione del segnale RM [7].

Le limitazioni che riguardano, tuttavia, le sequenze SE sono i tempi di acquisizione delle immagini in pesatura, troppo lunghi per permettere che non vi sia una perdita di segnale eccessivamente elevata. Tornando alla relazione di riduzione di segnale, si esplicita l'espressione nei mezzi anisotropi con ADC:

$$S = S_0 e^{-bADC} \quad (1.7)$$

dove  $b = \gamma^2 G^2 \delta^2 (\Delta - \frac{\delta}{3})$  ( $s/mm^2$ ) esprime il grado di sensibilizzazione della sequenza in diffusione e dipende dalla costante giromagnetica  $\gamma$ , dall'intensità dei gradienti  $G$ , dal loro tempo di durata  $\delta$  e dall'intervallo temporale  $\Delta$  tra un gradiente e il successivo.

Il segnale di RM è fortemente influenzato dal grado di diffusione delle molecole d'acqua: un'alta diffusione porta ad un'elevata perdita di segnale e viceversa. Per ridurre, perciò, la diminuzione di segnale occorre che le molecole d'acqua diffondano più lentamente e quindi che il fattore di sensibilizzazione  $b$  decresca [7].

È stata introdotta una nuova tecnica definita eco-planare (*"Echo Planar Imaging* in sigla EPI) che si serve di alti gradienti e permette di acquisire sequenze di immagini molto più velocemente rispetto alla SE.

Questo aspetto è molto importante poichè vengono notevolmente ridotti gli artefatti causati dai movimenti macroscopici, come i battiti cardiaci o gli atti respiratori, dovuti ai lunghi tempi di acquisizione, ma allo stesso tempo, l'EPI è sottoposto ad artefatti che alterano il campo magnetico, questi sono dovuti alle correnti parassite che si generano da campi magnetici con gradiente in rapida evoluzione.

L'EPI consiste perciò nell'acquisizione di Gradient Echo o Spin Echo contigui tra loro e con diversa codifica di fase, in modo da ricostruire l'immagine di interesse campionando punto per punto lo spazio  $k$  sfruttando la magnetizzazione generata da un solo impulso a RF, come visualizzato in Figura 1.3. Nell'imaging di risonanza magnetica lo spazio  $k$  è quello spazio definito dalle codifiche di fase e frequenza, su di esso sono registrate tutte le linee di codifica di fase tracciate dai differenti gradienti. Quando il gradiente è nullo la linea coincide con l'ascissa di tale spazio, altrimenti viene mappato il piano con diverse linee di ordinata costante [12].

L'EPI è una tecnica molto utilizzata quando si richiedono acquisizioni con tempi contenuti, essa da un lato permette di acquisire interi volumi cerebrali in tempi molto ridotti (dell'ordine di 100  $ms$ ), dall'altro, a causa della repentinà di acquisizione, la risoluzione spaziale è spesso sacrificata e le immagini sono deteriorate dalla presenza di artefatti dovuti alle correnti parassite (particolarmente evidenti a causa dell'utilizzo estensivo dei gradienti di campo magnetico).

Pertanto, dalle sequenze precedentemente descritte, acquisendo più immagini di diversa pesatura in diffusione (con differenti valori di  $b$ ), si possono definire mappe

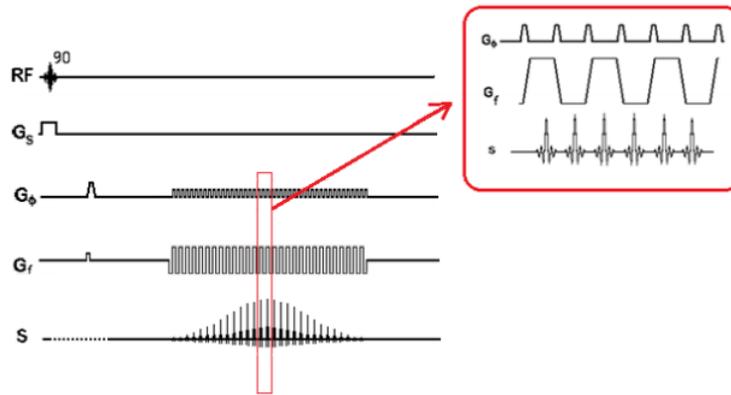


Figura 1.3: Diagramma temporale della sequenza EPI [12].

ADC e di Diffusività Media che garantiscono acquisizioni più specifiche.

L'imaging di risonanza magnetica pesata in diffusione è una tecnica che attualmente è molto utilizzata nella clinica, in particolare nella diagnostica cerebrale. L'utilizzo clinico più diffuso è la rilevazione dell'ictus cerebrale, caratterizzato da un andamento dei valori di ADC specifico dell'andamento temporale del danno ischemico. Più di recente la RM pesata in diffusione è stata utilizzata per ricostruire l'architettura dei fasci di sostanza bianca *in vivo* in modo non invasivo per applicazioni cliniche di valutazione prechirurgica nelle lesioni cerebrali.

### 1.3 Metodi deterministici e probabilistici per il DWI

Grazie alle immagini di risonanza magnetica pesate in diffusione si hanno informazioni riguardo l'orientazione delle fibre cerebrali della sostanza bianca; questo aspetto permette di studiare in modo non invasivo la connettività cerebrale *in vivo* con tecniche di trattografia [29].

Da un punto di vista teorico, il modello del tensore di diffusione è più accurato del modello che considera la diffusività di uno scalare per estrarre le direzioni delle fibre dalle immagini DW di RM, ma nella pratica, dal momento che ogni voxel non può contenere un singolo fascio coerente di fibre, tale modello fallisce quando ci si trova in regioni dove l'orientazione delle fibre è multipla.

La maggior parte delle tecniche che sono state proposte per cogliere più informazioni del segnale DW, si basano sul protocollo HARDI (High Angular Resolution Diffusion-weighted Imaging). Questo metodo prevede di studiare il segnale DW acquisendo un numero molto elevato di direzioni di gradienti DW, rispetto a quante siano necessarie per il DTI; inoltre viene stabilito il modo in cui le diverse fibre passanti per un voxel si dispongono nello spazio [30].

Alcune tecniche che si basano su questo protocollo, si propongono di descrivere come i fasci di fibre si dividano e si incrocino tra loro e stimano la *Funzione di Distri-*

buzione dell'Orientazione di diffusione (dODF) e la Distribuzione di Orientamento delle Fibre (FOD). Esistono diversi metodi che sono volti a stimare la componente delle fibre in un voxel sia in modo discreto sia come distribuzione di orientazione utilizzando approcci multi tensor, deconvoluzione sferica o dipendenza angolare del profilo di diffusione.

Una volta scelto il metodo per studiare il segnale di diffusione, possono essere diversi gli algoritmi attraverso cui si cerca di ricostruire i fasci di fibre; l'obiettivo comune sta nell'individuare i percorsi che interferiscono meno con zone in cui la diffusione è ostacolata. Esistono in linea di massima due criteri per generare le traiettorie: uno di tipo deterministico ed uno probabilistico.

Il Tracking deterministico o di "streamline" mira a rappresentare la direzione dominante dei tratti assonali [20]. Punto per punto viene individuata l'orientazione di diffusione principale in modo da ricostruire le linee di flusso (o streamlines), come in Figura 1.4.

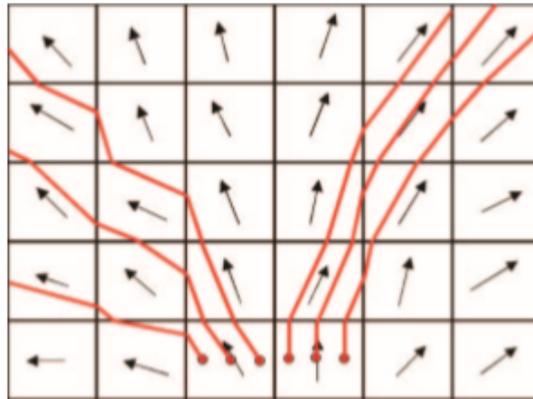


Figura 1.4: Metodo deterministico. Le frecce stanno ad indicare l'orientazione privilegiata e le linee in rosso le streamlines ricostruite [20].

In ciascun voxel, la direzione dell'autovalore principale coincide con l'orientazione media di una singola fibra. Questo metodo è accurato nel caso in cui ci si trovi in regioni omogenee in cui effettivamente il cambio di direzioni dominanti sia dell'ordine di grandezza del voxel.

Le principali cause d'errore che rendono questo approccio impreciso sono:

- il rumore delle immagini che provoca una minore sensibilità nell'individualizzazione delle direzioni dominanti di diffusione per ogni voxel;
- l'errore di modellizzazione anatomica; i tratti di sostanza bianca possono essere più complicati di come siano stati modellizzati.

Generalmente questi errori si sommano man mano si iteri l'algoritmo, e a causa di ciò i tratti ricostruiti potrebbero non essere così accurati.

Se l'algoritmo deterministico effettua per ogni voxel una sola stima dell'orientamento e trascura ogni fonte di errore, quello probabilistico incorpora in sé le incertezze previste e genera una distribuzione di possibili traiettorie per ciascun voxel. Le aree che contengono una maggiore densità di queste traiettorie stanno ad indicare una maggiore probabilità di connessione [10]. Il vantaggio della tecnica probabilistica risiede nel poter determinare un tratto laddove il metodo deterministico si interrompe, ovvero nelle regioni (a bassa anisotropia) in cui si ha una distribuzione minore e quindi una maggiore incertezza.

## 1.4 Deconvoluzione Sferica

Nel metodo di Deconvoluzione Sferica (SD) viene stimata la distribuzione dell'orientamento delle fibre direttamente dai dati di RM pesata in diffusione ad alta risoluzione angolare senza la necessità di ipotesi preliminari riguardo al numero di popolazioni di fibre presenti [32].

Il segnale in DW di un campione di popolazioni di fibre multidirezionate può essere espresso come la convoluzione in coordinate sferiche di una funzione di risposta  $R(\theta)$  moltiplicata per la FOD:

$$S(\theta, \phi) = R(\theta)F(\theta, \phi) \quad (1.8)$$

in cui la funzione di risposta rappresenta l'intensità di segnale, misurata come la funzione di orientazione di un fascio composto da una singola fibra allineato lungo un asse principale, e la FOD ( $F(\theta, \phi)$ ) rappresenta la somma delle frazioni di popolazioni di fibre lungo tutte le orientazioni.

Quando si conosce l'attenuazione di segnale e la relativa funzione di risposta, la FOD si ricava applicando come operazione inversa la Deconvoluzione Sferica.

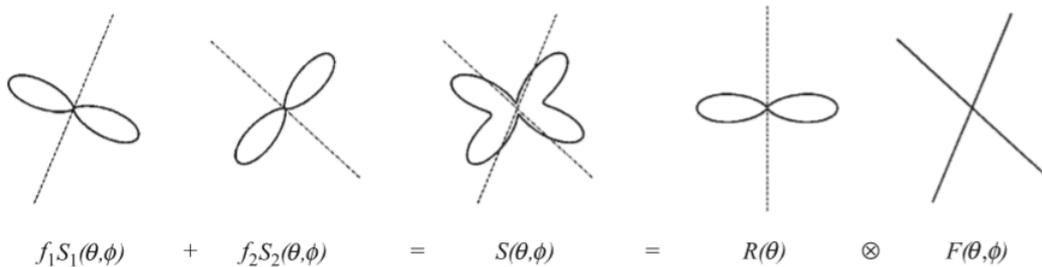


Figura 1.5: Sono rappresentati due fasci di fibre con orientazioni differenti  $f_1S_1(\theta, \phi)$  e  $f_2S_2(\theta, \phi)$  che sommate tra loro restituiscono il segnale DW e l'equazione 1.8 [32].

Questa tecnica, che prevede di utilizzare serie di armoniche sferiche e rotazionali, è il processo inverso della convoluzione sferica che può essere spiegata come un insieme di rotazioni di una funzione definita su una sfera o, matematicamente parlando,

come una moltiplicazione di matrici di specifico ordine armonico. Tuttavia, uno dei principali problemi dell'operazione di deconvoluzione, è l'alta sensibilità al rumore. A causa di ciò si riscontrano artefatti fisicamente impossibili, per esempio si vengono a formare regioni negative nell'FOD. Per sfruttare comunque le potenzialità di questo metodo, è stato applicato un filtro in grado di ridurre la comparsa di valori negativi del FOD. L'introduzione della nuova tecnica CSD (*Constrained Spherical Deconvolution*) ha reso possibile l'esecuzione della SD riducendo notevolmente la suscettibilità al rumore [31] [32].

## 1.5 Trattografia

Il metodo di risonanza magnetica che prende il nome di Trattografia permette di tracciare mappe di connettività del cervello e di ricostruire le traiettorie dei principali fasci di sostanza bianca costituiti ciascuno di "*streamlines*", ovvero di fibre virtuali. In particolare, l'uso della trattografia nella clinica e nella neuroscienza ha permesso di fare un grande passo avanti nell'esplorazione dell'architettura cerebrale poiché questo è l'unico metodo applicabile *in vivo* e in modo non invasivo.

Negli anni recenti la trattografia ha fornito sempre più informazioni sulla struttura geometrica dei tratti di sostanza bianca e sulle loro proprietà microstrutturali. L'analisi trattografica fa sì che si possano disegnare le strutture cerebrali di singoli individui e permette di metterle a confronto regioni analoghe, anche se si notano differenze morfologiche [29].

I metodi di trattografia non si basano più su una stima dei parametri di interesse mediata lungo il tratto considerato. Da soggetto a soggetto e, in particolare, lungo lo stesso tratto, si notano evidenti differenze anatomiche che verrebbero trascurate se si conducesse prettamente un'analisi mediata.

Per evitare che l'efficacia di questa tecnica si riduca, il processo diffusivo descritto dagli indici di diffusione non può più limitarsi ad una media lungo il tratto, bensì è necessario che si faccia un'analisi che contempi le variazioni dei parametri di diffusione voxel per voxel. La mappatura cerebrale *voxelwise* è un importante complemento alla trattografia che ottimizza l'analisi della sostanza bianca e dei dati di imaging.

La trattografia permette di ricostruire i fasci nervosi attraverso un'analisi "along-tract" lungo il tratto di interesse. Con questa tecnica ci si propone di delineare la geometria, segmento per segmento, di uno specifico tratto nello spazio e di identificare i parametri di diffusione MD e FA come valori lungo segmenti specifici che vanno a costituire il tratto.

La *Fractional Anisotropy* ne è un esempio evidente: studiando una mappa FA si può constatare come questo parametro vari ampiamente nella sostanza bianca. Esso oscilla tra valori molto bassi nella transizione alla sostanza grigia della corteccia

(inferiori a 0,2) a valori molto alti (superiori a 0,8) in zone fortemente coerenti come in prossimità del corpo calloso.

Se si considerasse solamente la media dei valori medi di FA nei principali tratti di sostanza bianca si stimerebbe un valore compreso tra 0,4 e 0,6 che, come detto in precedenza, non garantirebbe un'analisi accurata, poichè si perderebbero dettagli ed informazioni potenzialmente interessanti fornite dai valori inferiori o superiori all'intervallo medio [0,4;0,6] [8].

Pertanto, con queste tecniche trattografiche la materia bianca non è più un argomento di interesse generale, tuttavia diventa una fonte di studio sempre più specifica e mirata al dettaglio.

## Capitolo 2

# La sostanza bianca e i tratti di interesse

Il Sistema Nervoso Centrale (SNC) ha il ruolo sia di inviare informazioni al sistema nervoso periferico (sistema efferente) sia di ricevere informazioni dal sistema periferico (sistema afferente) ed è composto da encefalo e midollo spinale ed i tessuti di cui è costituito sono formati da cellule di tipo nervoso, i neuroni. Questi trasportano informazioni di tipo motorio e sensoriale, la loro struttura è formata da un corpo cellulare che contiene il nucleo, dai dendriti che sono dei prolungamenti che captano lo stimolo nervoso proveniente da altri neuroni ed infine dagli assoni che diffondono il segnale ad altri neuroni o ad altri organi. La sostanza bianca e la sostanza grigia sono i due tessuti che vanno a formare il SNC [4]; ciò che le distingue è la mielina, una sostanza di struttura lamellare costituita principalmente da proteine e lipidi. Tenzialmente di colore bianco, ricopre gli assoni e dà il nome alla sostanza di cui questi sono parte costituente. Nel midollo spinale, i neuroni della sostanza bianca si uniscono in fasci che decorrono dal SNC alle vie priferiche o viceversa. I primi sono detti tratti discendenti e trasportano stimoli motori, i secondi sono tratti ascendenti e portano segnali di tipo sensoriale.

### 2.1 Tratto cortico-spinale

Il tratto cortico-spinale (CST), in Figura 2.1, è una dei fasci discendenti del SNC di maggior importanza in quanto coordina le principali attività motorie volontarie [1] [34].

Anatomicamente parlando, gli assoni costituenti il CST, in corrispondenza della giunzione tra tronco encefalico e midollo spinale, formano la decussazione piramidale. Questo comportamento chiasmico dell'organismo dimostra che il lato destro del cervello controlla il lato sinistro del midollo spinale e viceversa. La maggior parte degli assoni che vanno a costituire il tratto ha origine nella corteccia moto-

ria, nelle Aree 4 e 6 di Broadmann. Entrambe sono collocate nel lobo frontale e rispettivamente sono anche conosciute come "corteccia motoria primaria" e "corteccia premotoria". I restanti assoni sono generati da aree somatosensoriali del lobo parietale.

Lo studio della corteccia motoria ha interessato molti neurochirurghi come il Dott. Wiler Penfield, conosciuto come l'ideatore dell'Homunculus motorio. Stimolando elettricamente varie aree della corteccia di pazienti affetti da epilessia, riscontrò che agli stimoli in determinate zone cerebrali corrispondevano contrazioni muscolari ben localizzate [3]. Potendo identificare, perciò, quali aree del cervello si attivano in uno specifico movimento, è stato possibile realizzare una mappa completa della corteccia motoria che indica la posizione e la quantità di corteccia riservata alla motorietà di ogni parte del corpo. Il risultato è un omuncolo distorto a causa della non proporzionalità tra la dimensione della corteccia e la dimensione della parte corporea a cui è associata: più fine è il movimento, maggiore è la rappresentazione corticale, poichè ci sono molti più neuroni che controllano un particolare distretto (per esempio la mano).

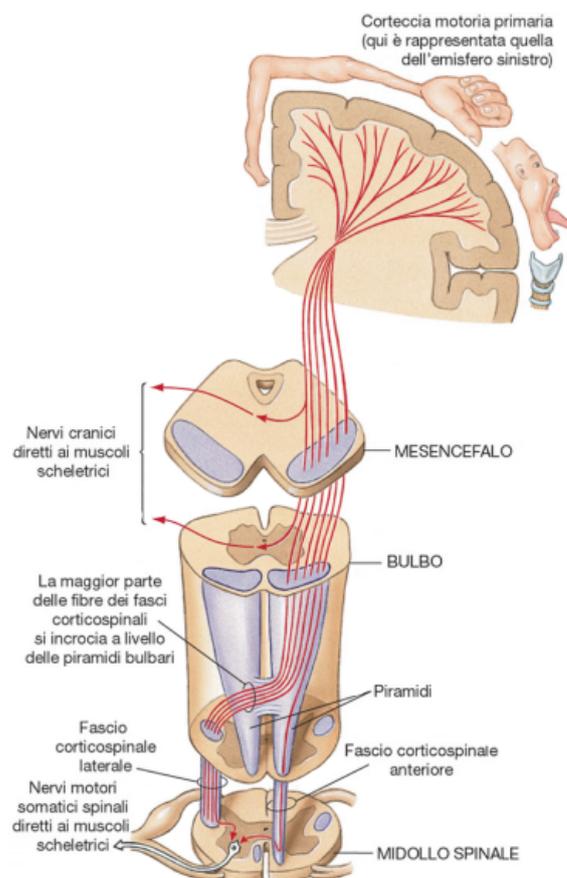


Figura 2.1: Nel sistema piramidale il fascio cortico-spinale ha origine nella corteccia primaria in cui si può osservare il diagramma di Penfield dell'omuncolo motorio, e prosegue nel bulbo, nella decussazione piramidale, fino al midollo spinale [24].

Il cortico spinale è un tratto del sistema piramidale costituito da circa un milione di neuroni motori: la metà di questi viene generata nella corteccia motoria primaria che si trova nel giro precentrale del lobo frontale, un terzo del fascio proviene dall'area premotoria situata anteriormente rispetto alla precedente. Le restanti fibre provengono dalla corteccia somatosensitiva e monitorano e trasmettono i segnali afferenti ad altre zone cerebrali.

Il CST in prossimità del ponte si suddivide in piccoli fasci che all'altezza del bulbo si raggruppano andando a formare la piramide bulbare. Tra il bulbo e il midollo la maggior parte di queste fibre decussano e discendono il midollo spinale con il nome di "tratti corticospinali laterali", quelle che decorrono senza incrociarsi prendono il nome di "tratti corticospinali anteriori".

## 2.2 Radiazione ottica

Le vie nervose rappresentano il mezzo attraverso cui l'informazione visiva viene trasmessa dalla retina a particolari aree della corteccia cerebrale. Studiare il percorso della sostanza bianca ha molti utilizzi nel campo clinico ed è fondamentale per comprendere il processo neurologico visivo. Il nervo ottico, che fa parte del SNC in quanto gli assoni che lo costituiscono sono ricoperti di mielina, proviene dalla retina e raggiunge il chiasma dove avviene una decussazione delle fibre terminando nel nucleo genicolato laterale (LGN) [23]. I corpi genicolati laterali fungono da centri di controllo ed elaborazione delle informazioni visive che vengono riflesse e inviate al tronco encefalico e alla corteccia cerebrale.

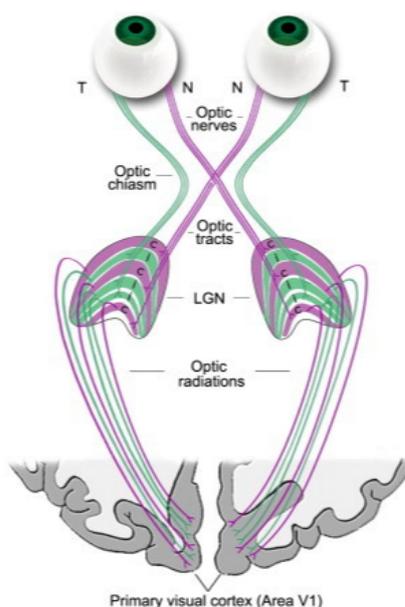


Figura 2.2: Sistema visivo, la radiazione ottica ha origine dai nuclei genicolati laterali (LGN) e termina nella corteccia visiva primaria (V1) [14].

L'insieme degli assoni che dal LGN si dirige verso la fessura calcarina nel lobo occipitale è detto Radiazione Ottica (OR). Rispetto al nervo e tratto ottico che sono ben identificabili grazie alla loro compattezza, la struttura di questo fascio di sostanza bianca, osservabile in Figura 2.2, assume una forma a ventaglio: le fibre poste inferiormente girano intorno alla punta del corno temporale formando l'*Ansa di Meyer*, quelle che passano superiormente, invece, raggiungono la parte sovrastante della corteccia posteriore.

Il tragitto del fascio finisce nella corteccia visiva costituita principalmente dalla corteccia striata V1 ma anche dalle aree visive corticali extra striate (V2-V5) [19]. La V1 corrisponde all'area 17 di Brodmann, essa è in grado di codificare l'informazione visiva, infatti la parte inferiore della fessura calcarina risponde alla parte superiore del campo visivo e viceversa.

# Capitolo 3

## Metodi e Materiali

### 3.1 Soggetti

Sono stati studiati venti soggetti adulti sani con un età media di 42,6 anni (compresi in un intervallo tra i 18 e i 64 anni) e con deviazione standard pari a 14,8 anni. Il gruppo di controllo, reclutato dall'Unità di RM funzionale del Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie dell'Università di Bologna, è costituito da 13 uomini e 7 donne tra i quali nessuno presenta passati o attuali disturbi psichiatrici e neurologici.

Tutte le acquisizioni effettuate presso l'Ospedale Bellaria di Bologna risalgono al 2018. I partecipanti sono stati sottoposti ad un protocollo di MRI cerebrale standardizzato con pesatura in  $T_1$  e in diffusione (DW). Le scansioni MRI sono state acquisite su uno scanner Siemens 3T con dimensione del voxel DWI di  $2.0 \times 2.0 \times 2.0 \text{ mm}^3$  e sono state ottenute con la sequenza SE-EPI a singolo shot, con  $TE = 98 \text{ ms}$  e  $TR = 4300 \text{ ms}$ . Sono stati applicati gradienti in diffusione in 64 direzioni con  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$  e 5 volumi con  $b = 0$ , e in 30 a  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$  e 5 volumi con  $b = 0$ .

### 3.2 Preprocessing

Il software MRtrix3 è un open source di elaborazione, analisi e visualizzazione di immagini mediche che facilita la loro manipolazione e ne offre diverse opzioni di visualizzazione con il programma MRView. Un'altra library per lo sviluppo delle tecniche di analisi di immagini mediche è FSL, un pacchetto di strumenti di analisi dati di imaging cerebrale di RM funzionale, strutturale e di diffusione. I dati di imaging sono stati elaborati servendosi delle funzioni di FSL ed MRtrix3.

Sono stati utilizzati codici precedentemente realizzati presso l'unità di RM funzionale del Policlinico S.Orsola di Bologna.

Tra questi:

- script bash di generazione delle streamlines del fascio della radiazione ottica;
- script bash di registrazione dalla T1 allo spazio MNI152;
- script bash di creazione della Group Variability (GV) del campione di controllo.

### 3.3 Ricostruzione Trattografica

Per ricostruire i fasci di fibre di sostanza bianca occorre conoscere il segnale atteso di un singolo fascio di assoni orientato in modo coerente all'interno di ogni voxel. Questo segnale si ottiene dalle funzioni di risposta, che, come illustrato nella Sezione 1.4, rappresentano il prerequisito della deconvoluzione sferica.

Con il software MRtrix3 è possibile stimare le funzioni di risposta utilizzando il metodo *dwi2response*<sup>1</sup> in grado di elaborare delle differenti serie di algoritmi applicabili a seconda del tessuto.

L'algoritmo utilizzato per la ricostruzione trattografica del tratto cortico-spinale e della radiazione ottica è il *dwi2response tournier*. Si tratta di un procedimento di tipo probabilistico che analizza voxel formati da singole fibre e che stima una funzione di risposta utilizzata nella CSD di un tessuto. Quando si applica la CSD ad un singolo tessuto, attraverso il comando *dwi2fod csd*, l'algoritmo di Tournier è idoneo ed affidabile per la stima della funzione di risposta.

Una volta scelto l'algoritmo trattografico, sono stati ricostruiti i tratti di interesse utilizzando la funzione *tckgen*<sup>2</sup> che è in grado di produrre un numero preciso di linee di flusso in una determinata area spaziale.

Dati i volumi pesati in diffusione alle diverse direzioni del gradiente e calcolata la funzione di risposta, sono state definite delle particolari regioni di inclusione ed esclusione che filtrano la selezione delle fibre virtuali: rispettivamente, tutte le linee accettate saranno quelle necessariamente passanti per le aree incluse e tutte quelle che attraversano zone di esclusione saranno rigettate.

La ricostruzione del tratto cortico-spinale è avvenuta scegliendo come *seed* di partenza la *PLIC*, una regione di sostanza bianca costituente il braccio posteriore della capsula interna. Le regioni attraverso cui le fibre nervose sono state vincolate a passare sono il giro precentrale, corrispondente all'area 4 di Brodmann, e il ponte, situato nel tronco encefalico. Applicati tutti i criteri, le streamlines effettivamente selezionate dalla funzione *tckgen* sono 2000.

Per quanto riguarda la radiazione ottica, le linee di flusso selezionate sono quelle passanti per il nucleo genicolato laterale e la corteccia visiva.

<sup>1</sup><https://mrtrix.readthedocs.io/en/latest/reference/scripts/dwi2response.html>

<sup>2</sup><https://mrtrix.readthedocs.io/en/latest/reference/commands/tckgen.html>

### 3.4 Suddivisione "along-tract"

Definiti i fasci di interesse, ogni streamline di assoni viene ricampionata: con la funzione *tckresample*<sup>3</sup> viene definito un numero specifico di vertici lungo il tratto. A seconda delle zone di inclusione ed esclusione definite al momento della ricostruzione, il tratto segue una specifica traiettoria sulla quale poter identificare le coordinate dei vertici fissati. Sono stati, perciò, forniti gli estremi del ricampionamento dei tratti e il numero di segmenti al loro interno, ovvero il passo tra un vertice e il successivo, definendo così una suddivisione "along-tract".

Nella segmentazione del tratto cortico-spinale è stata presa come origine del fascio il vettore  $(x, y, z)$  rappresentante il centro di gravità del ponte e, come fine, il centro di gravità del giro precentrale della corteccia. La suddivisione "along-tract" della radiazione ottica ha come punti di inizio e fine rispettivamente i centri di gravità della corteccia visiva primaria (V1) e del nucleo genicolato laterale. Entrambi i tratti di fibre sono segmentati in 20 parti. La scelta di questo numero di segmenti è compatibile con le dimensioni dei voxel e degli stessi tratti.

Il voxel è un cubo di  $2.0 \times 2.0 \times 2.0 \text{ mm}^3$ , mentre i fasci studiati hanno pressoché una lunghezza di 40 cm. Nella pratica, per far sì che i segmenti fossero ben identificabili, si è deciso di realizzare una suddivisione "along-tract" di 20 segmenti in modo tale che questi ultimi non fossero di lunghezza minore rispetto a quella del singolo voxel.

Alla traccia ricampionata viene associata un'immagine di riferimento sulla base di cui poter raccogliere in un file .txt i valori degli indici di diffusione distribuiti lungo il tratto selezionato in corrispondenza dei vertici fissati. In particolare con la funzione *tcksample*<sup>4</sup> di MRtrix sono stati tracciati i profili destri e sinistri per il CST e la OR dei valori di MD ed FA a  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$  e  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$  per ciascuna streamline.

Essendo stato fissato a 20 il numero di segmenti per entrambi i tratti, sono 20 anche i valori di FA ed MD misurati lungo il percorso del CST e dell'OR. Andando a studiare l'andamento dei parametri ottenuti, è stato constatato che, in alcuni casi, i valori relativi al primo o ultimo segmento del tratto non sono stati registrati, probabilmente perché qualche streamline, nella fase di ricampionamento, non può essere divisa in 20 segmenti di uguale lunghezza.

Per poter analizzare streamlines comparabili tra loro è stato ridotto a 19 il numero di segmenti di ciascuna fibra e dunque dell'intero tratto studiato.

La visualizzazione "along-tract" dei vertici è stata resa possibile utilizzando una serie di funzioni di MRtrix3 ed FSL. Il metodo *tckconvert*<sup>5</sup> prende le coordinate di ciascun punto espresse nel sistema di riferimento dello scanner e le converte nel

---

<sup>3</sup><https://mrtrix.readthedocs.io/en/latest/reference/commands/tckresample.html>

<sup>4</sup><https://mrtrix.readthedocs.io/en/latest/reference/commands/tcksample.html>

<sup>5</sup><https://mrtrix.readthedocs.io/en/latest/reference/commands/tckconvert.html>

sistema di riferimento dei voxel, in modo da poter essere lette dal visualizzatore MRView. Su una mappa FA sono state create delle regioni di interesse (ROI) di forma sferica corrispondenti alle coordinate in voxel dei 19 punti lungo i tratti CST e OR.

Per un'analisi di gruppo, servendosi del codice già realizzato, sono state registrate trasformazioni da immagini T1 allo spazio MNI152 ottenendo così, su atlanti pesati, delle mappe di distribuzione dei tratti studiati dell'intero gruppo di controllo. Nel caso della radiazione ottica è stata effettuata un'operazione di threshold al 2% sulle streamlines così da poter ottenere una sagoma più nitida del tratto escludendo in questo modo zone con una distribuzione delle fibre quasi nulla.

### 3.5 Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata con MATLAB R2016a. Sono stati calcolati i valori mediani dei parametri FA ed MD a  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$  ed a  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$  lungo i tratti CST e OR, in quanto le distribuzioni non erano di tipo gaussiano. Questa operazione è stata ripetuta per entrambi gli emisferi in modo tale da potere confrontare destra e sinistra dello stesso tratto dei 20 soggetti del corpo di controllo.

Il confronto è avvenuto utilizzando il test di Wilcoxon (Wilcoxon signed-rank) invocato con la funzione di MATLAB *signrank*<sup>6</sup>. Questo test, utilizzato per l'appunto per statistiche non parametriche, ha lo scopo di rilevare le differenze tra i ranghi dei due campioni paragonando ogni coppia di dati. Si verifica l'ipotesi nulla quando i dati provengono da una distribuzione la cui mediana è uguale a zero al livello di significatività del 5%, ottenendo così una stima dell'intervallo di confidenza.

Il valore  $p$  fornisce la risposta a questo test: con  $p < 0,05$  il test rigetta l'ipotesi nulla che la mediana sia zero; con  $p > 0,05$  si indica un mancato rifiuto di ipotesi nulla al livello di significatività di 5%.

Con la funzione di MATLAB *fdr\_bh*<sup>7</sup> sono stati valutati i valori di  $p$  inferiori a 0,05 e sono stati corretti i casi falsi positivi. Il metodo FDR (False Discovery Rate) per confronti multipli si propone di calcolare la probabilità limite per decidere se rigettare o meno un insieme di ipotesi e rappresenta il numero di falsi positivi respinti.

---

<sup>6</sup><https://www.mathworks.com/help/stats/signrank.html>

<sup>7</sup>[https://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/27418-fdr\\_bh](https://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/27418-fdr_bh)

# Capitolo 4

## Risultati

### 4.1 Ricostruzione trattografica e mappe di variabilità

Con il visualizzatore MRView sono stati graficati i tratti di interesse; nello specifico sono stati visualizzati i fasci ricostruiti con la funzione *tkgen* una volta applicati tutti i criteri. Il fascio cortico-spinale di Figura 4.1(a) è compatto lungo

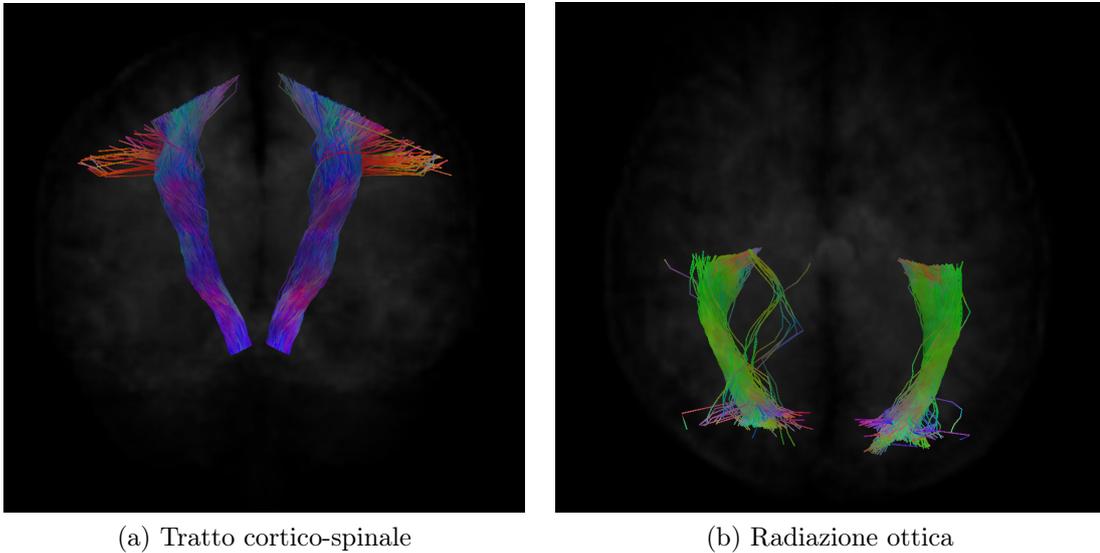


Figura 4.1: Sulla base del modello RGB, si associa un colore differente a seconda della direzione della fibra: in *rosso* (R) sono indicate le streamlines che si muovono da destra a sinistra, in *verde* (G) quelle che decorrono in direzione anteriore-posteriore ed in *blu* (B) quelle con direzione superiore-inferiore. In figura sono riportate le ricostruzioni trattografiche per un soggetto del gruppo acquisite a  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$ .

il suo percorso e si espande in prossimità della corteccia cerebrale. La radiazione ottica, invece, presenta degli artefatti: come si può notare dalla Figura 4.1(b), ci

sono alcune streamlines che fuoriescono dalla traiettoria principale del fascio. Ciò è probabilmente dovuto alla scelta del *seed* che, essendo ad un estremo del tratto, vincola in minor modo il percorso delle fibre.

Con FSLeyes è stato possibile visualizzare con l'opzione *lightbox* una serie di fette adiacenti disposte lungo un singolo piano. Le immagini raccolte sono le Figure 4.2 e 4.3.

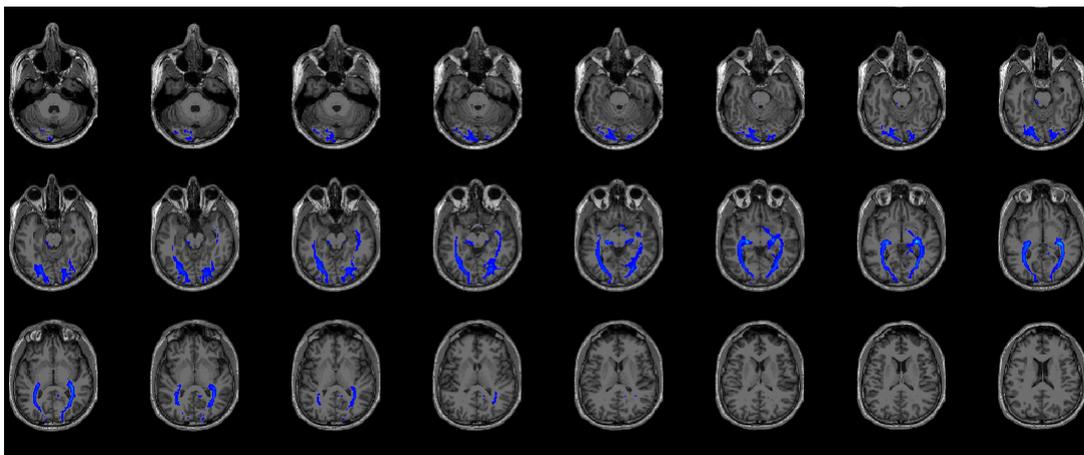


Figura 4.2: Fette nel piano assiale. In blu sono rappresentate le linee di flusso della radiazione ottica.

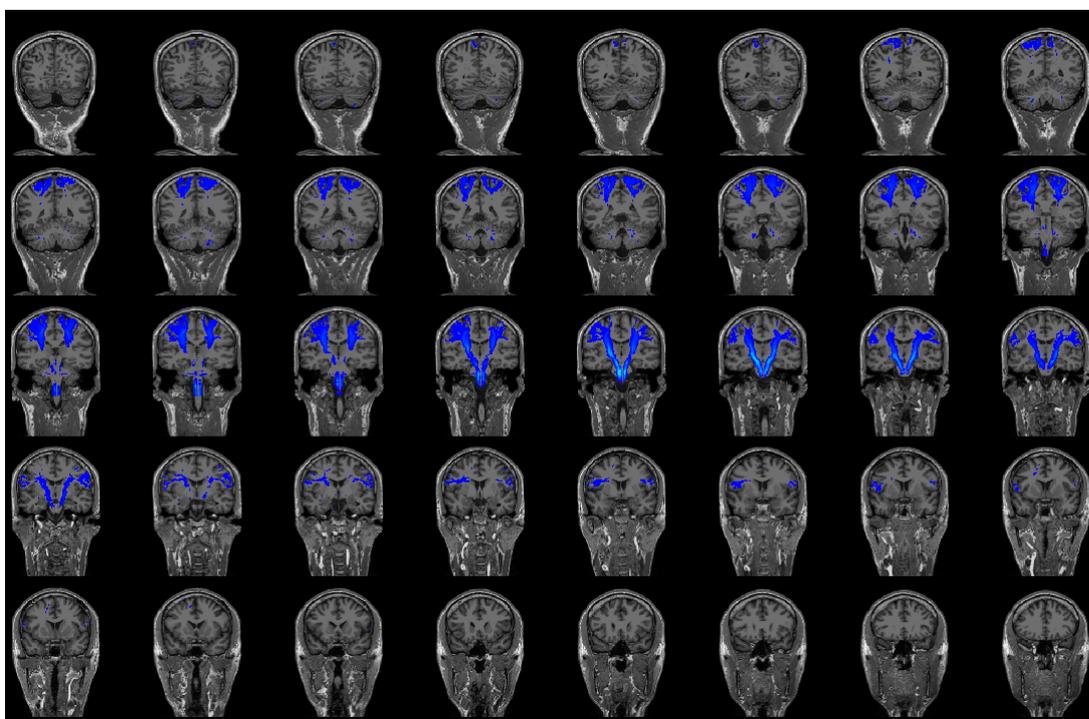


Figura 4.3: Fette nel piano coronale. In blu sono rappresentate le linee di flusso del tratto cortico-spinale.

In Figura 4.2 si osserva il percorso cerebrale della radiazione ottica: nel piano assiale, su una mappa dell'encefalo pesata in T1, si può vedere, fetta per fetta, come si dispongono le streamlines costituenti il fascio. In Figura 4.3 si osserva, invece, il percorso cerebrale del tratto cortico-spinale: su una mappa dell'encefalo pesata in T1, si possono vedere le fibre del fascio su ciascuna fetta encefalica nel piano coronale.

Visto il flusso di streamlines di un solo soggetto, sono state ottenute delle stime estese su tutto il gruppo di controllo. Dopo aver registrato i tratti di ogni soggetto all'MNI, sono state realizzate delle mappe di variabilità sullo spazio MNI-152 che descrivono la distribuzione delle fibre virtuali dei 20 soggetti del campione.

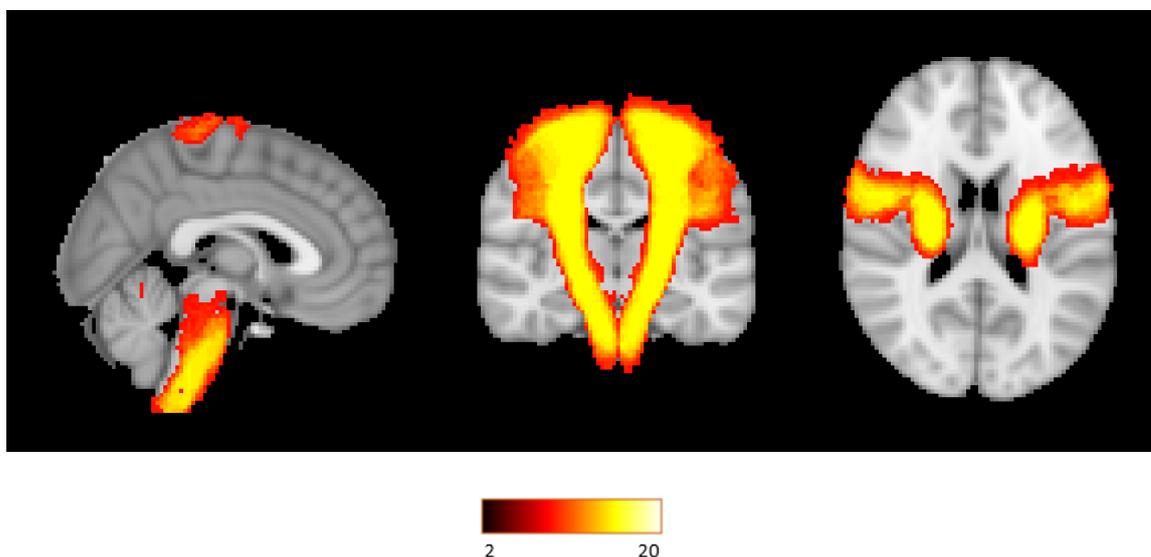


Figura 4.4: Mappa di variabilità del tratto cortico-spinale visualizzata con FSLeyes sui tre piani (da sinistra a destra): sagittale, coronale, assiale. La distribuzione delle fibre varia con la sfumatura di colore: parte da un minimo di 2 soggetti per voxel (rosso scuro) ad un massimo di 20 soggetti (giallo chiaro), ovvero il campione completo.

Osservando la Figura 4.4, si nota come la distribuzione delle fibre lungo il tratto cortico-spinale sia ben definita dal ponte alla *PLIC*, ed assuma una forma a ventaglio in prossimità della corteccia cerebrale. Questa diramazione, come atteso, sta a rappresentare l'ampia porzione di cervello dedicata all'area motoria da cui le fibre del tratto rilevano il segnale e lo inviano alle vie periferiche.

Da questa mappa è possibile dare una descrizione quantitativa dell'andamento del tratto per tutti e 20 i soggetti: nella corteccia la variabilità è maggiore, vi è, perciò, un numero più alto di voxel con una bassa concentrazione di streamlines; correndo lungo il tratto, la zona definita dalla *PLIC* al ponte evidenzia un'alta concentrazione di fibre ben localizzate.

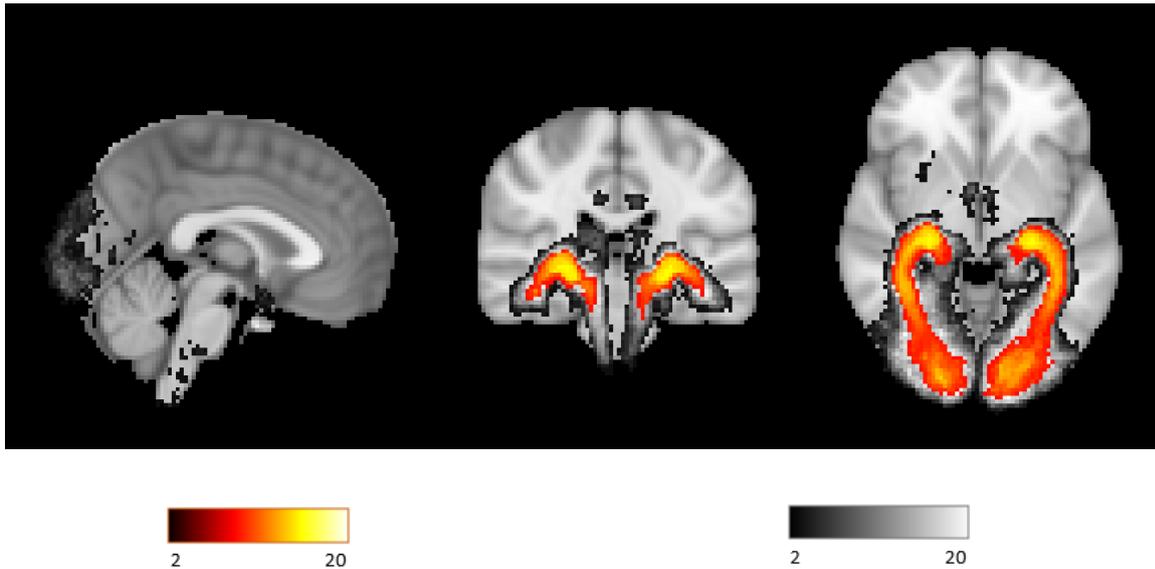


Figura 4.5: Mappa di variabilità della radiazione ottica visualizzata con FSLeyes con operazione di threshold (rosso-giallo) e senza (nero-bianco) sui tre piani (da sinistra a destra): sagittale, coronale, assiale. La distribuzione delle fibre varia con la sfumatura di colore: parte da un minimo di 2 soggetti per voxel ad un massimo di 20 soggetti, ovvero il campione completo.

In Figura 4.5 si può vedere chiaramente come la variabilità delle streamlines della radiazione ottica sia più ampia. Come già osservato in Figura 4.1(b), il fascio di streamlines di un singolo soggetto non è compatto, ma ha alcune fibre che "de-ragliono" in direzioni proprie; questo comportamento è il medesimo nella mappa di variabilità in cui l'andamento delle distribuzioni del corpo di controllo non è ben definito. Le aree sfumate dal nero al bianco mostrano palesemente come la radiazione ottica sia interessata dalla presenza di artefatti. Per questo motivo si applica una correzione in grado di fornire un profilo più "pulito" del tratto in questione. Viene utilizzata una threshold, ovvero un filtro di soglia in grado di ridurre il numero di streamlines che non seguono la direzione principale del tratto. Il risultato di questa limitazione evidenzia una circoscrizione delle zone a più alta concentrazione delle linee di flusso; in Figura 4.5, la mappa di variabilità sogliata è indicata dai colori che sfumano dal rosso al giallo.

## 4.2 Visualizzazione dei segmenti "along-tract"

Per una visualizzazione ed uno studio più avanzato dei tratti, è stata eseguita una analisi mirata ad evidenziare regioni di interesse (ROI) "along-tract". In particolare, sono state graficate delle sfere di raggio 1 voxel in corrispondenza dei 19 centri di gravità fissati lungo i fasci.

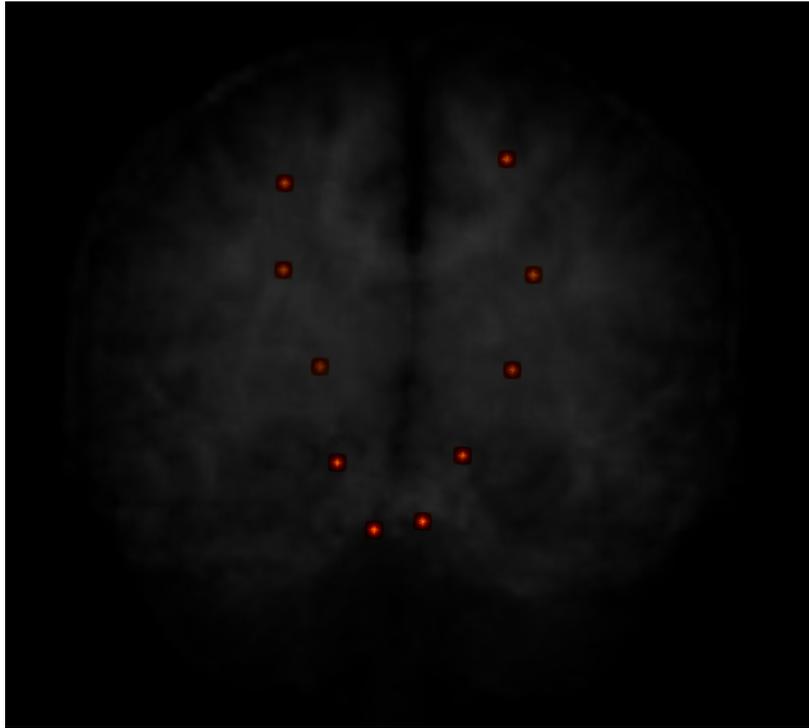


Figura 4.6: Segmentazione del tratto cortico-spinale. Sono graficate cinque ROI "along-tract" su mappa FA.

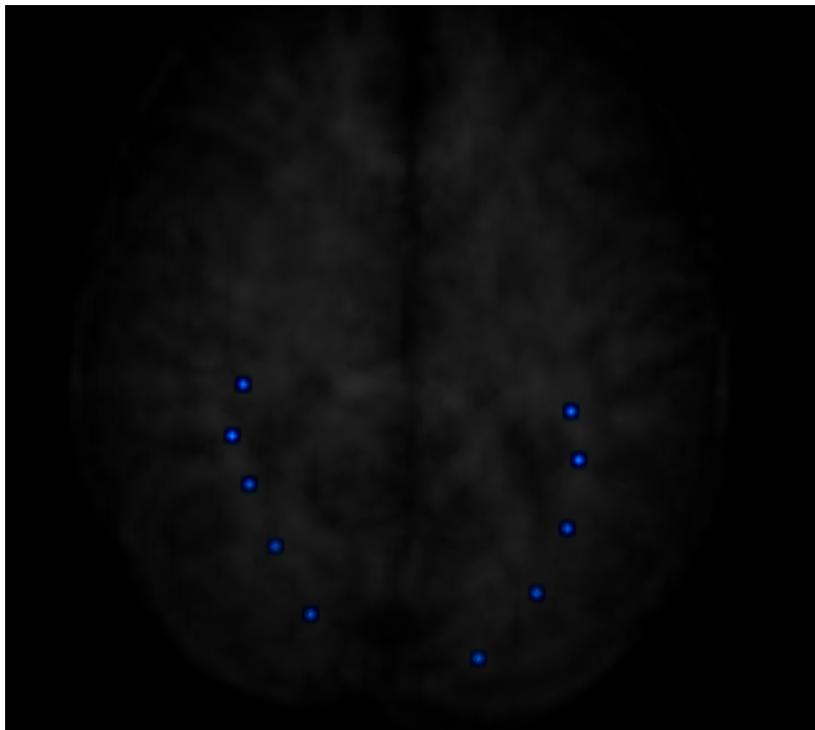


Figura 4.7: Segmentazione della radiazione ottica. Sono graficate cinque ROI "along-tract" su mappa FA.

Il risultato ottenuto, visibile in Figura 4.6 e Figura 4.7, permette di approcciarsi ad un'analisi "along-tract" più specifica e offre la possibilità di eseguire studi e considerazioni più accurati e localizzati lungo i tratti.

Il tratto cortico-spinale, segmentato in Figura 4.6, è facilmente identificabile sul piano coronale, la direzione principale del flusso di streamlines è superiore-inferiore.

La traiettoria seguita dalla radiazione ottica in Figura 4.7 è visibile chiaramente sul piano assiale, infatti, la direzione principale del fascio di fibre è antero-posteriore.

### 4.3 Differenze "along-tract" dei parametri di diffusione

Al fine di studiare le differenze specifiche "along-tract", sono state condotte delle analisi trattografiche relative all'andamento dei parametri di diffusione FA ed MD lungo i due tratti di interesse. Sono stati perciò messi a confronto gli indici dei 19 segmenti tra i fasci dell'emisfero sinistro e destro e sono poi state discusse le disparità di diffusività acquisendo a  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$  e a  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$ .

Dalle Figure 4.8, 4.9, 4.10, e 4.11 è stato possibile osservare come, in alcuni casi, l'andamento dei tratti destri e sinistri sia asimmetrico, inoltre è stato interessante porre attenzione sulle differenze significative tra le acquisizioni a 30 direzioni ( $b = 1000 \text{ s/mm}^2$ ) ed a 64 direzioni ( $b = 2000 \text{ s/mm}^2$ ).

Le asimmetrie più evidenti dell'*Anisotropia Frazionaria* si registrano in corrispondenza del sesto e del diciassettesimo segmento di Figura 4.8(a), in cui si ha un FA più alto nel tratto sinistro, e nella zona anteriore della radiazione ottica di Figura 4.10(a). L'andamento asimmetrico della *Diffusività Media*, invece, è meno accentuato di quello del FA e si può notare qualche caso di disparità in Figura 4.9.

Per spiegare le differenze emerse dal confronto dei grafici a  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$  e a  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$ , occorre tenere in considerazione che le acquisizioni effettuate a 64 direzioni del gradiente di diffusione sono sicuramente più dettagliate di quelle eseguite a 30 direzioni, ma allo stesso tempo un fattore  $b$  maggiore comporta una riduzione notevole dell'intensità di segnale DWI.

Per effettuare un'analisi più completa di queste discrepanza, è stato condotto uno studio sul rapporto segnale rumore (SNR). Questo parametro adimensionale è frutto del rapporto tra la media del segnale e la deviazione standard del rumore. Per il calcolo di questo parametro, sia per CST che per OR, sono stati separati i volumi a  $b = 0$  dai 64 volumi pesati a  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$  e dai 30 volumi pesati a  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$  e per ciascun soggetto ne è stata fatta la media dei volumi pesati e non pesati. Inoltre, per ogni individuo, è stata creata una maschera dell'encefalo. Per il calcolo della deviazione standard del rumore, sono stati disegnati manualmente

fuori dal cervello dei volumetti di lato 3 voxel, come maschera del noise, su una copia delle immagini delle medie a  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$  e a  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$ .

La media del segnale è stata calcolata sulla maschera del cervello con la funzione *fslstats* dando in input l'immagine media pesata. In modo analogo, la deviazione standard del rumore è stata ottenuta con la stessa funzione sull'immagine contenente la maschera del noise.

Essendo basso il segnale con  $b$  maggiore, ci si aspetta che l'SNR a  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$  sia inferiore rispetto a quello con  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$ .

Infatti, l'intensità di segnale pesato decresce esponenzialmente all'aumentare del fattore di sensibilizzazione  $b$ ; il gap creato da questa rapida riduzione di segnale non viene sufficientemente colmato dal numero di pesature (64 a  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$  e 30 a  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$ ). L'SNR, che è proporzionale alla radice quadrata del numero di medie, ha infatti un andamento logaritmico: rispetto alla perdita esponenziale di segnale, esso cresce più lentamente all'aumentare di  $b$ . Questo comportamento spiega perché il rapporto segnale rumore a  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$  sia migliore (più alto) dell'SNR a  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$ .

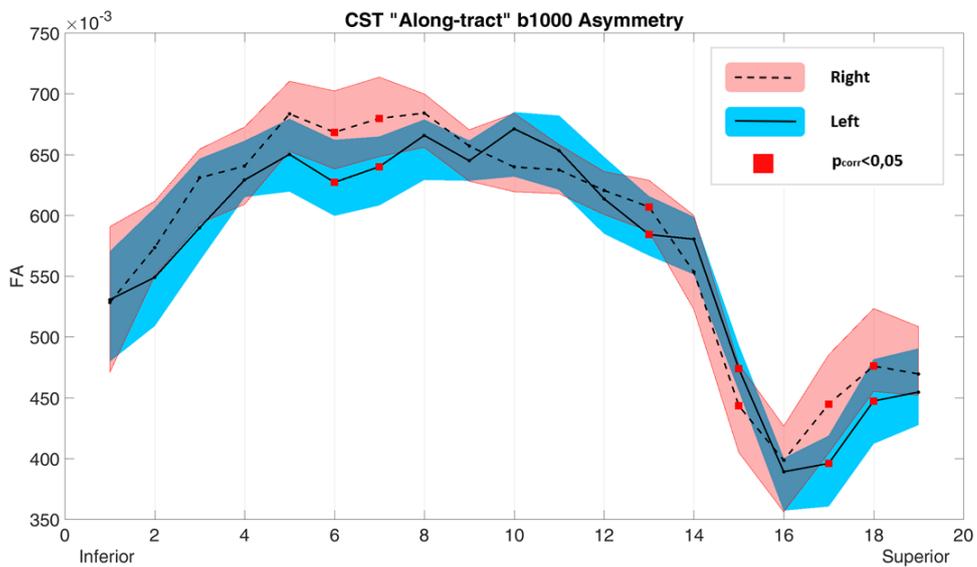
Pertanto i risultati ottenuti sono espressi in Tabella 4.1.

Tabella 4.1: Media del rapporto segnale rumore delle acquisizioni a  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$  e a  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$ .

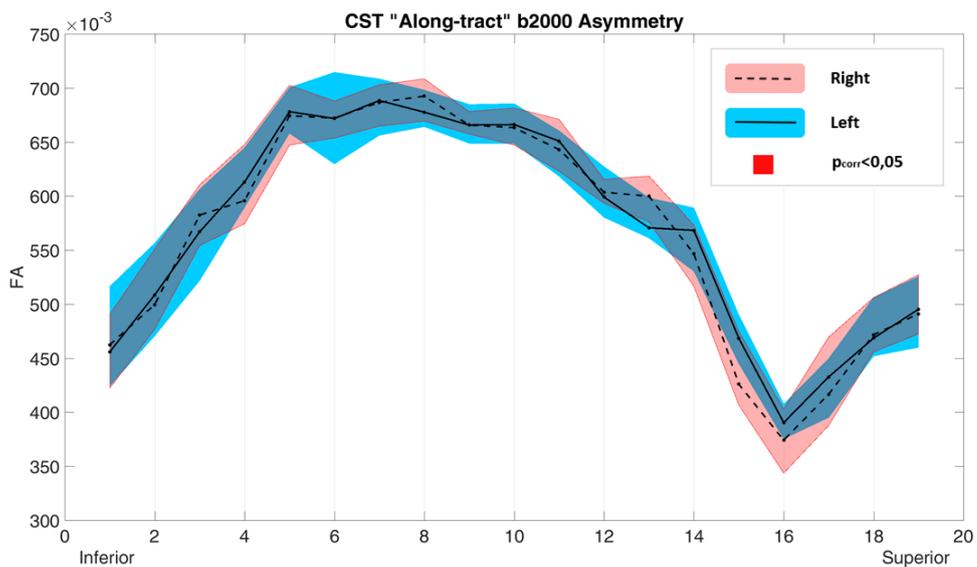
SNR $b = 1000 \text{ s/mm}^2$	SNR $b = 2000 \text{ s/mm}^2$
$65,7 \pm 12,8$	$41,1 \pm 10,7$

Il conto sull'SNR risulta molto stabile e, come atteso, evidenzia un miglior risultato con  $b$  più basso, ma questo aspetto non è necessariamente determinante sulla valutazione delle discrepanze tra le asimmetrie a diversi  $b$ . Perciò, riguardo alla quale delle due acquisizioni (per MD ed FA) sia la migliore, ovvero abbia una sensibilità maggiore, la discussione è aperta: se con un valore alto di  $b$  si ottiene un'immagine più dettagliata, con un valore di  $b$  inferiore, si ha un SNR migliore.

A seguito di queste considerazioni è possibile osservare nei grafici l'andamento dei parametri di diffusione ed approcciarsi in modo più analitico allo studio delle discrepanze tra  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$  e  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$  e delle asimmetrie tra i tratti destri e sinistri.

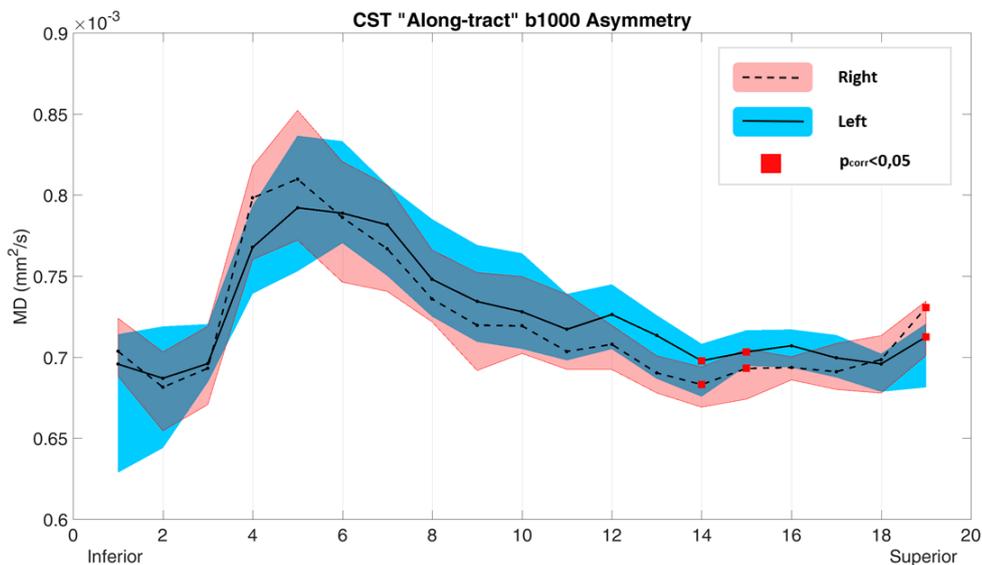


(a) CST: Andamento "along-tract" del FA a  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$ .

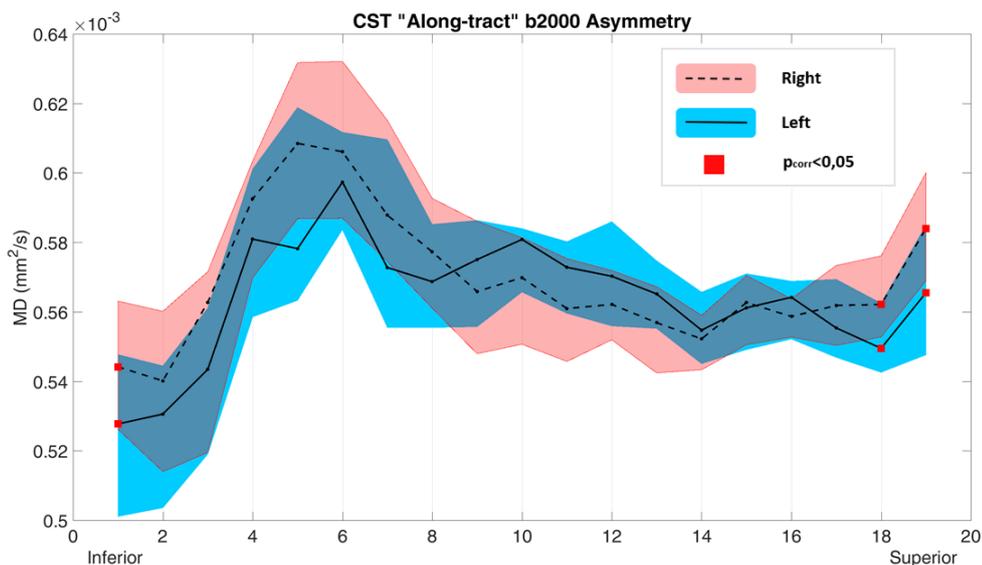


(b) CST: Andamento "along-tract" del FA a  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$ .

Figura 4.8: Confronto "along-tract" del parametro di diffusione FA tra i risultati trattografici dell'emisfero destro (linea tratteggiata) e sinistro (linea continua) del tratto cortico-spinale. I valori medi del FA sono graficati nell'intervallo di un interquartile (l'ombreggiatura in rosso è per il tratto destro e in blu per il tratto sinistro). I quadrati rossi rappresentano i valori  $p$  significativi tra destra e sinistra dopo la correzione FDR.

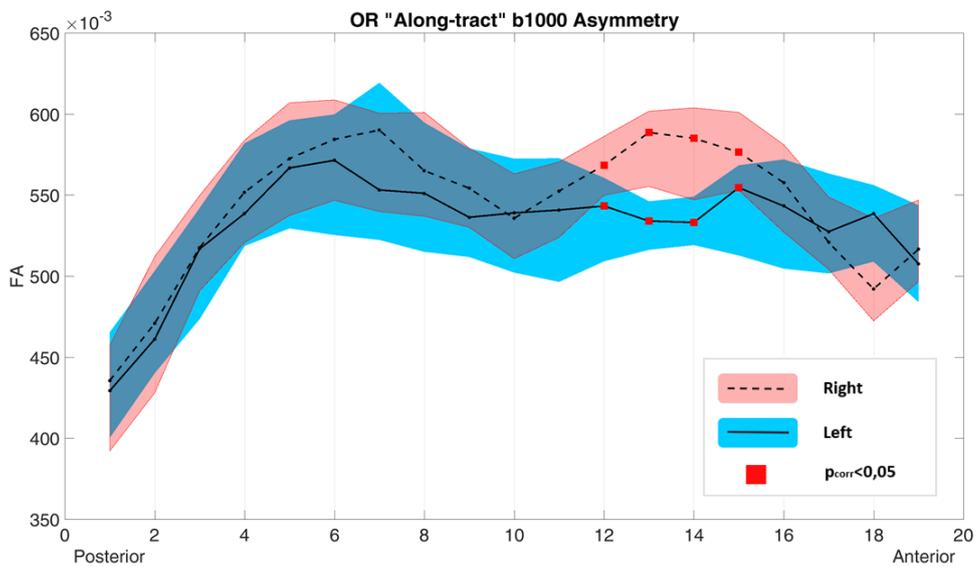


(a) CST: Andamento "along-tract" del MD a  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$ .

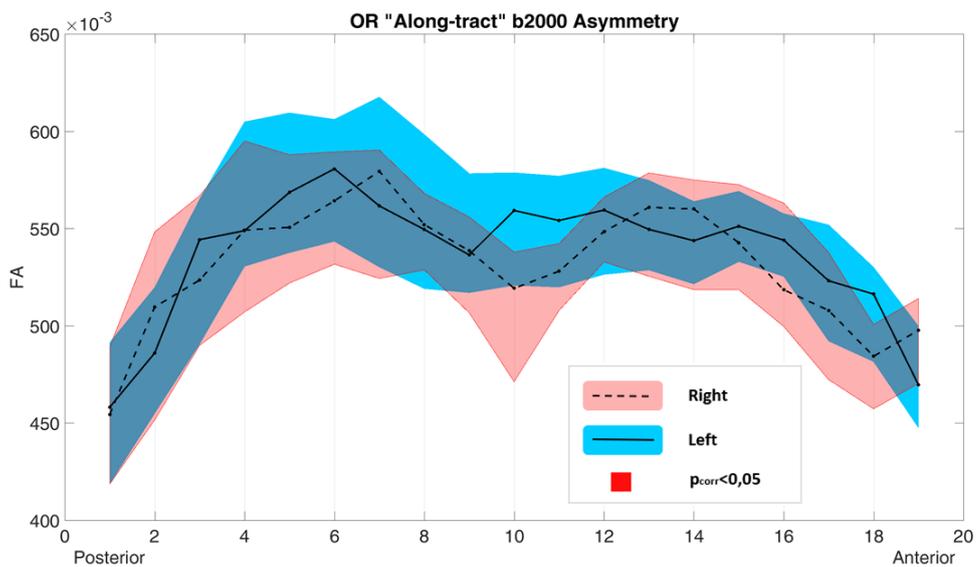


(b) CST: Andamento "along-tract" del MD a  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$ .

Figura 4.9: Confronto "along-tract" del parametro di diffusione MD tra i risultati trattografici dell'emisfero destro (linea tratteggiata) e sinistro (linea continua) del tratto cortico-spinale. I valori mediani del MD sono graficati nell'intervallo di un interquartile (l'ombreggiatura in rosso è per il tratto destro e in blu per il tratto sinistro). I quadrati rossi rappresentano i valori  $p$  significativi tra destra e sinistra dopo la correzione FDR.

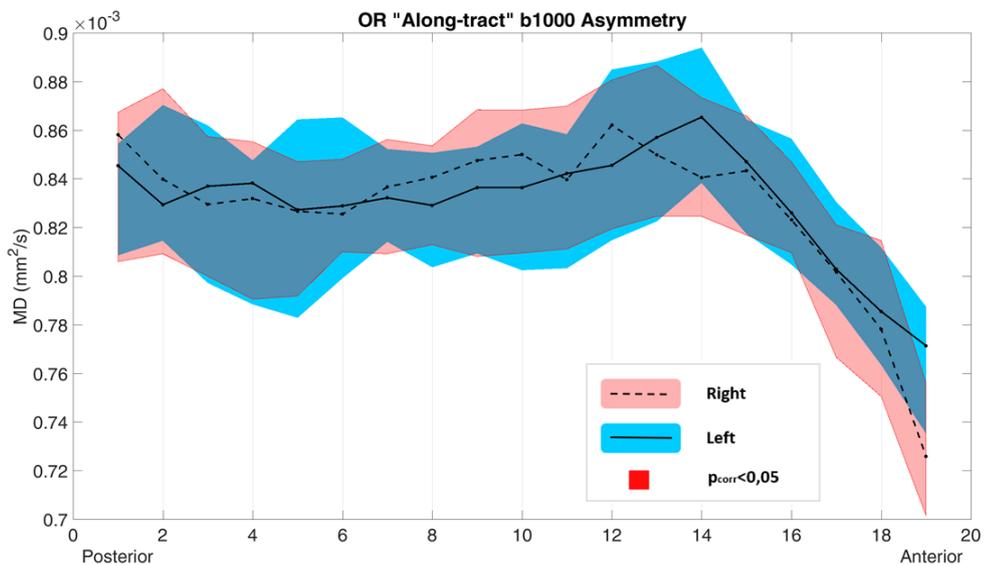


(a) OR: Andamento "along-tract" del FA a  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$ .

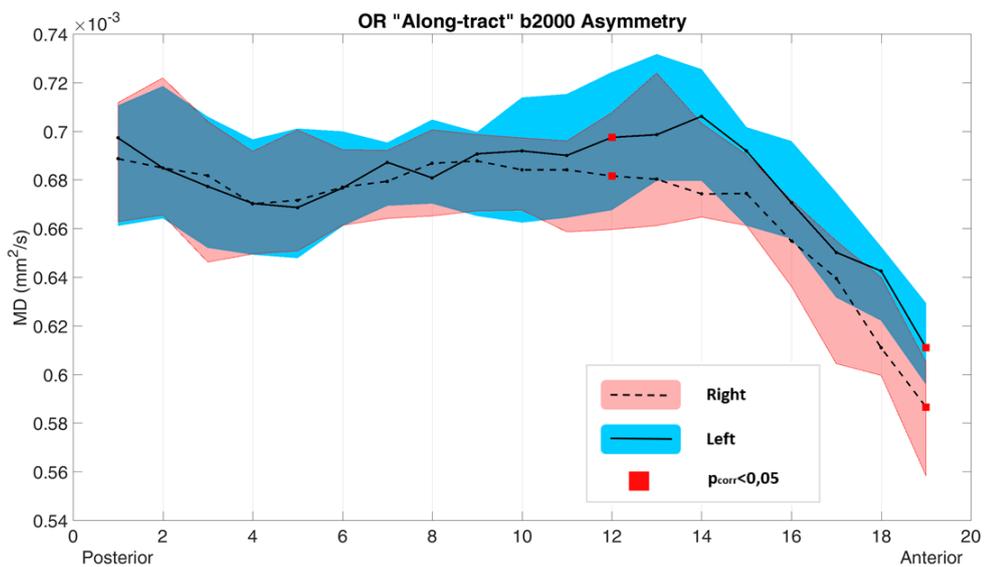


(b) OR: Andamento "along-tract" del FA a  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$ .

Figura 4.10: Confronto "along-tract" del parametro di diffusione FA tra i risultati trattografici dell'emisfero destro (linea tratteggiata) e sinistro (linea continua) della radiazione ottica. I valori medi del FA sono graficati nell'intervallo di un interquartile (l'ombreggiatura in rosso è per il tratto destro e in blu per il tratto sinistro). I quadrati rossi rappresentano i valori  $p$  significativi tra destra e sinistra dopo la correzione FDR.



(a) OR: Andamento "along-tract" del MD a  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$ .



(b) OR: Andamento "along-tract" del MD a  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$ .

Figura 4.11: Confronto "along-tract" del parametro di diffusione MD tra i risultati trattografici dell'emisfero destro (linea tratteggiata) e sinistro (linea continua) della radiazione ottica. I valori medi del MD sono graficati nell'intervallo di un interquartile (l'ombreggiatura in rosso è per il tratto destro e in blu per il tratto sinistro). I quadrati rossi rappresentano i valori  $p$  significativi tra destra e sinistra dopo la correzione FDR.



# Conclusioni

L'analisi trattografica sviluppata per il tratto cortico-spinale e la radiazione ottica ha portato buoni risultati. Utilizzando un algoritmo di tipo probabilistico, sono stati ricostruiti i tratti di entrambi gli emisferi e sono stati segmentati in 19 parti in modo da poter condurre studi più dettagliati in cui si possano vedere le alterazioni in modo quantitativo in regioni specifiche dei tratti. La suddivisione dei tratti di interesse in un numero fissato di segmenti si è rivelata essere una tecnica di sviluppo sia nella clinica che nella ricerca: molte proprietà tipiche dei singoli tratti sono state spiegate nel dettaglio servendosi di un'analisi "along-tract".

Uno degli obiettivi principali di questo lavoro di tesi è consistito nel mappare quantitativamente la geometria del CST e dell'OR. Per fare ciò è stata utilizzata una parametrizzazione lungo i tratti affinché fosse possibile trovare corrispondenze tra i segmenti di fibre di sostanza bianca tra i due emisferi di ciascun individuo e tra i diversi soggetti del campione.

Sono state realizzate delle mappe di variabilità che hanno evidenziato come viene distribuita la concentrazione di fibre del gruppo di controllo; per il tratto cortico-spinale è stato osservato un profilo più definito rispetto a quello della radiazione ottica probabilmente poichè il numero di artefatti è stato limitato grazie ad una scelta ottimale del *seed* e delle zone di inclusione ed esclusione.

Per ogni soggetto sono stati calcolati i parametri di diffusione MD ed FA in 30 ( $b = 1000 \text{ s/mm}^2$ ) e in 64 direzioni ( $b = 2000 \text{ s/mm}^2$ ) del gradiente di diffusione. Dunque, è stato condotto uno studio "along-tract" quantitativo dal quale sono state ottenute informazioni più precise sull'andamento degli indici di diffusione lungo i tratti considerati. I valori di FA ed MD non si mantengono costanti lungo l'intera struttura del tratto, ma, a seconda della regione cerebrale in cui ci si trova, questi assumono valori differenti tra loro. Questo aspetto spiega quanto sarebbe riduttivo ed approssimativo continuare a considerare la media di questi valori piuttosto che il loro andamento lungo il tratto.

Eseguire studi "along-tract" di questo tipo ha permesso di quantificare le differenze significative che, segmento per segmento, sono state misurate tra acquisizioni a 30 e a 64 direzioni, garantendo una mappatura più attendibile dei tratti. Con acquisizioni a  $b = 2000 \text{ s/mm}^2$  si ha avuto il grande vantaggio di delineare la struttura dei tratti in modo più dettagliato mostrando particolari che sarebbero potuti essere

nascosti acquisendo a meno direzioni; tuttavia, eseguendo uno studio sul rapporto segnale rumore, è stato constatato che a  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$  si ha un SNR maggiore. La variabilità da destra e sinistra non dipende dunque dall'SNR.

Questo studio applicato su un campione di soggetti sani, prevede uno sviluppo metodologico futuro nel campo della clinica. Con l'introduzione di un'analisi trattografica "along-tract" è, perciò, possibile approfondire le peculiarità dei fasci nervosi difficilmente osservabili facendo delle stime prettamente qualitative: in particolare, nel caso di pazienti affetti da malattie neurodegenerative o che riportano lesioni cerebrali, si è in grado di condurre un'analisi mirata nelle zone d'interesse andandone a studiare i parametri, le asimmetrie e le anomalie dovute al confronto tra tratti sani e tratti lesionati.

# Bibliografia

- [1] Al Masri O. "An essay on the human corticospinal tract: history, development, anatomy, and connections". *Neuroanatomy*, 10: 1-4, 2011.
- [2] Assaf Y., Pasternak O. "Diffusion tensor imaging (DTI)-based white matter mapping in brain research: a review". *Journal of molecular neuroscience*, 34(1): 51-61, 2008.
- [3] Barinaga M. "Remapping the motor cortex". *Science*, 268(5218): 1695-1698, 1995.
- [4] Baud R. H., Sprumont P., ten Donkelaar H. J. "The Representation of White Matter in the Central Nervous System". *Frontiers in neuroanatomy*, 12: 1-8, 2018.
- [5] Burdette J. H., Durden D. D, Elster A. D., Yen Y.-F. "High b-value diffusion-weighted MRI of normal brain". *Journal of computer assisted tomography*, 25(4): 515-519, 2001.
- [6] Clatworthy P. L., Williams G. B., Acosta-Carbonero J., Jones S. P., Harding S. G., Johansen-Berg H., Baron J.-C. "Probabilistic tractography of the optic radiations—an automated method and anatomical validation". *Neuroimage*, 49(3): 2001-2012, 2010.
- [7] Colagrande S., Pallotta S., Vanzulli A., Napolitano M., Villari N. "Il parametro «Diffusione» in Risonanza Magnetica: elementi di fisica, tecnica e semeiotica". *La Radiologia Medica*, 109: 1-16, 2005.
- [8] Colby J. B., Soderberg L., Level C., Dinov I. D., Thompson P. M., Sowell E. R. "Along-tract statistics allow for enhanced tractography analysis". *Neuroimage*, 59(4): 3227-3242, 2012.
- [9] Dell'Acqua F., Tournier J.-D. "Modelling white matter with spherical deconvolution: How and why?". *NMR in Biomedicine*, 32(4): 1-18, 2019.

- [10] Descoteaux M., Deriche R., Knösche T. R., Anwander A. "Deterministic and probabilistic tractography based on complex fibre orientation distributions". *IEEE transactions on medical imaging*, 28(2): 269-286, 2008.
- [11] Groeschel S., Tournier J.-D., Northam G. B., Baldeweg T., Wyatt J., Vollmer B., Connelly A. "Identification and interpretation of microstructural abnormalities in motor pathways in adolescents born preterm". *NeuroImage*, 87: 209-219, 2014.
- [12] Hornak J. P. "The basics of MRI". <http://www.cis.rit.edu/htbooks/mri>, 2006.
- [13] Karahan E., Costigan A. G., Graham K. S., Lawrence A. D., Zhang J. "Cognitive and white-matter compartment models reveal selective relations between corticospinal tract microstructure and simple reaction time". *Journal of Neuroscience*: 5910-5921, 2019.
- [14] Kelly K. R., McKetton L., Schneider K. A., Gallie B. L., Steeves J. K. E. "Altered anterior visual system development following early monocular enucleation". *NeuroImage: Clinical*, 4: 72-81, 2014.
- [15] Koh D.-M., Collins D. J. "Diffusion-weighted MRI in the body: applications and challenges in oncology". *American Journal of Roentgenology*, 188(6): 1622-1635, 2007.
- [16] Le Bihan D., Iima M. "Diffusion magnetic resonance imaging: what water tells us about biological tissues". *PLoS biology*, 13(7): 1-13, 2015.
- [17] Le Bihan D., Mangin J.-F., Poupon C., Clark C. A., Pappata S., Molko N., Chabriat H.. "Diffusion tensor imaging: concepts and applications". *Journal of Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 13(4): 534-546, 2001.
- [18] Lim J. C., Phal P. M., Desmond P. M., Nichols A. D., Kokkinos C., Danesh-Meyer H. V., Kaye A. H., Moffat B. A. "Probabilistic MRI tractography of the optic radiation using constrained spherical deconvolution: a feasibility study". *PloS one*, 10(3): 1-15, 2015.
- [19] Meesters S., Ossenblok P., Wagner L., Schijning O., Boon P., Florack L., Vilanova A., Duits R. "Stability metrics for optic radiation tractography: towards damage prediction after resective surgery". *Journal of neuroscience methods*, 288: 34-44, 2017.

- [20] Mukherjee P., Berman J. I., Chung S. W., Hess C. P., Henry R. G. "Diffusion tensor MR imaging and fiber tractography: theoretic underpinnings". *American journal of neuroradiology*, 29(4): 632-641, 2008.
- [21] Schmahmann J. D., Pandya D. N. "Cerebral white matter—historical evolution of facts and notions concerning the organization of the fiber pathways of the brain". *Journal of the History of the Neurosciences*, 16(3): 237-267, 2007.
- [22] Schott G. D. "Penfield's homunculus: a note on cerebral cartography". *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 56(4): 329-333, 1993.
- [23] Sherbondy A. J., Dougherty R. F., Napel S., Wandell B. A. "Identifying the human optic radiation using diffusion imaging and fiber tractography". *Journal of vision*, 8(10): 1-12, 2008.
- [24] Silverthorn D. U. "Fisiologia umana". Ambrosiana.
- [25] Smith R. E., Tournier J.-D., Calamante F., Connelly A. "SIFT: spherical-deconvolution informed filtering of tractograms". *Neuroimage*, 67: 298-312, 2013.
- [26] Talozzi L., Testa C., Evangelisti S., Cirignotta L., Bianchini C., Ratti S., Fantazzini P., Tonon C., Manners D. N., Lodi R. "Along-tract analysis of the arcuate fasciculus using the Laplacian operator to evaluate different tractography methods". *Magnetic resonance imaging*, 54: 183-193, 2018.
- [27] Testa C., Evangelisti S., Popeo M., Zanigni S., Gramegna L. L., Fantazzini P., Tonon C., Manners D. N., Lodi R. "The effect of diffusion gradient direction number on corticospinal tractography in the human brain: an along-tract analysis". *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*, 30(3): 265-280, 2017.
- [28] Thiebaut de Shotten M., Bizzi A., Dell'Acqua F., Allin M., Walshe M., Murray R., Williams S. C., Murphy D. G. M., Catani M. "Atlasing location, asymmetry and inter-subject variability of white matter tracts in the human brain with MR diffusion tractography". *Neuroimage*, 54(1): 49-59, 2011.
- [29] Thomas C., Yec F. ., Irfanoglu M.O., Modia P., Saleeme K. S., Leopold D. A., Pierpaoli C. "Anatomical accuracy of brain connections derived from diffusion MRI tractography is inherently limited". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(46): 16574-16579, 2014.
- [30] Tournier J.-D., Calamante F., Connelly A. "Determination of the appropriate b value and number of gradient directions for high-angular-resolution diffusion-weighted imaging". *NMR in Biomedicine*, 26(12): 1775-1786, 2013.

- [31] Tournier J.-D., Calamante F., Connelly A. "Robust determination of the fibre orientation distribution in diffusion MRI: non-negativity constrained super-resolved spherical deconvolution". *Neuroimage*, 35(4): 1459-1472, 2007.
- [32] Tournier J.-D., Calamante F., Gadian D. G., Connelly A. "Direct estimation of the fiber orientation density function from diffusion-weighted MRI data using spherical deconvolution". *NeuroImage*, 23(3): 1176-1185, 2004.
- [33] Tournier J.-D., Yeh C.-H., Calamante F., Cho K.-H., Connelly A., Lin C.-P. "Resolving crossing fibres using constrained spherical deconvolution: validation using diffusion-weighted imaging phantom data". *Neuroimage*, 42(2): 617-625, 2008.
- [34] Welniarz Q, Dusart I, Roze E. "The Corticospinal Tract: Evolution, Development, and Human Disorders". *Developmental neurobiology*, 77(7): 810-829, 2017.