

ALMA MATER STUDIORUM · UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

---

---

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

**Valutazione di software per l'analisi di  
dati clinici di Spettroscopia di Risonanza  
Magnetica cerebrale**

**Relatore:**  
Prof.ssa Claudia Testa

**Presentata da:**  
Marianna Poli

**Correlatore:**  
Dott.ssa Stefania Evangelisti

Anno Accademico 2020/2021

## Sommario

L'Imaging a Risonanza Magnetica (MRI) e la Spettroscopia di Risonanza Magnetica (MRS) sono strumenti preziosi per indagare in modo non invasivo l'anatomia e le funzioni del cervello umano. Le informazioni estratte dai dati MRI e MRS possono essere utilizzate come biomarker per lesioni cerebrali.

La spettroscopia studia i metaboliti presenti in una regione di interesse e il profilo metabolico della regione dipende dal tipo di tessuto che è stato selezionato.

Per questa Tesi abbiamo applicato la pipeline FAST del tool FSL-MRS di una software library, FSL, sviluppata per l'analisi delle immagini e per la statistica dei dati provenienti da immagini di risonanza magnetica. La pipeline è stata applicata al dataset anonimizzato dell'IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna, ospedale Bellaria delle acquisizioni di spettroscopia cerebrale di RM in diverse localizzazioni del cervello, che costituiscono il pool di dati di volontari sani utilizzati come riferimento per le valutazioni cliniche in ambito neurologico.

L'algoritmo FAST calcola la segmentazione, ovvero la percentuale di tessuti cerebrali (sostanza bianca, sostanza grigia e liquido cefalorachidiano), nei voxel indagati dalla Spettroscopia di RM. È stata poi valutata la bontà della segmentazione per poter procedere con ulteriori studi indirizzati specificatamente al tessuto della regione interessata.

Si è scelto di utilizzare FSL perché è un software free e utilizza un approccio come quello di LCModel (<http://lcmmodel.ca/lcm-license.shtml>) che è il software maggiormente utilizzato in questo ambito ed è solo recentemente diventato gratuito. Inoltre FSL offre dei tool aggiuntivi come quello della segmentazione che è stato valutato in questa Tesi.

# Indice

<b>Elenco delle figure</b>	III
<b>1 Introduzione</b>	1
1.1 Metabolismo cerebrale . . . . .	1
1.2 NMR . . . . .	4
1.3 MRS . . . . .	6
1.4 Sequenze di acquisizione . . . . .	8
1.4.1 STEAM . . . . .	9
1.4.2 PRESS . . . . .	10
1.4.3 MRSI . . . . .	11
1.5 MRS in ausilio alla MRI . . . . .	12
1.5.1 Tumori cerebrali . . . . .	13
1.5.2 Disordini metabolici pediatrici . . . . .	14
<b>2 Tools e metodi</b>	16
2.1 Dataset . . . . .	16
2.2 FSL . . . . .	20
2.3 FSL-MRS . . . . .	20
2.4 Conversione dei dati e formati . . . . .	21
2.5 Segmentazione . . . . .	21
2.6 Visualizzazione dei dati . . . . .	24

<b>3</b>	<b>Risultati e discussione</b>	26
3.1	Caratterizzazione delle misure . . . . .	26
3.2	Discussione . . . . .	37
<b>4</b>	<b>Conclusioni</b>	39
4.1	Controllo qualità . . . . .	39
	<b>Bibliography</b>	41

# Elenco delle figure

- 1.1 Spettroscopia di un voxel della sostanza bianca parieto-occipitale di un volontario sano acquisito con un tempo di echo TE=30 ms, tempo di ripetizione TR=2000 ms e campo magnetico esterno B=3 T. IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna, Ospedale Bellaria . . . . . 8
- 1.2 Schema della sequenza STEAM:  $G_x$ ,  $G_y$  e  $G_z$  sono i tre impulsi di selezione del voxel, RF è l'impulso di radiofrequenza dove CHESSE rappresenta una sequenza di impulsi in grado di rimuovere il segnale dell'acqua e ADC è il coefficiente di diffusione apparente dell'acqua;  $\tau_1 = \tau_4$  e  $\tau_1 + \tau_4$  è il tempo di echo mentre  $\tau_2 + \tau_4$  è il tempo di mixing 10
- 1.3 Schema della sequenza PRESS:  $G_x$ ,  $G_y$  e  $G_z$  sono i tre impulsi di selezione del voxel, RF è l'impulso di radiofrequenza dove CHESSE rappresenta una sequenza di impulsi in grado di rimuovere il segnale dell'acqua e ADC è il coefficiente di diffusione apparente dell'acqua;  $\tau_1 = \tau_2$ ,  $\tau_3 = \tau_4$  e  $\tau_1 + \tau_2 + \tau_3 + \tau_4$  è il tempo di echo . . . . . 11

1.4	Spettroscopia di RM di un astrocitoma. Media (linea spessa) e la deviazione standard (area ombreggiata) dello spettro $^1H(1.5\text{ T, STEAM or PRESS, }2000/30\text{ ms, }128\text{-}256\text{ ripetizioni per spettro incluse nella media)$ in (a)astrocitoma di grado II e (b)astrocitoma di grado IV. Caratteristicamente il rapporto Cho/Cr è alto e l’NAA è assente (G. Öz et al., 2014) . . . . .	14
2.1	In figura si possono osservare le diverse regioni cerebrali osservate per alcuni volontari dello studio. In particolare: (a)corteccia parieto-occipitale, (b)emisfero cerebellare, (c)talami. Le immagini degli encefali sono pesate in $T_1$ e sono state acquisite con un campo magnetico esterno di 3 T. IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna, Ospedale Bellaria . . . . .	18
2.1	In figura si possono osservare le diverse regioni cerebrali osservate per alcuni volontari dello studio. In particolare: (d)sostanza bianca parieto-occipitale, (e)cingolo posteriore, (f)ventricoli laterali. Le immagini degli encefali sono pesate in $T_1$ e sono state acquisite con un campo magnetico esterno di 3 T. IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna, Ospedale Bellaria . . . . .	19
2.2	Esempio di segmentazione di una MRI strutturale nei tipi di tessuti utilizzando la routine FAST. Il fulcro dell’approccio è un modello generativo che predice i dati sotto forma di istogramma formato dalla combinazione delle distribuzione dove ogni tipo di tessuto è modellizzato con una distribuzione gaussiana. Una parte del modello è costituita dalla classificazione dei parametri che indicano a quale classe di tessuto il voxel appartenga. I parametri sono spazialmente regolarizzati a priori per migliorare la segmentazione. (M. W. Woolrich et al., 2008) . . . . .	24

2.3	Si può osservare il framework di FSLeYes (il visualizzatore di FSL), in particolare si può notare il set di operazioni che possono essere effettuate per evidenziare le immagini sovrapposte, l'immagine dell'encefalo è mostrata rispetto alle tre direzioni spaziali. . . . .	25
3.1	(a)Voxel del soggetto 85256 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in $T_1$ , il voxel appare ben localizzato nella zona d'interesse; (b)Voxel del soggetto 85256 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in $T_1$ con evidenziati i vari tessuti, la segmentazione del voxel è coerente con quanto visualizzato in $T_1$ . . . . .	28
3.2	(a)Voxel del soggetto 13210 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in $T_1$ , il voxel appare ben localizzato nella zona d'interesse; (b)Voxel del soggetto 13210 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in $T_1$ con evidenziati i vari tessuti, la segmentazione del voxel è coerente con quanto visualizzato in $T_1$ . . . . .	29
3.3	(a)Voxel del soggetto 37757 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in $T_1$ , il voxel appare ben localizzato nella zona d'interesse; (b)Voxel del soggetto 37757 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in $T_1$ con evidenziati i vari tessuti, la segmentazione del voxel è coerente con quanto visualizzato in $T_1$ . . . . .	31
3.4	(a)Voxel del soggetto 00003 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in $T_1$ , il voxel appare ben localizzato nella zona d'interesse; (b)Voxel del soggetto 00003 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in $T_1$ con evidenziati i vari tessuti, la segmentazione del voxel è coerente con quanto visualizzato in $T_1$ . . . . .	33

3.5	(a)Voxel del soggetto 25812 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in $T_1$ , il voxel appare ben localizzato nella zona d'interesse;	
	(b)Voxel del soggetto 25812 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in $T_1$ con evidenziati i vari tessuti, la segmentazione del voxel è coerente con quanto visualizzato in $T_1$ . . . . .	35
3.6	(a)Voxel del soggetto 00050 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in $T_1$ , il voxel appare ben localizzato nella zona d'interesse;	
	(b)Voxel del soggetto 00050 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in $T_1$ con evidenziati i vari tessuti, la segmentazione del voxel è coerente con quanto visualizzato in $T_1$ . . . . .	37

# Capitolo 1

## Introduzione

### 1.1 Metabolismo cerebrale

L'MRS (Spettroscopia di Risonanza Magnetica) è una delle principali tecniche analitiche nella metabolomica, permette infatti di identificare molecole o composti e di scoprire la loro struttura. I principali vantaggi della tecnica sono: l'alta riproducibilità, la capacità di rilevare più metaboliti contemporaneamente con una sola rilevazione e la non invasività della risonanza che permette di mantenere inalterato il campione. Generalmente l'MRS viene applicata rilevando il nucleo dell'atomo d'idrogeno ( $^1H$ ), infatti le applicazioni metabolomiche con nuclei diversi da quello di  $^1H$  sono limitate a causa della bassa sensibilità o della loro scarsa abbondanza naturale.

La NMR (Risonanza Magnetica Nucleare) in vivo rileva solo i metaboliti molto abbondanti, a 1.5 T possono essere rilevati metaboliti con concentrazione di qualche mM. I nuclei di idrogeno nei diversi tessuti hanno differenti proprietà di rilassamento, che possono essere rilevati dal ricevitore di radio frequenze RM. Il segnale rilevato fornisce informazioni sulla concentrazione dei metaboliti. La maggior parte del segnale rilevato, a causa della loro abbondanza metabolitica, proverrebbe dagli

idrogeni dell'acqua e dei lipidi presenti nell'encefalo. Per evitare che il segnale dell'acqua e dei lipidi saturi il segnale di ricezione senza consentire di rilevare quello dei protoni di metaboliti 4-5 volte meno concentrati di acqua e lipidi, prima di effettuare la sequenza di acquisizione ne viene eseguita un'altra chiamata CHESS, che sfasa gli spin delle molecole di acqua e lipidi in modo che la loro magnetizzazione sia soppressa. Eventuali picchi di segnale di lipidi e acqua residui vengono soppressi in post-processing.

Ogni molecola/metabolita possiede un pattern del chemical shift peculiare che permette il riconoscimento. Per le applicazioni NMR allo studio del metabolismo è importante conoscere precisamente il chemical shift di ogni metabolita e creare una libreria. La quantità di un metabolita presente in un tessuto varia con il tipo di tessuto; un metabolita può essere presente in tessuti diversi ma con concentrazioni diverse.

I principali metaboliti presenti nell'encefalo sono: N-Acetil-Aspartato, la colina, la creatina, il mio-inositolo, il lattato e i "lipidi mobili". Questi metaboliti presentano picchi caratteristici in determinate posizioni dello spettro; l'area sottesa dal picco determina la quantità di metabolita presente nell'encefalo; a diverse malattie corrispondono aumenti o decrescite di determinati metaboliti.

L'N-Acetil-Aspartato (NAA) è un aminoacido localizzato quasi esclusivamente nel cervello, viene sintetizzato nei mitocondri dei neuroni e poi trasportato nel citoplasma neuronale e lungo gli assoni. La sua localizzazione fa del NAA un marcatore d'integrità e densità neuro-assonale. Inoltre i livelli di NAA riflettono la funzionalità dei mitocondri e sono correlati alla funzione di osmoregolazione. I livelli di NAA riflettono il processo di maturazione dell'encefalo, perciò aumentano progressivamente in periodo neonatale. Un danno neuro-assonale, causato da patologie neurodegenerative, ischemiche, infiammatorie o da sostituzione del tessuto nervoso con tessuto neoplastico, è espresso da un calo del livello di NAA. (M. Ciaccio et al., 2018)

La creatina (Cr) è un marcatore del metabolismo energetico cellulare dato che è coinvolta nella relazione creatino-chinasica. La sua concentrazione è relativamente stabile in diverse situazioni metaboliche, quindi la creatina è utilizzata come standard di riferimento per la quantificazione degli altri metaboliti cerebrali. (M. Ciaccio et al., 2018)

Il livello di colina (Cho) rispecchia il metabolismo fosfolipidico delle membrane cellulari e della mielina. Generalmente aumenta con l'aumentare di turnover di membrane e di densità cellulare o di una loro distruzione. Un calo del livello di Cho riflette una ipomielinizzazione o un'alterazione del metabolismo a seguito di un'insufficienza epatica. (M. Ciaccio et al., 2018)

Il mio-inositolo (mI) è un precursore del fosfatidil-inositolo, il fosfolipide a maggior contenuto di inositolo, e del fosfatidil-inositolo 4,5 bifosfato, una molecola chiave nella trasduzione del segnale. Il livello di mI aumenta in caso di: gliosi, proliferazione astrocitaria (tipica dei processi neurodegenerativi come la malattia di Alzheimer) o nel caso di aumento di volume delle cellule astrocitarie; infatti è un marcatore astrocitario e un regolatore della pressione osmotica dato che è contenuto nelle cellule gliali. (M. Ciaccio et al., 2018)

Il complesso di "lipidi mobili" comprende macromolecole sotto forma di acidi grassi, trigliceridi e fosfolipidi. Il loro accumulo è associato a processi patologici: necrosi, infiammazione o infezione. (M. Ciaccio et al., 2018)

L'accumulo di lattato (Lac) indica il passaggio da un metabolismo di tipo ossidativo alla glicolisi anaerobia, di cui il Lac è un prodotto finale. Pertanto un accumulo di Lac è imputabile alle seguenti condizioni: ipossia, ischemia, disordini metabolici, in particolare malattie mitocondriali, infiammazione acuta per accumulo di macrofagi, cisti aracnoidee e idrocefalo a pressione normale. (M. Ciaccio et al., 2018)

## 1.2 NMR

La NMR è un fenomeno fisico che coinvolge nuclei atomici con spin diverso da zero ed è caratterizzato da energie molto basse; i nuclei rilevati nella maggior parte delle applicazioni sono nuclei di  $^1H$  (protoni), soprattutto quelli contenuti nelle molecole d'acqua, e tali nuclei hanno una frequenza di risonanza di 42.6 MHz quando il campo esterno è 1 T, tale frequenza cade nel range delle onde radio. Per questo motivo, il segnale proveniente dalla risonanza dei nuclei viene rivelato in competizione con il rumore termico e la NMR è considerata, in generale, una tecnica d'indagine poco sensibile e caratterizzata da un basso rapporto segnale/rumore. La NMR è una tecnica non invasiva e versatile perché multiparametrica, ossia l'intensità del segnale è generalmente pesata su diversi parametri che la rendono utilizzabile in diverse situazioni, sia in ambito diagnostico che di ricerca scientifica.

Affinché si manifesti il fenomeno, per prima cosa è necessario applicare un campo magnetico omogeneo  $B_0$  al materiale d'interesse, in modo da indurre una polarizzazione negli spin dei nuclei e orientarli tutti nello stesso verso; questo effetto si può ottenere in maniera più efficace se ci si trova a basse temperature, in modo che l'agitazione termica non influisca più di tanto. La polarizzazione degli spin avrà come conseguenza la manifestazione della magnetizzazione che è una grandezza macroscopica. Per rivelare la magnetizzazione, viene applicato un secondo campo magnetico  $B_1$ , perpendicolare al primo e oscillante con frequenza prossima alla frequenza di risonanza dei nuclei che vogliamo eccitare. Quando il sistema è eccitato, si spegne il secondo campo magnetico e si studiano le radiazioni emesse dai nuclei eccitati, misurando i vari tempi di rilassamento, finché il sistema non sarà tornato alla condizione di equilibrio.

Il rilassamento è il ritorno della magnetizzazione all'equilibrio ed è il fenomeno che ci permette di poter ottenere informazioni sul sistema ed, eventualmente, produrre immagini (MRI). Consiste nel ritorno della componente longitudinale della magnetizzazione al valore massimo, contestualmente all'annullamento della componente

trasversale. Il sistema ha bisogno di tempo per poter completare il rilassamento. I rilassamenti delle due componenti seguono processi fisici differenti e sono entrambi descritti dalle equazioni di Bloch:

$$\frac{dM_{xy}(t)}{dt} = -\frac{M_{xy}(t)}{T_2} \quad (1.1)$$

$$\frac{dM_z(t)}{dt} = -\frac{M_z(t) - M_0}{T_1} \quad (1.2)$$

Il rilassamento trasversale è un processo entropico che si manifesta a causa della sfasatura dei gruppi di spin: se dopo aver applicato un angolo di nutazione di  $90^\circ$  alla magnetizzazione spegniamo il campo eccitante  $B_1$ , si attenderebbe che i diversi spin che costituiscono la magnetizzazione continuino a precedere in senso orario attorno al campo  $B_0$  tutti con la stessa frequenza, ma in realtà ciò non accade per due motivi:

1. gli spin interagiscono fra loro,
2.  $B_0$  non è mai perfettamente omogeneo.

Ciò induce uno sfasamento nei diversi gruppi di spin che perdono la loro coerenza di fase e alla fine assumono tutti una propria frequenza diversa dalla frequenza di Larmor che possedevano inizialmente di conseguenza, la magnetizzazione, che costituisce il segnale, tende a zero. La soluzione dell'equazione di Bloch trasversale (1.1) è:

$$M_{xy}(t) = M_{xy}(0)e^{-\frac{t}{T_2}} \quad (1.3)$$

dove  $T_2$  è il tempo di rilassamento trasversale.

Il rilassamento longitudinale è un processo energetico che si manifesta a causa dello scambio di energia fra il sistema di spin, che ha assorbito energia, e il reticolo al quale tale energia viene ceduta: in pratica, quando il campo eccitante  $B_1$  viene spento, la componente longitudinale della magnetizzazione ricompare e la magnetizzazione non fa altro che riportarsi in direzione parallela al campo  $B_0$ .

La soluzione dell'equazione di Bloch longitudinale (1.2) è:

$$M_z(t) = M_z(0)e^{-\frac{t}{T_1}} + M_0(1 - e^{-\frac{t}{T_1}}) \quad (1.4)$$

dove  $T_1$  è il tempo di rilassamento longitudinale.

Sia per calcolare  $T_1$  che  $T_2$  è sufficiente applicare una coppia di impulsi alla materia da indagare. Per eccitare il sistema si applica un primo impulso di  $180^\circ$ , in modo da ribaltare la magnetizzazione e portarla dal semiasse positivo di  $z$  a quello negativo e successivamente un secondo impulso di  $90^\circ$ , applicato dopo un tempo  $\tau$ , servirà successivamente per avere informazioni sulla magnetizzazione longitudinale. In seguito al ribaltamento della magnetizzazione, si avrà  $M_z(0) = -M_0$  e, sostituendo nell'Equazione 1.4 si ottiene:

$$M_z(\tau) = M_0(1 - 2e^{-\frac{\tau}{T_1}}) \quad (1.5)$$

e sostituendo nell'Equazione 1.3 si ottiene:

$$M_{xy}(\tau) = M_0e^{-\frac{\tau}{T_2}} \quad (1.6)$$

.

### 1.3 MRS

La Spettroscopia di Risonanza Magnetica (MRS) è l'unica tecnica che permette di eseguire studi di biochimica su cellule e tessuti in vivo. A differenza dell'MRI, l'MRS prevede l'acquisizione del segnale proveniente non dai nuclei di  $^1H$  contenuti nelle molecole d'acqua, ma da quelli contenuti nei metaboliti intracellulari. Di solito, in ambito clinico, la MRS in vivo viene utilizzata per la rivelazione di nuclei di  $^1H$ , di  $^{31}P$ , presenti nelle molecole di ATP (adenosina trifosfato) e impiegati nello studio del metabolismo energetico delle cellule, e di  $^{13}C$ , utilizzati nello studio del metabolismo del glucosio.

Il chemical shift è una conseguenza della presenza degli elettroni attorno ai nuclei

e il loro effetto è quello di schermare in parte il campo magnetico e modificare la frequenza di Larmor dei nuclei. Il cambiamento di frequenza dipende dallo specifico intorno elettronico che circonda un certo nucleo:

$$\nu = \frac{\gamma B_0(1 - \sigma)}{2\pi} \quad (1.7)$$

dove  $\gamma$  è il rapporto giromagnetico e  $\sigma$  è lo schermo elettronico. Se si applica a una molecola un campo magnetico di una certa intensità e si registra il segnale proveniente dai nuclei di idrogeno di quella molecola, per quanto è stato appena detto, risulta che questo venga emesso a frequenze diverse. Se poi si raddoppia l'intensità del campo, tutte le frequenze di emissione del segnale raddoppieranno a loro volta. È necessaria quindi una scala assoluta. Per costruirla, è necessario fissare una frequenza di riferimento sulla quale pesare tutte le frequenze che si vogliono esprimere. Per tale motivo viene definito lo spostamento chimico:

$$\delta = \frac{\nu - \nu_{rif}}{\nu_{rif}} \times 10^6 \quad (1.8)$$

misurato in parti per milione (ppm), dove  $\nu_{rif}$  è una frequenza di Larmor di riferimento di una molecola arbitraria. Di solito, la  $\nu_{rif}$  che viene scelta è quella dei protoni del tetrametilsilano (TMS), perché la bassa elettronegatività del silicio e la simmetria della molecola fanno sì che i nuclei di carbonio e idrogeno siano schermati nella stessa misura. (vedi Figura 1.1)

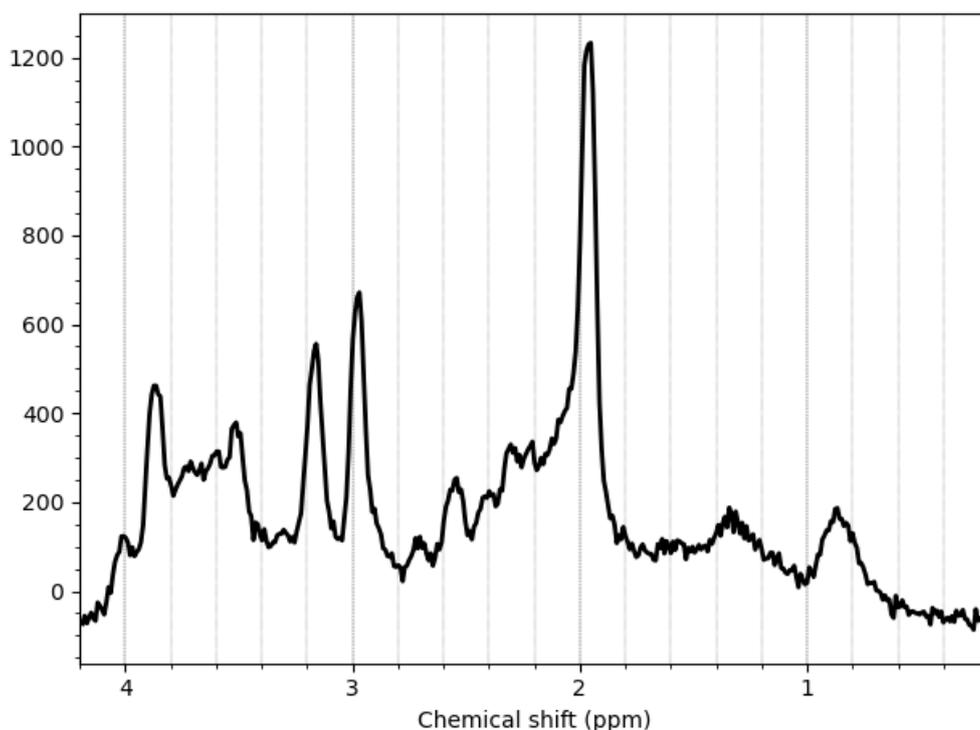


Figura 1.1: Spettroscopia di un voxel della sostanza bianca parieto-occipitale di un volontario sano acquisito con un tempo di echo  $TE=30$  ms, tempo di ripetizione  $TR=2000$  ms e campo magnetico esterno  $B=3$  T. IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna, Ospedale Bellaria

## 1.4 Sequenze di acquisizione

Per l'acquisizione dello spettro possono essere utilizzate diverse tecniche che acquisiscano un solo voxel o molti (single- e multi-voxel), entrambe possono avere sia tempi di echo lunghi ( $>30$  ms) che corti ( $<30$  ms).

Nella spettroscopia a single-voxel (SVS) il segnale è ottenuto da un voxel selezionato precedentemente. Il voxel viene selezionato tramite delle eccitazioni che selezionano una slice nelle tre dimensioni spaziali nelle immagini acquisite per avere riferimenti anatomici accurati, ciò si ottiene quando viene applicato un impulso RF mentre un campo di gradienti è acceso. Il campo risulta su tre piani ortogonali e la loro intersezioni corrispondono al VOI.

Le due principali sequenze utilizzate in Spettroscopia di Risonanza Magnetica sono la STEAM e la PRESS.

### **1.4.1 STEAM**

La STEAM (stimulated echo acquisition mode) è costituita da tre impulsi di  $90^\circ$ :

- se la magnetizzazione inizialmente è orientata lungo l'asse z, il primo impulso la porterà sul piano xy, e viene attivato il gradiente di selezione lungo z ;
- il secondo impulso orienterà la magnetizzazione lungo il semiasse -z e contestualmente viene attivato il gradiente di campo magnetico lungo x ;
- il terzo impulso porterà la magnetizzazione di nuovo sul piano xy e contestualmente viene attivato il gradiente di campo magnetico lungo y.

La STEAM ha diversi vantaggi: in primo luogo, il tempo di echo può essere reso molto breve (25-30 ms), permettendo la rilevazione dei metaboliti caratterizzati da valori di  $T_2$  brevi come la glutammina. Inoltre, gli impulsi di  $90^\circ$  consentono di ottenere voxel con bordi molto ben definiti e di limitare la radiazione trasferita al materiale d'indagine.

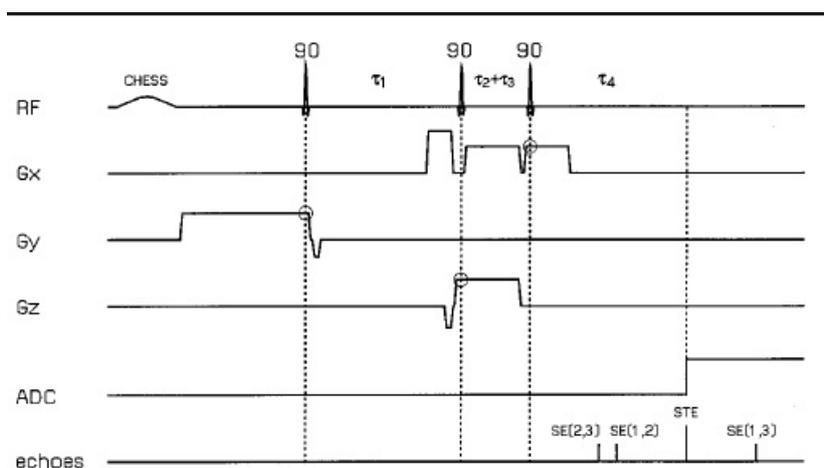


Figura 1.2: Schema della sequenza STEAM:  $G_x$ ,  $G_y$  e  $G_z$  sono i tre impulsi di selezione del voxel, RF è l'impulso di radiofrequenza dove CHESSE rappresenta una sequenza di impulsi in grado di rimuovere il segnale dell'acqua e ADC è il coefficiente di diffusione apparente dell'acqua;  $\tau_1 = \tau_4$  e  $\tau_1 + \tau_4$  è il tempo di echo mentre  $\tau_2 + \tau_4$  è il tempo di mixing

## 1.4.2 PRESS

La PRESS (point-resolved spectroscopy) è costituita da un impulso di  $90^\circ$  e due impulsi di  $180^\circ$ , il processo è simile a quanto fatto per la STEAM (vedi Figura 1.3). La PRESS è caratterizzata da un buon rapporto segnale/rumore, ma per ottenere voxel con bordi ben definiti è necessario impiegare dei gradienti di campo magnetico efficienti (maggiori di 22 mT/m). Il principale svantaggio della PRESS sono i tempi di echo inevitabilmente lunghi ( $>30$  ms), con i quali rivela i metaboliti caratterizzati da valori di  $T_2$  lunghi come il lattato.

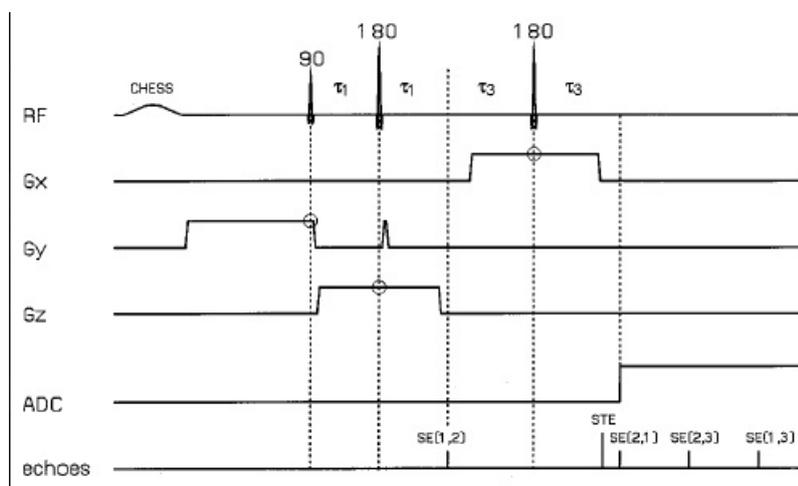


Figura 1.3: Schema della sequenza PRESS:  $G_x$ ,  $G_y$  e  $G_z$  sono i tre impulsi di selezione del voxel, RF è l'impulso di radiofrequenza dove CHES rappresenta una sequenza di impulsi in grado di rimuovere il segnale dell'acqua e ADC è il coefficiente di diffusione apparente dell'acqua;  $\tau_1 = \tau_2$ ,  $\tau_3 = \tau_4$  e  $\tau_1 + \tau_2 + \tau_3 + \tau_4$  è il tempo di echo

La STEAM ha il rapporto segnale-rumore (SNR) del 50% rispetto alla PRESS. Visto che un impulso di 180° è più lungo di uno di 90°, la PRESS non può essere ottenuta con un tempo di echo molto corto. Quindi la STEAM è generalmente utilizzata quando è necessario un breve TE (inferiore a 30 ms) e una sezione di volume precisa mentre la PRESS è la tecnica SVS più utilizzata perchè migliora l'SNR che è un fattore importante per la qualità della spettroscopia.

### 1.4.3 MRSI

L'Imaging Spettroscopico di Risonanza Magnetica (MRSI) è una tecnica a multi-voxel. L'obiettivo è ottenere simultaneamente molti voxel e la distribuzione spaziale dei metaboliti con una sola sequenza. Perciò questa tecnica utilizza gradienti che codificano la fase per codificare le informazioni spaziali dopo che l'impulso RF e i gradienti di selezione sono stati applicati. Il segnale dell'MRSI risulta in uno spettro di metaboliti con diverse frequenze. Le sequenze utilizzate per SVS sono usate anche per MRSI.

## 1.5 MRS in ausilio alla MRI

L'MRS rileva lo spettro dei metaboliti cerebrali. Spesso i metaboliti subiscono variazioni a causa di patologie prima che l'encefalo presenti anomalie strutturali, quindi l'MRS può mostrare patologie prima di quanto faccia l'MRI (Fayed et al., 2006). Tale tecnica diagnostica si propone come valido ausilio e supporto delle indagini standard di MRI, in cui mappe anatomiche ad alta risoluzione vengono ricostruite a partire da informazioni di tipo strutturale relative alle regioni esaminate. Gli sviluppi più promettenti dell'MRI riguardano oggi quelle tecniche diagnostiche che ambiscono a fornire informazioni che vadano oltre la semplice rappresentazione morfologica dell'oggetto in esame. Questo accade negli studi di diffusione, perfusione e di attivazione cerebrale, ma anche, e soprattutto, nelle indagini di Imaging Spettroscopico. Lo studio morfologico di base con MRI, considerando l'esame di elezione per patologie del SNC, non è sempre specifico nel caratterizzare tessuto cerebrale anomalo, nonostante la sua indubbia sensibilità. Da qui la necessità di integrare i parametri morfologici con quelli fisiologici, quelli metabolici con quelli funzionali, etc. La discriminazione dei tessuti tra sani e patologici è la principale, potenziale applicazione clinica della tecnica di indagine biomedica MRS. L'uso combinato delle informazioni spaziali e morfologiche contenute nelle immagini anatomiche NMR e dei dati metabolici ottenuti con indagine spettroscopica potrebbe consentire una più facile discriminazione tra tessuti normali e patologici, e quindi migliorare l'iter diagnostico di molte patologie del sistema nervoso ma anche di organi, quali mammella e prostata.

Nel 2014 l'MRS Consensus Group ha effettuato uno studio per trovare gli ambiti in cui la MRS è di ausilio alla MRN, sono: tumori cerebrali, disturbi pediatrici, malattie demielinizzanti, lesioni focali causate da infezioni, malattie neurodegenerative, epilessia e ischemia cerebrale. In particolare vengono descritte le applicazioni di MRS relative ai tumori cerebrali e ai disordini metabolici pediatrici.

### 1.5.1 Tumori cerebrali

La RM da sola non fornisce abbastanza dati per la diagnostica dei tumori. Infatti non può discernere il tumore da altre lesioni focalizzate (come l'encefalite); identificare i siti ideali per la biopsia. L'MRS può fornire risposte su queste domande. È stato dimostrato che la spettroscopia RM offre un grande potenziale non invasivo per la valutazione accurata delle neoplasie cerebrali. (G. Öz et al., 2014) Ampi studi multicentrici hanno determinato l'accuratezza dell'MRS a single-voxel con algoritmi di pattern recognition per la diagnosi dell'istologia e del grado del tumore cerebrale.(G. Öz et al., 2014) I dati della spettroscopia RM hanno migliorato la previsione del tumore di basso e alto grado rispetto alla sola RM. La spettroscopia RM può essere utilizzata per determinare la prognosi e guidare il trattamento nei pazienti oncologici quando la chirurgia non è indicata, come ad esempio nei gliomi diffusi del tronco encefalico e nei tumori intramidollari del midollo spinale.(G. Öz et al., 2014) I marker prognostici della Spettroscopia RM sono importanti per la stratificazione del trattamento e possono aiutare a identificare i pazienti che hanno bisogno di un trattamento più intensivo fin dall'inizio per alcuni tipi di tumore.(G. Öz et al., 2014) Per la pianificazione del trattamento neurochirurgico, la Spettroscopia RM svolge un ruolo nella differenziazione delle aree del tumore dai processi benigni e, insieme all'MRI, nello stabilire la loro relazione con le normali strutture chiave cerebrali, in particolare nei gliomi. (G. Öz et al., 2014)

La Spettroscopia RM aggiunge benefici diagnostici e prognostici per Imaging RM e aiuti nella pianificazione del trattamento e nel monitoraggio dei tumori cerebrali.(G. Öz et al., 2014)

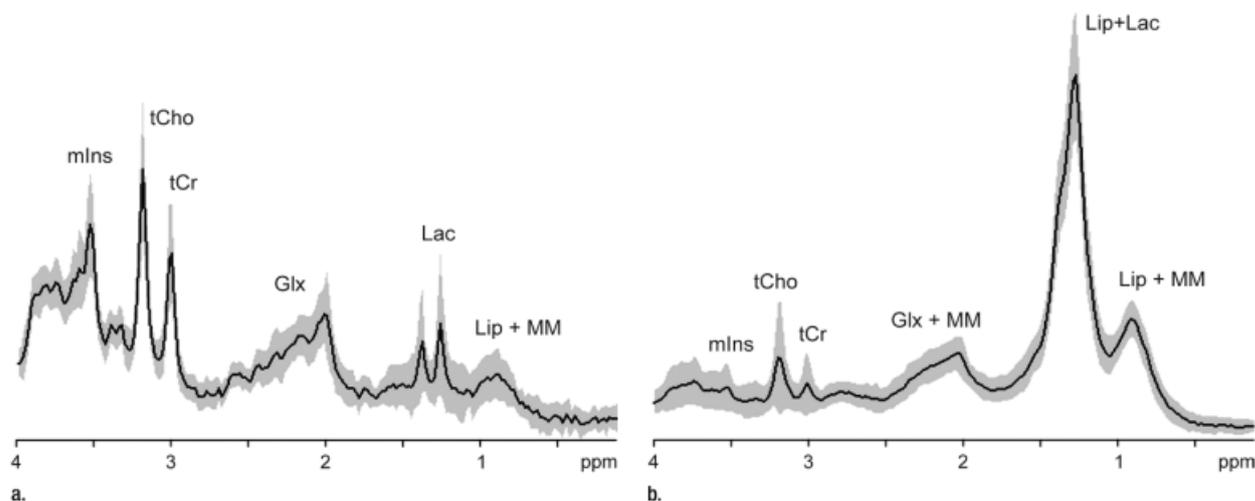


Figura 1.4: Spettroscopia di RM di un astrocitoma. Media (linea spessa) e la deviazione standard (area ombreggiata) dello spettro  $^1H$  (1.5 T, STEAM or PRESS, 2000/30 ms, 128-256 ripetizioni per spettro incluse nella media) in (a) astrocitoma di grado II e (b) astrocitoma di grado IV. Caratteristicamente il rapporto Cho/Cr è alto e l’NAA è assente (G. Öz et al., 2014)

### 1.5.2 Disordini metabolici pediatrici

L’MRS già dal 1990 è una tecnica d’indagine utilizzata negli ospedali pediatrici in quanto non invasiva. Per il neonato, la valutazione quantitativa di Lac (lattato) da ipossia-ischemia cerebrale è uno dei primi segni di imaging indicativi del danno cerebrale clinico. (G. Öz et al., 2014) La Spettroscopia RM può essere utilizzata come mezzo per valutare l’efficacia del trattamento dell’ipotermia, trattamento neuroprotettivo per asfissia perinatale. I disturbi metabolici ereditari costituiscono una larga parte di malattie in neuropediatria. (G. Ancora et al., 2013) I sintomi clinici in alcune malattie metaboliche ereditarie sono causa dell’accumulo di metaboliti che sono neurotossici o interferiscono con il normale funzionamento. Se l’accumulo della sostanza è visibile alla Spettroscopia RM, la sua presenza o quantità elevata nello spettro sono utilizzate per la diagnosi. Altre modifiche minori di un singolo o più metaboliti richiedono un’attenta quantificazione degli spettri RM e il confronto con un pull ben consolidato valori normali. È piuttosto impegnativo ottenere questi

dati per una popolazione pediatrica a causa delle limitazioni associate all'imaging di bambini sani, ma sono cruciali dato che la quantità dei metaboliti varia con lo sviluppo. La lesione cerebrale traumatica è la maggior causa di invalidità e morte tra bambini di età inferiore a 14 anni. Per una gestione clinica efficace, è necessario valutare gli obiettivi a lungo termine, soprattutto per pazienti in coma. In un set di bambini con trauma cranico, un modello di regressione, che incorpora età, scala di Glasgow iniziale del coma e presenza di emorragia retinica e integrato con il rapporto NAA/Cr e spettroscopia RM-Lac visibile entro il primo mese dopo l'incidente, è stata mostrata la distinzione tra gli esiti positivi e negativi. (G. Öz et al., 2014)

# Capitolo 2

## Tools e metodi

### 2.1 Dataset

Per questo lavoro sono stati analizzati i voxel provenienti da diverse aree cerebrali e le rispettive immagini pesate in  $T_1$  degli encefali dei soggetti dello studio. I soggetti considerati sono sani e sono in tutto 35, alcuni volontari hanno fornito dati per più regioni.

I dati provengono da un database anonimizzato dell'IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna, ospedale Bellaria e costituiscono il pool di dati di volontari sani utilizzati come riferimento per le valutazioni cliniche in ambito neurologico. L'IRCCS utilizza l'MRS per la valutazione del metabolismo cerebrale in vari disordini neurologici: tumori cerebrali, disordini del movimento, malattie metaboliche. Nella Tabella 2.1 sono mostrati i dati demografici dei soggetti utilizzati come riferimento per ogni regione cerebrale.

Tabella 2.1: in tabella sono mostrati i dati demografici dello studio

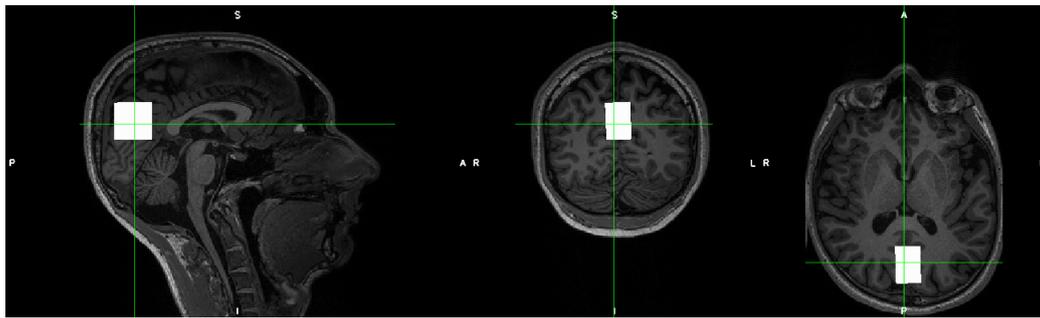
	Corteccia parieto-occipitale mediana	Emisfero cerebellare	Talami	Sostanza bianca parieto-occipitale	Cingolo posteriore	Ventricoli laterali
Sesso (M/F)	6/3	14/8	6/4	12/1	6/4	1/2
Età (media $\pm$ DS) (anni)	40.9 $\pm$ 13.9	44.9 $\pm$ 13.9	47.2 $\pm$ 6.6	33.0 $\pm$ 13.4	57.0 $\pm$ 8.0	38.5 $\pm$ 13.4
Range (anni)	(18:60)	(18:64)	(33:54)	(18:54)	(46:72)	(26:54)

Nella Tabella 2.2 sono mostrati i valori dei parametri di acquisizione dei voxel per le varie regioni studiate, dove TR è il tempo di ripetizione e TE il tempo di echo.

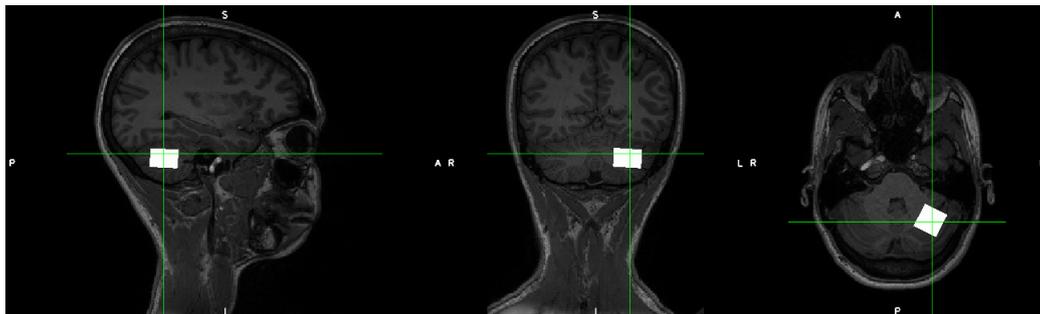
Tabella 2.2: Sono mostrati i valori dei parametri di acquisizione dei voxel per le regioni studiate

	Corteccia parieto-occipitale mediana	Emisfero cerebellare	Talami	Sostanza bianca parieto-occipitale	Cingolo posteriore	Ventricoli laterali
TE (ms)	30	30	30	30	30	144
TR (ms)	2000	2000	2000	2000/4000	2000	1500
Numero volontari	9	22	10	13	10	3
Volume (mL)	18.0	6.0	4.7	8.0	8.0	6.7

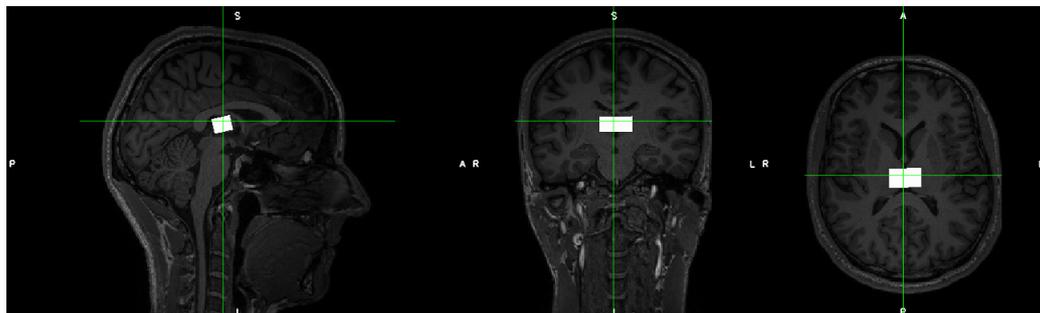
Si osserva che il volume dei voxel è diverso per ogni localizzazione ma è costante per i soggetti che hanno fornito un campione della stessa regione in modo che i risultati siano confrontabili.



(a)

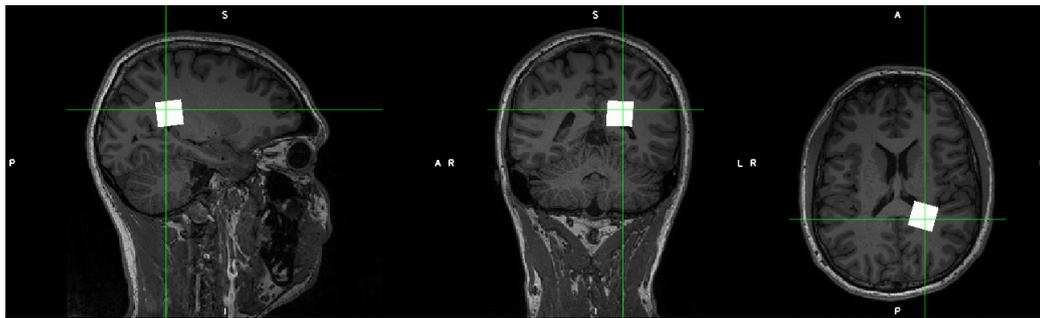


(b)

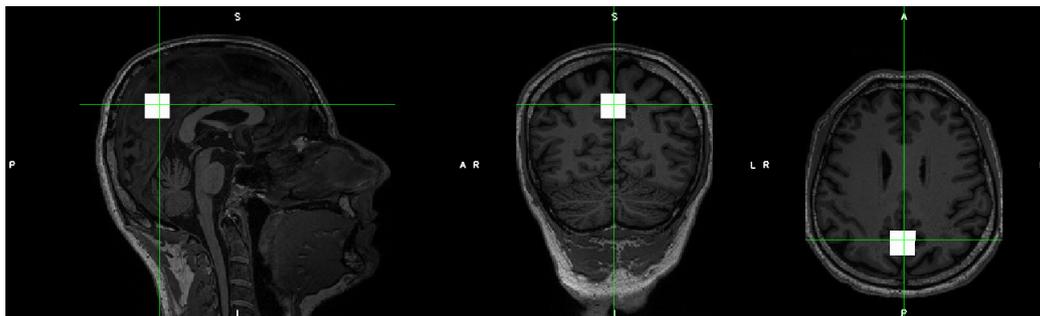


(c)

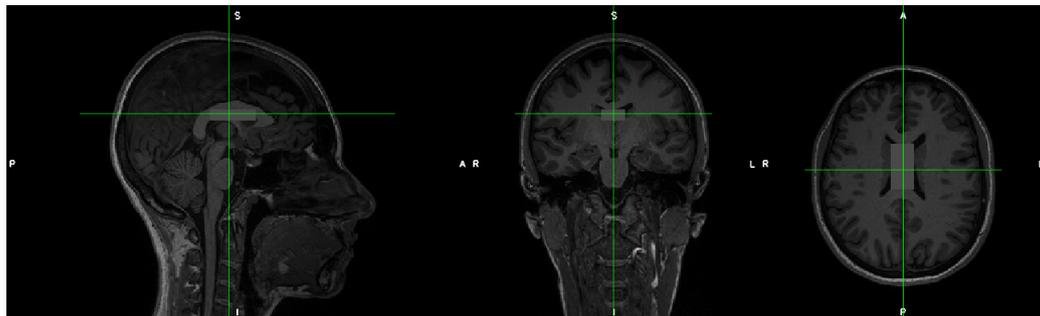
Figura 2.1: In figura si possono osservare le diverse regioni cerebrali osservate per alcuni volontari dello studio. In particolare: (a)corteccia parieto-occipitale, (b)emisfero cerebellare, (c)talami. Le immagini degli encefali sono pesate in  $T_1$  e sono state acquisite con un campo magnetico esterno di 3 T. IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna, Ospedale Bellaria



(d)



(e)



(f)

Figura 2.1: In figura si possono osservare le diverse regioni cerebrali osservate per alcuni volontari dello studio. In particolare: (d) sostanza bianca parieto-occipitale, (e) cingolo posteriore, (f) ventricoli laterali. Le immagini degli encefali sono pesate in  $T_1$  e sono state acquisite con un campo magnetico esterno di 3 T. IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna, Ospedale Bellaria

## 2.2 FSL

FSL (FMRIB Software Library) è una libreria che comprende tool di analisi dati MRI di imaging cerebrale funzionale, strutturale e di diffusione, scritta principalmente dai membri del Analysis Group, FMRIB, Oxford. (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki>)

## 2.3 FSL-MRS

FSL-MRS è un toolbox di FSL di analisi di MRS modulare, end-to-end e open-source, è in grado di fornire la conversione dei dati spettroscopici, operazioni di pre-processing simulazioni spettrali, fitting, quantificazione e visualizzazione dei dati, l'approccio implementato da FSL all'analisi spettroscopica è modulare. La modularità permette allo spettroscopista di fare delle aggiunte alla pipeline di processo senza variare il pacchetto di FSL-MRS.

Il modulo di fitting di FSL si basa sul principio di combinazione lineare di basi spettrali dei metaboliti pre calcolate dal software stesso, ovvero il software produce una serie di spettri di risonanze magnetiche dei vari metaboliti tramite cui si effettua il fitting dei dati sperimentali. Il software è in grado di simulare le basi spettrali basandosi sulle conoscenze a priori degli spin delle molecole dei metaboliti studiati. Tramite l'algoritmo di Monte Carlo che si basa sulla catena di Markov, FSL calcola a posteriori le distribuzioni delle concentrazioni dei metaboliti permettendo di effettuare il fitting.

Le distribuzioni dei metaboliti ottenuti possono venire utilizzate per ulteriori analisi, infatti il software propaga efficientemente gli errori da fitting e permette di fare analisi statistiche. FSL può fornire come output le covarianze dei parametri di fitting e le stime delle concentrazioni dei metaboliti e le loro incertezze. Inoltre il software fornisce un'interfaccia di reporting interattiva per la visualizzazione dei

dati.

La validazione del software è stata effettuata con dati simulati, in fantoccio e su tre set di dati in vivo a 3T e 7T, su 265 soggetti. (W. T. Clarke et al., 2020)

## 2.4 Conversione dei dati e formati

FSL-MRS opera con dati NifTi che è un formato che racchiude anche le informazioni riguardanti l'orientazione spaziale della risonanza spettroscopica sia single-voxel che multi-voxel e permette la memorizzazione di dati risolti in tre dimensioni spaziali, una dimensione temporale e due ulteriori dimensioni non specificate. (X. Li et al., 2016) Per questo il software ha un programma di conversione (spec2nii) per convertire i formati dei dati in NifTi. Spec2nii supporta sette formati in cui generalmente vengono espressi i dati delle risonanze come il formato DICOM.

## 2.5 Segmentazione

La routine di segmentazione di FSL, chiamata FAST, si basa su un modello di Hidden Markov Random Field (HMRF) che è ottimizzato usando l'algoritmo aspettazione-massimizzazione. La segmentazione implementata da FSL richiede che i dati del cervello siano "skull-stripped" (vedi sotto), il primo step è proprio ottenere questa versione usando lo strumento di estrazione del cervello di FSL. Poi la funzione FAST, usando le mappe di probabilità, impostate di default, segmenta il cervello in tre classi di tessuti: sostanza grigia (GM), sostanza bianca (WM) e liquido cefalorachidiano (CSF); poi esegue le correzioni di bias delle segmentazioni.

La segmentazione intracranica, chiamata comunemente skull-stripping, rimuove i tessuti extra-cerebrali come il cranio, i bulbi oculari e la pelle. Lo skull-stripping

facilita la processazione dell'immagine tra cui la segmentazione dei tessuti. (K. Kazemi et al., 2014)

L'Imaging RM è disomogeneo nel campo delle radio frequenze, ciò viene tradotto nella non uniformità dell'intensità del segnale nell'encefalo studiato. Perciò lo strumento FAST corregge la non uniformità dell'intensità. Una correzione accurata dell'intensità richiede una conoscenza della segmentazione e viceversa. La routine di segmentazione si basa sul modello HMRF ed è associata all'algoritmo di aspettazione-massimizzazione. In questo metodo, l'istogramma dell'immagine di input è modellizzato come una combinazione di Gaussiane con media e varianza di ogni classe. La segmentazione permette la ricostruzione dell'immagine, sottraendola dall'immagine reale fornisce una stima della non uniformità. Questo processo viene iterato più volte tra la segmentazione la correzione della non uniformità dell'intensità fino a quando non si ottiene la convergenza. Gli output sono la versione del dato di input con l'uniformità corretta e con la segmentazione di GM, WM e CSF.

Le statistiche bayesiane, utilizzate dal software, forniscono un metodo per correggere i dati empirici (sotto forma di funzioni di densità di probabilità (PDF)) in presenza di nuove informazioni. La legge di Bayes indica come interpretare i dati per migliorare le nostre conoscenze a priori. Spesso nel neuroimaging i dati provenienti da voxel differenti sono considerati condizionalmente indipendenti. Questo significa che la verosimiglianza può essere fattorizzata sui voxel. Generalmente ci si interessa della PDF a posteriori di un singolo parametro o di un sottoinsieme di parametri. Per ottenere queste PDF vanno risolti integrali solitamente non trattabili analiticamente. La statistica bayesiana richiede la conoscenza a priori dei parametri del modello. Le conoscenze biofisiche a priori codificano ciò che risulta biologicamente plausibile, nella statistica bayesiana le informazioni a priori possono essere codificate in forma di distribuzioni di probabilità a priori.

Vi sono conoscenze a priori che possono essere utilizzate per “regolarizzare” i parametri. Ad esempio, una regolarizzazione spaziale a priori fornisce la probabilità che un voxel abbia il valore di un parametro simile a quello del voxel vicino. Questo è cruciale nella routine FAST. Il modello predice i dati strutturali della risonanza magnetica sotto forma di istogrammi. L’istogramma dell’intensità dell’immagine è modellizzato come la combinazione di distribuzioni, dove ogni tipo di tessuto è modellizzato come una distribuzione gaussiana. Le medie e le varianze di queste distribuzioni spaziali sono parametri nel modello insieme alla classificazione dei parametri che etichettano l’appartenenza a una classe dei voxel. FAST colloca il modello generativo nel framework bayesiano e implementa l’istogramma di modello con una regolarizzazione spaziale a priori sui parametri di classificazione. Questo riduce molto l’effetto del rumore nella segmentazione ( vedi Figura 2.2). (M. W. Woolrich et al., 2008)

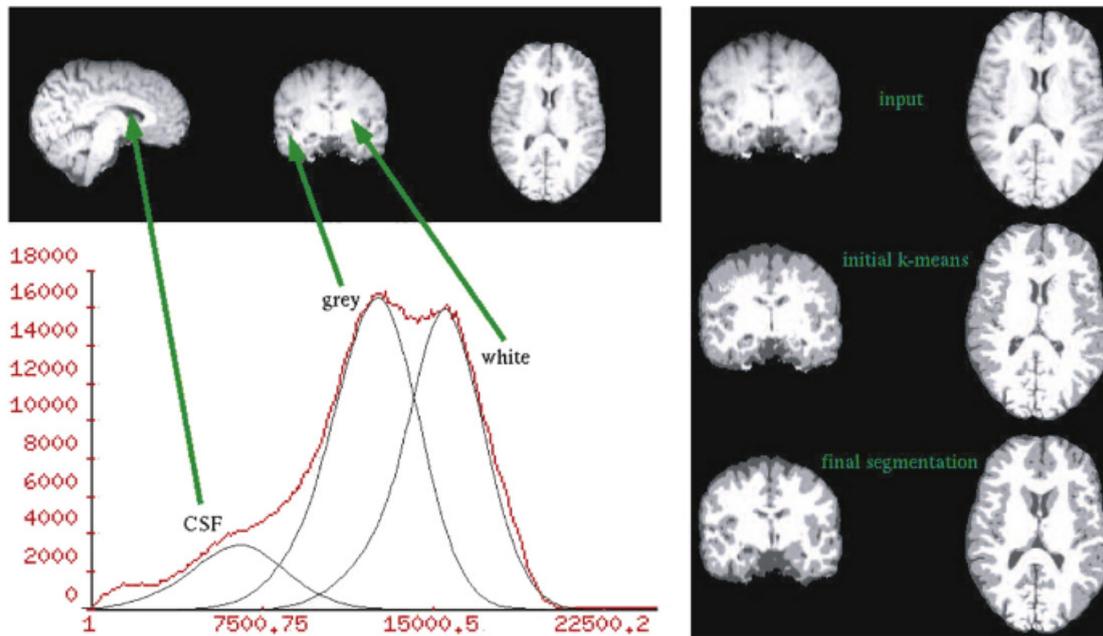


Figura 2.2: Esempio di segmentazione di una MRI strutturale nei tipi di tessuti utilizzando la routine FAST. Il fulcro dell'approccio è un modello generativo che predice i dati sotto forma di istogramma formato dalla combinazione delle distribuzioni dove ogni tipo di tessuto è modellizzato con una distribuzione gaussiana. Una parte del modello è costituita dalla classificazione dei parametri che indicano a quale classe di tessuto il voxel appartenga. I parametri sono spazialmente regolarizzati a priori per migliorare la segmentazione. (M. W. Woolrich et al., 2008)

## 2.6 Visualizzazione dei dati

Per la visualizzazione dei dati del lavoro ci si è affidati al tool di FSL FSLeves che permette la visualizzazione dell'immagine dell'encefalo lungo i tre assi. Inoltre è possibile sovrapporre all'immagine cerebrale il voxel analizzato dalla spettroscopia in modo da poterlo localizzare. Nella Figura 2.3 è possibile osservare il framework di lavoro di FSLeves.

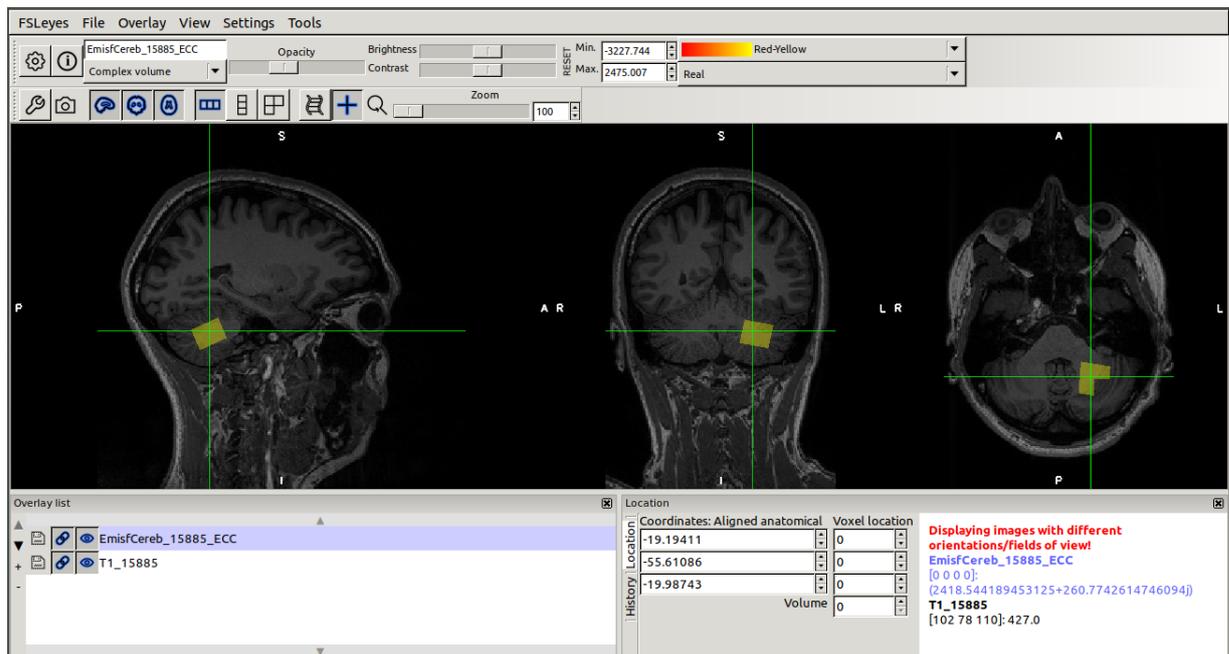


Figura 2.3: Si può osservare il framework di FSLeves (il visualizzatore di FSL), in particolare si può notare il set di operazioni che possono essere effettuate per evidenziare le immagini sovrapposte, l'immagine dell'encefalo è mostrata rispetto alle tre direzioni spaziali.

# Capitolo 3

## Risultati e discussione

### 3.1 Caratterizzazione delle misure

FSL permette di valutare la segmentazione dei tessuti del voxel in analisi e la sua localizzazione sull'immagine MRI ad alta definizione. La segmentazione indica le percentuali di sostanza bianca, liquido cefalorachidiano e sostanza grigia presenti in una determinata area cerebrale.

Per valutare la bontà della segmentazione si confrontano i risultati ottenuti per voxel di campioni sani di cui è nota la localizzazione con quanto atteso qualitativamente.

Dal contrasto delle immagini è stata valutata la segmentazione di diversi voxel provenienti dai soggetti sani di diverse zone cerebrali, è stata poi calcolata la media, la deviazione standard (DS) e il coefficiente di variazione (CV) delle percentuali per i vari tipi di tessuto e si è verificata la compatibilità con quanto atteso a priori; per i pazienti, la cui segmentazione si discosta maggiormente dalla media, è stato localizzato il voxel sull'immagine MRI pesata in  $T_1$  del proprio encefalo in maniera da verificare che la localizzazione e quindi la segmentazione siano corrette.

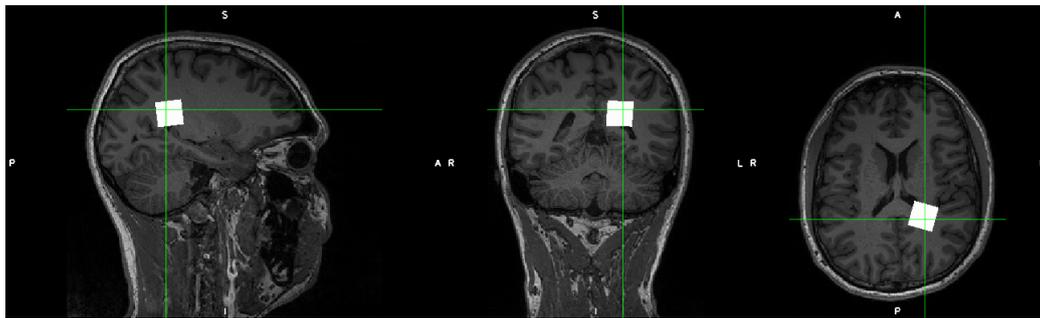
Nella Tabella 3.1 sono mostrati i valori della segmentazione dei voxel della sostanza

bianca parieto-occipitale. Come atteso qualitativamente la sostanza bianca rappresenta la maggior parte del volume del voxel. Le deviazioni standard sono piccole per cui i campioni non si discostano molto dalla media.

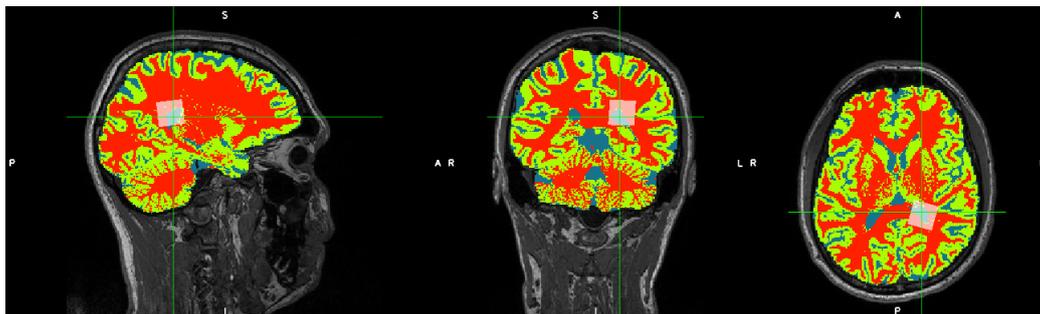
Tabella 3.1: Sono mostrati i valori percentuali della segmentazione dei voxel della sostanza bianca parieto-occipitale. La sostanza bianca rappresenta la maggior parte del volume del voxel

Numero identificativo	CSF	GM	WM
00003	0.04	0.09	0.86
02614	0.11	0.07	0.82
02887	0.04	0.08	0.88
06618	0.02	0.17	0.81
13210	0.03	0.18	0.78
22252	0.15	0.04	0.81
25812	0.09	0.01	0.89
78381	0.12	0.07	0.81
85256	0.18	0.07	0.75
93467	0.11	0.06	0.83
Media	0.09	0.09	0.82
DS	0.05	0.05	0.04
CV	0.56	0.56	0.05

I soggetti 85256 e 13210 hanno i valori di segmentazione che si discostano maggiormente dalla media. Per verificare la bontà della segmentazione si è osservata la localizzazione dei voxel dei campioni in sovrapposizione prima rispetto alla risonanza magnetica pesata in  $T_1$  e poi con anche mostrata la segmentazione dei tessuti (vedi Figura 3.1 e Figura 3.2).



(a)



(b)

Figura 3.1: (a) Voxel del soggetto 85256 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in  $T_1$ , il voxel appare ben localizzato nella zona d'interesse; (b) Voxel del soggetto 85256 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in  $T_1$  con evidenziati i vari tessuti, la segmentazione del voxel è coerente con quanto visualizzato in  $T_1$

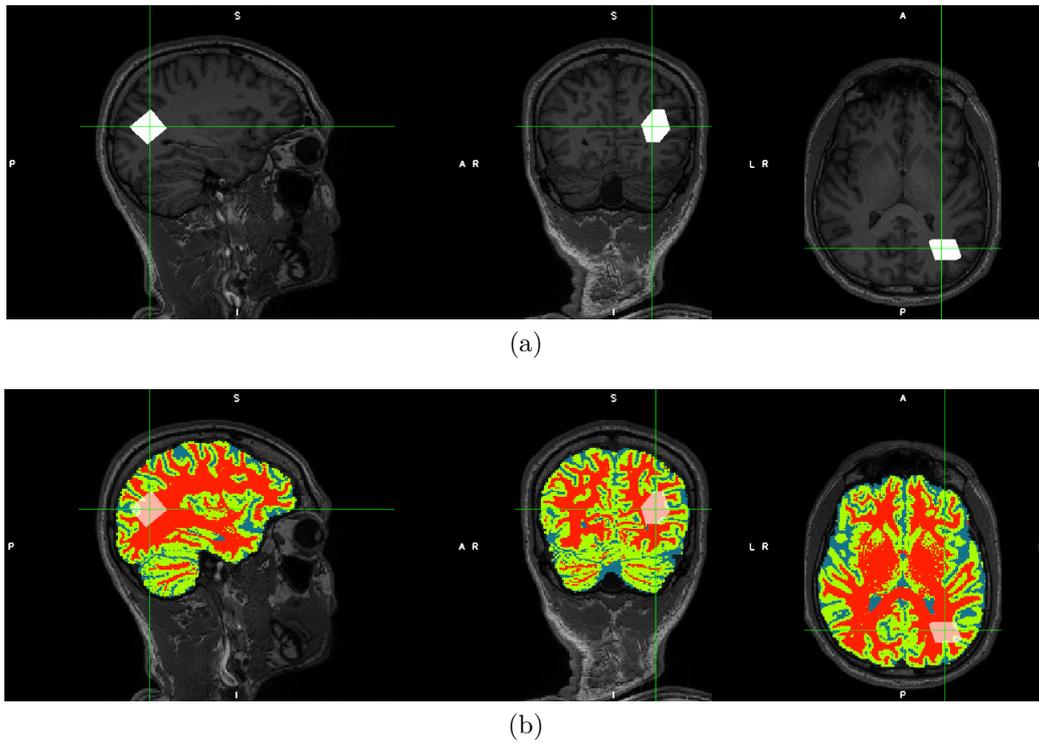


Figura 3.2: (a) Voxel del soggetto 13210 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in  $T_1$ , il voxel appare ben localizzato nella zona d'interesse; (b) Voxel del soggetto 13210 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in  $T_1$  con evidenziati i vari tessuti, la segmentazione del voxel è coerente con quanto visualizzato in  $T_1$

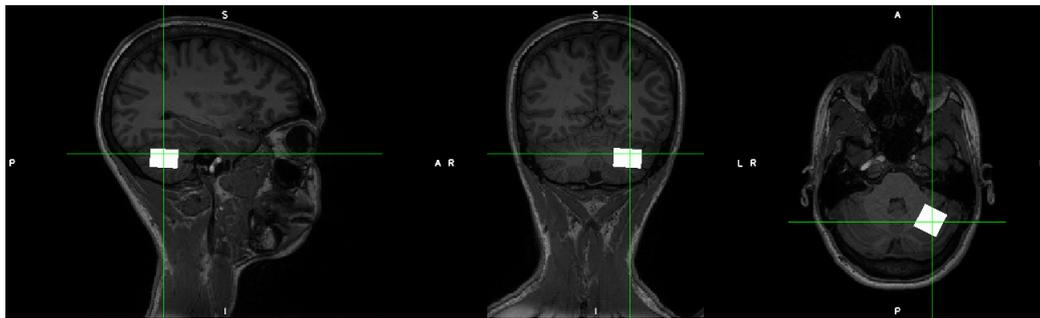
I voxel dei pazienti sono ben localizzati e la segmentazione è coerente con quanto visualizzato nell'immagine in  $T_1$ .

Nella Tabella 3.2 si possono osservare le percentuali dei tessuti dell'emisfero cerebellare sinistro, la sostanza bianca occupa la maggior parte del volume dei voxel. I valori della segmentazione per l'emisfero cerebellare hanno deviazioni standard molto ampie data la vastità della zona interessata, per cui la percentuale di tessuti varia consistentemente da punto a punto dell'emisfero.

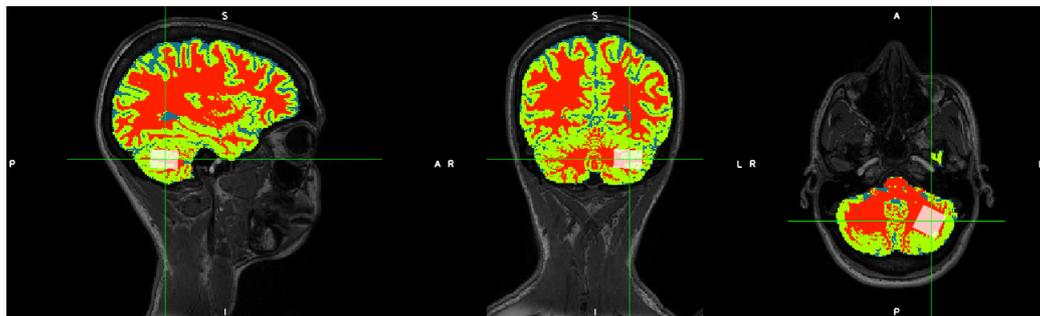
Tabella 3.2: Sono mostrati i valori percentuali della segmentazione dei voxel dei tessuti dell'emisfero cerebellare sinistro. La sostanza bianca occupa la maggior parte del volume dei voxel

Numero identificativo	CSF	GM	WM
00027	0.00	0.34	0.66
02614	0.01	0.14	0.85
02887	0.02	0.28	0.70
11918	0.00	0.39	0.61
13210	0.01	0.38	0.61
14011	0.00	0.20	0.80
15885	0.00	0.26	0.74
21249	0.00	0.20	0.80
23482	0.01	0.35	0.65
24946	0.01	0.33	0.66
27772	0.00	0.22	0.78
30716	0.00	0.33	0.67
32740	0.00	0.34	0.66
37440	0.00	0.42	0.58
37521	0.00	0.39	0.61
37757	0.02	0.51	0.47
45302	0.00	0.28	0.72
46125	0.00	0.28	0.72
78218	0.11	0.07	0.82
79206	0.00	0.14	0.86
85256	0.00	0.28	0.72
Media	0.01	0.29	0.70
DS	0.02	0.10	0.10
CV	2.00	0.34	0.14

È stato in particolare osservato il paziente 37757 che si discosta maggiormente dal valore medio (vedi Figura 3.3).



(a)



(b)

Figura 3.3: (a) Voxel del soggetto 37757 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in  $T_1$ , il voxel appare ben localizzato nella zona d'interesse; (b) Voxel del soggetto 37757 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in  $T_1$  con evidenziati i vari tessuti, la segmentazione del voxel è coerente con quanto visualizzato in  $T_1$

Quindi il risultato ottenuto dalla segmentazione è coerente con quanto si osserva dalla MRI, inoltre il voxel risulta ben localizzato nell'area d'interesse. Tuttavia dall'immagine coronale si può apprezzare che parte del tessuto incluso nel voxel è sostanza grigia (in verde) e questo spiega una percentuale più alta di questo tessuto.

Nella Tabella 3.3 sono mostrati i valori dei ventricoli laterali, i quali sono stati localizzati e acquisiti solo in pochi soggetti, inoltre c'è un'ampia variabilità inter soggetto del volume dei ventricoli; di conseguenza i valori della segmentazione sono molto variabili e la deviazione standard è ampia.

Dei tre casi è riportato, nella Figura 3.4, a scopo esemplificativo solo il 00003 di cui viene mostrata la localizzazione che risulta accurata e comprende un'ampia zona di volume dei ventricoli.

Tabella 3.3: Sono mostrati i valori percentuali della segmentazione dei voxel dei ventricoli. Il liquido cefalorachidiano rappresenta la maggior parte del volume dei voxel dei ventricoli, questo determina una scarsa intensità del segnale

Numero identificativo	CSF	GM	WM
00003	0.62	0.18	0.20
00027	0.38	0.38	0.24
93467	0.32	0.28	0.40
Media	0.44	0.28	0.28
DS	0.16	0.10	0.10
CV	0.36	0.36	0.36

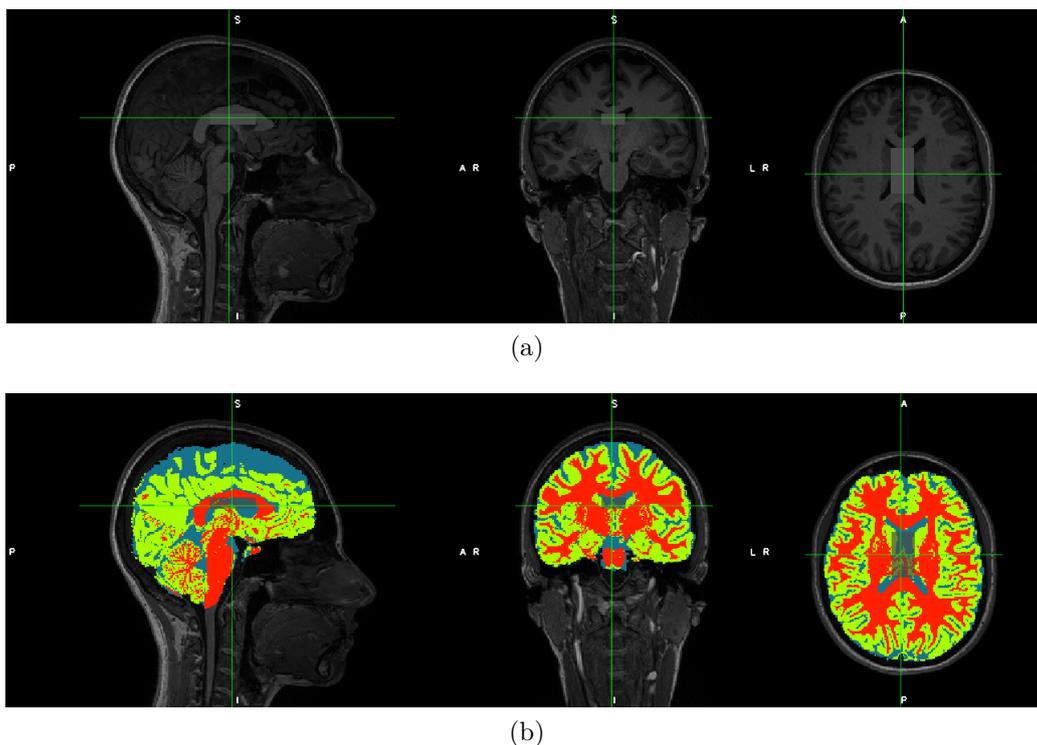


Figura 3.4: (a) Voxel del soggetto 00003 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in  $T_1$ , il voxel appare ben localizzato nella zona d'interesse; (b) Voxel del soggetto 00003 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in  $T_1$  con evidenziati i vari tessuti, la segmentazione del voxel è coerente con quanto visualizzato in  $T_1$

Si osserva che il voxel in questo caso risulta poco luminoso quindi il segnale è basso perché l'intensità del voxel è riferita all'intensità dei metaboliti cerebrali che nei ventricoli non sono presenti. La localizzazione risulta coerente con quanto noto e la segmentazione è concorde con quanto visualizzato in  $T_1$ .

Dalla Tabella 3.4 si osserva che nei talami la sostanza bianca e quella grigia rappresentano circa la stessa percentuale di tessuto perché l'algoritmo di segmentazione non riesce a discriminare correttamente la sostanza grigia profonda di cui sono costituiti i talami dalla sostanza bianca limitrofa (FAST non è l'algoritmo indicato per la segmentazione dei talami). Tutti i dati risultano coerenti quindi la deviazione standard è piccola.

Tabella 3.4: Sono mostrati i valori percentuali della segmentazione dei voxel dei talami. La sostanza bianca e grigia sono presenti con uguali percentuali, questo perché l'algoritmo FAST non è idoneo alla segmentazione dei talami

Numero identificativo	CSF	GM	WM
00050	0.21	0.34	0.45
11918	0.14	0.43	0.44
13210	0.10	0.45	0.46
23482	0.14	0.39	0.47
25812	0.07	0.34	0.59
30716	0.13	0.50	0.37
32740	0.11	0.47	0.47
85256	0.18	0.43	0.39
Media	0.13	0.42	0.45
DS	0.04	0.06	0.07
CV	0.31	0.14	0.16

Il soggetto sano 25812 si discosta maggiormente dai valori medi per cui è stato analizzato in particolare (vedi Figura 3.5).

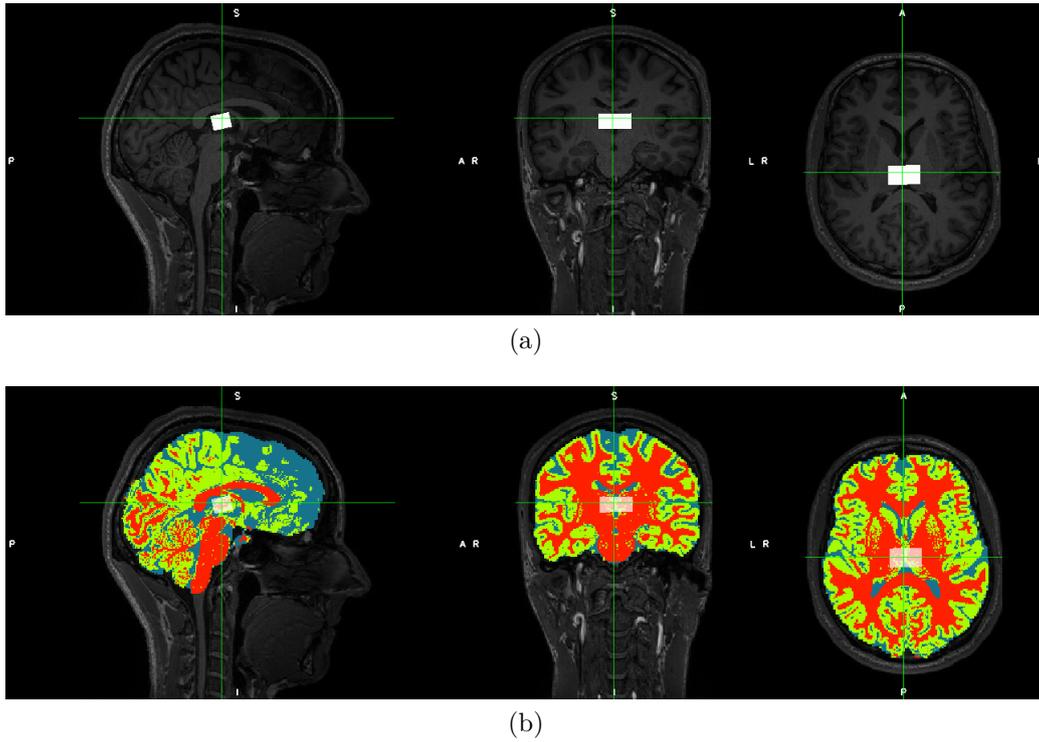


Figura 3.5: (a) Voxel del soggetto 25812 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in  $T_1$ , il voxel appare ben localizzato nella zona d'interesse; (b) Voxel del soggetto 25812 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in  $T_1$  con evidenziati i vari tessuti, la segmentazione del voxel è coerente con quanto visualizzato in  $T_1$

Il voxel è ben localizzato quindi la sua segmentazione è corretta.

La corteccia parieto-occipitale mostra un'alta concentrazione di sostanza grigia, mentre le concentrazioni di liquor e sostanza bianca sono simili. Le segmentazioni dei campioni non presentano discrepanze. Nella Tabella 3.5 sono mostrati i valori della segmentazione dei voxel della corteccia parieto-occipitale, la maggior parte del volume del voxel è occupata, come atteso, dalla sostanza grigia.

Tabella 3.5: Sono mostrati i valori percentuali della segmentazione dei voxel della corteccia parieto-occipitale. La maggior parte del volume del voxel è occupata dalla sostanza grigia

Numero identificativo	CSF	GM	WM
02614	0.19	0.62	0.19
02887	0.17	0.56	0.27
11918	0.16	0.57	0.26
13210	0.24	0.55	0.21
14011	0.20	0.55	0.25
19496	0.17	0.59	0.24
19559	0.17	0.60	0.23
32740	0.19	0.58	0.23
76605	0.17	0.59	0.25
Media	0.19	0.58	0.24
DS	0.02	0.02	0.03
CV	0.10	0.03	0.13

Il cingolo posteriore mostra una predominanza di sostanza grigia e quantitativi uguali di sostanza bianca e liquido cefalorachidiano. Nella Tabella 3.6 sono mostrati i suoi valori.

Tabella 3.6: Sono mostrati i valori percentuali della segmentazione dei voxel del cingolo posteriore. La sostanza bianca e il liquido cefalorachidiano occupano la maggior parte del volume dei voxel

Numero identificativo	CSF	GM	WM
00050	0.36	0.47	0.16
13210	0.17	0.60	0.23
14011	0.10	0.59	0.31
23482	0.20	0.56	0.24
27772	0.20	0.61	0.19
30716	0.28	0.55	0.17
45302	0.38	0.46	0.16
78869	0.31	0.52	0.17
79206	0.17	0.58	0.25
85582	0.23	0.55	0.22
Media	0.22	0.54	0.25
DS	0.11	0.07	0.13
CV	0.50	0.13	0.52

Il soggetto sani 00050 presenta una segmentazione peculiare, infatti presenta una percentuale di liquor molto superiore alla media. È stato quindi analizzato particolarmente nella Figura 3.6.

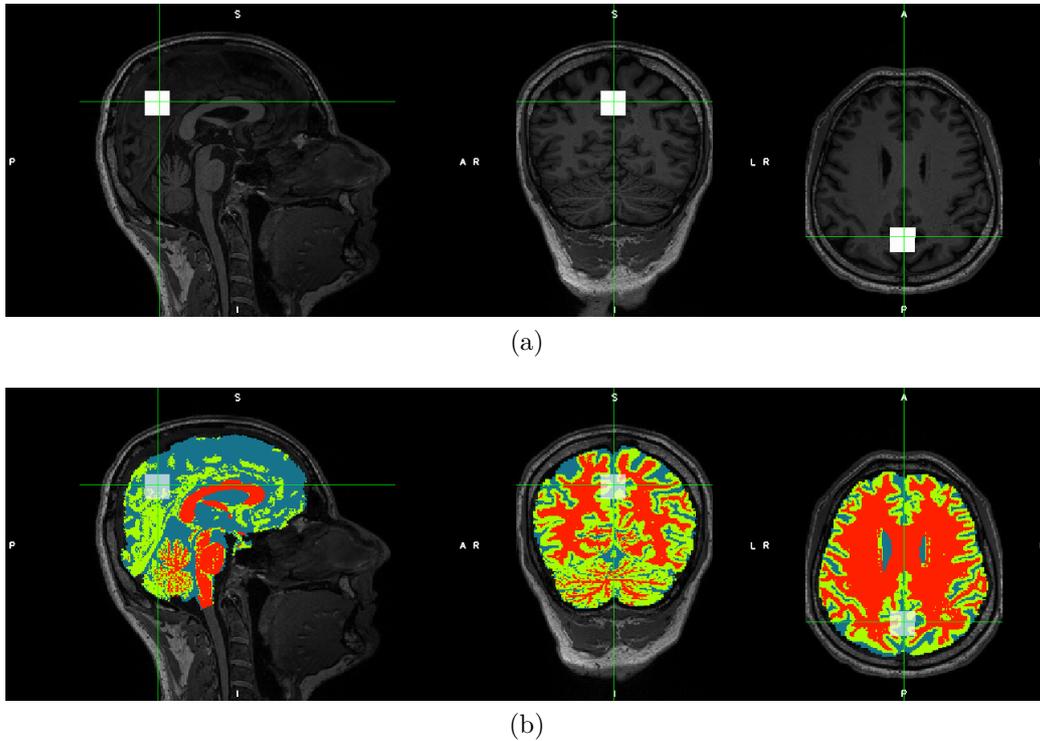


Figura 3.6: (a) Voxel del soggetto 00050 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in  $T_1$ , il voxel appare ben localizzato nella zona d'interesse; (b) Voxel del soggetto 00050 localizzato nell'immagine dell'encefalo pesata in  $T_1$  con evidenziati i vari tessuti, la segmentazione del voxel è coerente con quanto visualizzato in  $T_1$

Il voxel del paziente 00050 è ben localizzato e risulta comprendere particolarmente liquor a causa di un'atrofia della corteccia

## 3.2 Discussione

I valori della segmentazione confermano che i voxel analizzati sono stati acquisiti nella regione cerebrale d'interesse; infatti il tessuto che costituisce la regione analizzata è quello che prevale nella segmentazione e il suo coefficiente variazionale è

minimo. Queste ultime considerazioni non valgono per i talami nonostante le acquisizioni siano ben localizzate, questo perché l'algoritmo FAST non è idoneo alla loro segmentazione in quanto non è in grado di discernere la sostanza grigia profonda da quella bianca perciò i valori delle loro percentuali di segmentazione sono pressoché uguali e il valore del loro CV è alto. Ad avvalorare la bontà della segmentazione e della localizzazione dell'acquisizione la deviazione standard della segmentazione del tessuto costituente della regione analizzata è bassa.

## Capitolo 4

# Conclusioni

In questo lavoro è stata studiata la segmentazione calcolata dall'algoritmo FAST di FSL-MRS dei voxel provenienti da un database anonimizzato dell'IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna, ospedale Bellaria che costituiscono il pool di dati di volontari sani utilizzati come riferimento per le valutazioni cliniche in ambito neurologico.

L'interesse ad utilizzare FSL per l'analisi dei dati di spettroscopia è dovuto al fatto che non è a pagamento e utilizza un approccio come quello di LCModel che è il software maggiormente utilizzato in questo ambito ed è solo recentemente diventato gratuito. Inoltre FSL offre più tool rispetto ad LCModel come la routine FAST di segmentazione che è stata valutata in questa Tesi.

### 4.1 Controllo qualità

Il tessuto che prevale nella segmentazione delle varie aree cerebrali è quello che costituisce la regione e il suo coefficiente variazionale è minimo, ciò indica che i voxel analizzati sono stati acquisiti correttamente nella regione d'interesse. Nonostante i voxel dei talami siano stati acquisiti correttamente, presentano valori di segmentazioni simili per sostanza bianca e grigia e valori coefficienti di variazioni alti; questo

perché l'algoritmo FAST non è idoneo alla loro segmentazione in quanto non è in grado di discernere la sostanza grigia profonda da quella bianca limitrofa.

Ad avvalorare la bontà della segmentazione e della localizzazione dell'acquisizione la deviazione standard della segmentazione del tessuto costituente della regione analizzata è bassa.

Per i volontari la cui segmentazione appariva discostata dalla media è stato verificato che il voxel fosse ben localizzato e che la segmentazione fosse coerente con la struttura anatomica cerebrale del soggetto. Per farlo, tramite il tool FSLeyes, è stato sovrapposto il voxel all'immagine dell'encefalo pesata in  $T_1$  con la segmentazione.

# Bibliography

- [G. Öz et al., 2014] *Clinical Proton MR Spectroscopy in Central Nervous System Disorders, RSNA*
- [W. T. Clarke et al., 2020] *FSL-MRS: An end-to-end spectroscopy analysis package, Magnetic Resonance in Medicine, Volume 85, Issue 6, June 2020, Pages 2950-2964*
- [K. Kazemi et al., 2014] *Quantitative Comparison of SPM, FSL, and Brainsuite for Brain MR Image Segmentation, Journal of Biomedical Physics and Engineering 4(1): 13-26*
- [M. W. Woolrich et al., 2008] *Bayesian analysis of neuroimaging data in FSL, Elsevier Neuro Image, Volume 45, Issue 1, Supplement 1, March 2009, Pages S173-S186*
- [G. Ancora et al.] *Prognostic value of brain proton MR spectroscopy and diffusion tensor imaging in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy treated by brain cooling, Neuroradiology, August 2013, 55(8):1017-25*
- [X. Li et al.] *The first step for neuroimaging data analysis: DICOM to NIfTI conversion, Elsevier Journal of Neuroscience Methods, Volume 264, May 2016, Pages 47-56*
- [M. Ciaccio et al.] *Biochimica Clinica e Medicina di Laboratorio, Edises, Capitolo 38, 2018*

# Ringraziamenti

Ringrazio la Professoressa Testa e la Dottoressa Evangelisti per la disponibilità dimostrata. Grazie anche alla mia famiglia: mamma, papà, Luca e i nonni che si sono sempre interessati del mio percorso e mi hanno sostenuta. Un grazie particolare va a Salvatore che mi ha sempre supportata, incoraggiata in questi anni di studi, incuriosita e spronata; tutto questo è anche merito tuo. Grazie ad Anna, mia amica da anni, che ha ascoltato ogni mia lamentela e dato consigli che io ovviamente non ho seguito, grazie per la tua pazienza. Grazie a Elena, mia compagna di laboratorio, senza di te sarebbe stato molto meno divertente, se dovessi ringraziarti per ogni risata che mi hai regalato non finiremmo più. Grazie a Vittorio, mio vicino di banco, grazie per avermi sopportata, nessuna lezione era noiosa con te. Grazie a Lorenzo e Alessandro, mi avete stimolata e incoraggiata a studiare. Grazie a Mr. G, mi ha insegnato il valore dell'amicizia. Grazie alle mie faine, che dopo ogni partita mi hanno fatto dimenticare l'università. Grazie alla mia staff: Giuli, Maya, Sam, Gio e Gano, che mi hanno sempre dato un buon motivo per non studiare e soprattutto mi hanno insegnato come è fatta l'India. Grazie a Indiana e Aslan, grandi compagni di ripetizioni. Grazie a Francesco e Dario, miei "compagni" di studio.