

**ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA**

---

**SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA**

*CAMPUS DI CESENA*

*CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN INGEGNERIA BIOMEDICA*

**TESI DI LAUREA**

in

Bioimmagini E Visione Lm

**SVILUPPO DI TECNICHE DI SPECKLE TRACKING PER  
LA CORREZIONE DEL MOVIMENTO IN ECOGRAFIA  
EPATICA PERFUSIONALE**

**CANDIDATO**  
Simone Pertutti

**RELATORE**  
Chiar.ma Prof. Cristiana Corsi

**CORRELATORI**  
Ivan Amat-Roldan  
Dario Turco

Anno Accademico 2012/13

Sessione III

# Sommario

<b>Introduzione.....</b>	<b>3</b>
--------------------------	----------

<b>1 CLEVER – UN NUOVO STRUMENTO CLINICO PER LA GESTIONE DEI PAZIENTI CIRROTICI .....</b>	<b>5</b>
-------------------------------------------------------------------------------------------	----------

1.1 Il progetto CLEVER.....	5
1.2 Le malattie croniche del fegato.....	6
1.2.1 Cirrosi.....	8
1.2.2 Ipertensione portale.....	9
1.3 Stato dell’arte nella stratificazione dei rischi dei pazienti cirrotici .....	11
1.3.1 Misurazione del gradiente pressorio venoso del fegato .....	11
1.4 Ecografia epatica con mezzo di contrasto.....	14

<b>2 SPECKLE TRACKING IN VITRO .....</b>	<b>19</b>
------------------------------------------	-----------

2.1 Correzione dei movimenti respiratori.....	19
2.2 Speckle tracking .....	23
2.3 Costruzione della sequenza eco sintetica .....	27
2.4 Speckle tracking su sequenze eco sintetiche .....	30
2.5 Simulazioni e risultati .....	32
2.5.1 Intensità del campo di deformazione.....	34
2.5.2 Filtraggio .....	37
2.5.3 Dimensione della ROI .....	39

<b>3</b>	<b>SPECKLE TRACKING IN VIVO .....</b>	<b>41</b>
3.1	Speckle tracking su sequenze eco reali .....	41
3.2	Simulazioni e risultati .....	44
3.2.1	Dimensione della ROI .....	46
3.2.2	Utilizzo della soglia .....	47
3.2.3	Dimensione dell'area di ricerca .....	50
3.2.4	Posizione della ROI .....	51
3.2.5	Risultati finali .....	53
	<b>Conclusioni.....</b>	<b>56</b>
	<b>Bibliografia .....</b>	<b>58</b>

# Introduzione

La presente tesi descrive il lavoro svolto in Expert Ymaging S.L. nell'ambito del progetto europeo CLEVER, che ha come obiettivo il miglioramento della gestione dei pazienti cirrotici. I due obiettivi principali nella gestione dei pazienti cirrotici sono la cura delle malattie croniche del fegato e la diagnosi precoce delle loro complicazioni, in particolare dell'ipertensione portale, che è la causa principale di ammissione ospedaliera, trapianto di fegato e morte per questi pazienti. Il progetto mira a sostituire la tecnica attualmente in uso, la misurazione del gradiente pressorio venoso del fegato (HVPG, hepatic venous pressure gradient), invasiva e costosa, con una procedura non invasiva basata sull'analisi automatica delle immagini fornite dall'ecografia epatica con mezzo di contrasto, le cui potenzialità non sono ancora pienamente sfruttate dai clinici. Nell'ambito del progetto CLEVER si vogliono in particolare utilizzare le informazioni emodinamiche e perfusionali ricavabili dalle immagini ecografiche con mezzo di contrasto per costruire un modello a grafo della rete vascolare epatica. L'analisi della connettività del grafo rappresenta infatti una strategia molto promettente che potrebbe sostituire la misurazione del gradiente pressorio venoso del fegato nella gestione dei pazienti cirrotici.

Durante l'acquisizione con mezzo di contrasto il fegato non rimane fermo. Questi movimenti, dovuti principalmente alla respirazione, devono essere corretti in quanto sono causa di artefatti nelle curve tempo-intensità che descrivono la perfusione dei vasi. Questi artefatti rendono inaccurato lo studio della correlazione temporale di tali curve, che rappresenta il primo passo dell'analisi automatica dei dati ai fini della costruzione del modello a grafo della rete vascolare epatica. Il periodo trascorso in Expert Ymaging S.L. è stato per questi motivi interamente dedicato allo sviluppo di un algoritmo di speckle tracking

per la correzione dei movimenti del fegato in sequenze ecografiche con mezzo di contrasto. L'algoritmo è stato testato sia in vitro, utilizzando sequenze ecografiche sintetiche appositamente realizzate, sia in vivo, su sequenze ecografiche reali fornite dall'Ambulatorio di Ecografia diagnostica ed interventistica del reparto di Medicina Interna del Policlinico Sant'Orsola di Bologna.

La tesi è suddivisa in tre capitoli. Il Capitolo 1 è interamente dedicato al progetto CLEVER. Tale capitolo si apre con una breve introduzione sulla cirrosi e sulle sue principali complicazioni, quindi illustra i limiti della tecnica attualmente in uso nella pratica clinica per stratificare i rischi dei pazienti cirrotici e spiega in che modo l'ecografia dinamica con mezzo di contrasto può essere utilizzata per superare tali limiti. Il Capitolo 2 illustra le ragioni per cui si rende necessaria la correzione del movimento, descrive la strategia adottata, illustra l'implementazione in Matlab di tale strategia e mostra i risultati ottenuti nelle simulazioni in vitro. Il capitolo 3 descrive infine le modifiche introdotte per applicare la tecnica in vivo e illustra i risultati delle simulazioni effettuate sulle sequenze ecografiche reali.

# Capitolo 1

## **CLEVER - UN NUOVO STRUMENTO CLINICO PER LA GESTIONE DEI PAZIENTI CIRROTICI**

### **1.1 Il progetto CLEVER**

Il progetto CLEVER è un progetto europeo della durata di quattro anni che coinvolge l'Università di Bologna, Expert Ymaging S.L. e il consorzio IDIBAPS (Consorti Institut D'Investigacions Biomediques August Pi I Sunyer). Il nome completo del progetto è “Contrast-enhanced ultrasound for livEr-disease evaluation: development and validation of a novel E-health software for Risk stratification”. CLEVER mira infatti a sviluppare, validare e trasferire nella pratica clinica un software medico da utilizzare in ecografia epatica con mezzo di contrasto (DCE-US, dynamic contrast-enhanced ultrasound) per classificare i rischi di complicazioni dei pazienti cirrotici. Il progetto propone in particolare di valutare il grado di disordine della rete vascolare intraepatica. Le alterazioni della rete sono infatti fortemente correlate con l'ipertensione portale e l'insufficienza epatica, che sono le due complicazioni più frequenti e pericolose della cirrosi, dunque un'opportuna analisi dell'albero vascolare potrebbe consentire una stratificazione oggettiva dei rischi di complicazioni dei pazienti cirrotici analoga a quella che si ottiene facendo uso di tecniche più invasive e costose come la misura del gradiente pressorio

venoso del fegato (HPVG, hepatic venous pressure gradient), che rappresenta la tecnica attualmente in uso. Il coinvolgimento di partner provenienti dal mondo accademico, dal mondo clinico e da quello industriale dovrebbe garantire lo sviluppo di un prodotto realmente in grado di soddisfare i bisogni clinici nel campo dell'epatologia.

## 1.2 Le malattie croniche del fegato

Le malattie croniche del fegato (CLD, chronic liver diseases) rappresentano una delle principali minacce a livello mondiale. Nell'Unione Europea (UE) tali malattie colpiscono approssimativamente il 6% della popolazione, per un totale di circa 29 milioni di persone<sup>1</sup>. Una vasta percentuale di queste persone (10-30%) sviluppa una patologia detta fibrosi epatica, caratterizzata dall'accumulo di tessuto cicatriziale che impedisce gli scambi tra le cellule epatiche e i vasi sanguigni, indispensabili per il corretto funzionamento del fegato<sup>2</sup>. Il fegato infatti svolge un ruolo fondamentale:

- nel metabolismo;
- nella neutralizzazione delle sostanze tossiche;
- nella produzione di proteine.

Questa cicatrizzazione anomala rappresenta il tentativo dell'organismo di guarire da un danno cronico al fegato, che può essere provocato dall'abuso di alcol e da infezioni virali come l'epatite C<sup>3</sup>. In presenza di un danno cronico si ha infatti la perdita di

---

<sup>1</sup> Martin Blachier, Henri Leleu, Markus Peck-Radosavljevic, Dominique Charles-Valla, Françoise Roudot-Thoraval. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *Journal of Hepatology* 2013 vol. 58 | 593-608

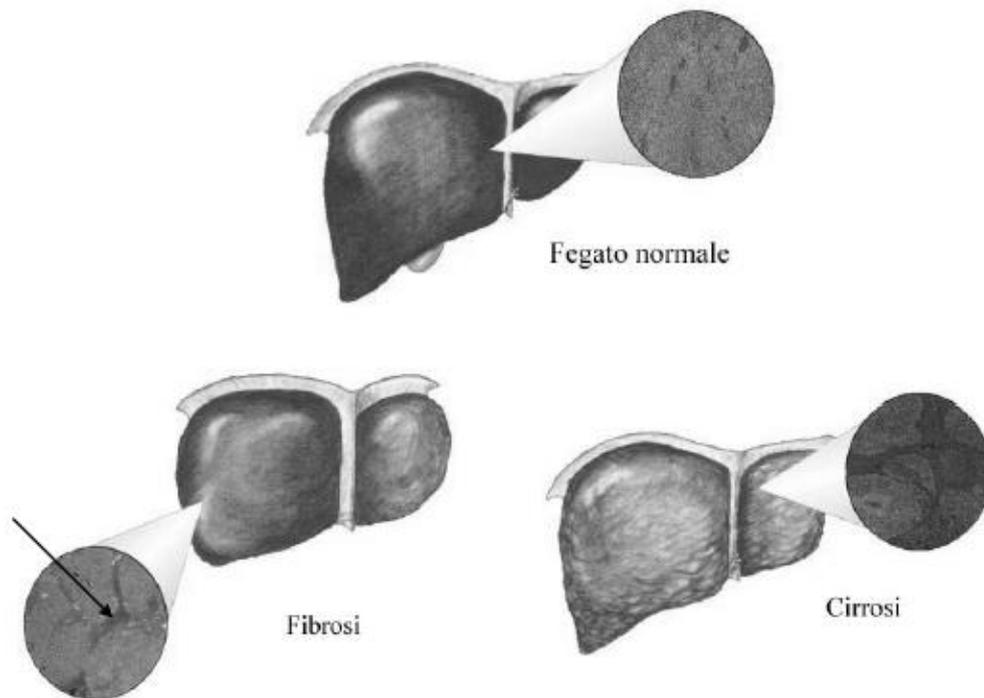
<sup>2</sup> La fibrosi epatica. Prof. Fabio Marra. Dipartimento di Medicina Interna, Università di Firenze.

<sup>3</sup> Guadalupe Garcia-Tsao, Joseph Lim. Management and treatment of patients with cirrhosis and portal hypertension: recommendations from the department of veterans affairs hepatitis C resource center program and the national hepatitis C program. *The American Journal of Gastroenterology* 2009 vol. 104.

coordinazione delle varie fasi del processo di guarigione, con la conseguente presenza contemporanea di:

- morte delle cellule parenchimali (epatociti);
- infiammazione;
- deposizione di matrice;
- rigenerazione delle cellule parenchimali.

Le cellule parenchimali sono le cellule che svolgono la maggior parte delle funzioni alle quali il fegato è deputato. Oltre ad esse nel fegato sono presenti altre cellule, definite non parenchimali, che sono responsabili dell'afflusso di sangue e della difesa dell'organo da agenti infettivi. Tali cellule hanno anche funzione di sostegno. Il tessuto epatico è infatti tenuto insieme da una sorta di impalcatura prodotta da cellule non parenchimali definita matrice extracellulare. Nel fegato normale la matrice extracellulare costituisce una trama delicata che circonda gli epatociti permettendo gli scambi con i vasi sanguigni, mentre in corso di fibrosi aumentano le componenti fibrillari, che formano dei tralci attraverso la struttura del tessuto che pregiudicano in maniera talora irreversibile le funzioni del fegato (Figura 1). L'infiammazione rappresenta la reazione dell'organismo alla morte delle cellule parenchimali e consiste nel rilascio di globuli bianchi, che hanno il compito di neutralizzare l'agente che ha scatenato il danno e di ripulire il tessuto dai detriti delle cellule morte. Al termine dell'infiammazione i vuoti lasciati dalle cellule distrutte sono riempiti dai miofibroblasti per impedire il collasso meccanico del tessuto e stabilire l'ambiente più idoneo alla rigenerazione delle cellule parenchimali. Una volta neutralizzato l'agente che ha causato il danno il tessuto si ripopola di epatociti e ritorna alla sua struttura e funzione originaria. In caso di danno cronico l'elemento che causa il danno non scompare, dunque la matrice extracellulare continua ad accumularsi nel tempo determinando il presupposto per lo sviluppo di fibrosi.



**Figura 1.** Nel fegato normale la presenza di matrice extracellulare è limitata e l'organo ha un aspetto liscio. In corso di fibrosi nella matrice extracellulare si accumula tessuto cicatriziale che porta alla formazione di tralci (indicati dalla freccia) attraverso la struttura del tessuto. Le fasi più avanzate (cirrosi) sono caratterizzate da un grado estremo di fibrosi e da rigenerazione nodulare.

### 1.2.1 Cirrosi

Il termine cirrosi identifica l'ultimo stadio delle CLD, caratterizzato da alterazioni della struttura epatica che impediscono il corretto funzionamento del fegato. La cirrosi determina un brusco aumento del rischio di ammissione ospedaliera e di morte. Secondo l'Organizzazione mondiale della sanità (WHO, world health organization) essa è responsabile dell'1.8% delle morti totali nell'UE, per un totale di 170 mila morti ogni anno. I pazienti cirrotici hanno infatti altissime probabilità di incorrere in complicazioni (sindrome epatorenale, peritonite batterica spontanea, ascite, varici esofagee) e di contrarre il carcinoma epatocellulare (HCC, hepatocellular carcinoma), una neoplasia con bassissimo tasso di sopravvivenza che provoca ogni anno quasi 47 mila morti nell'UE. Il trapianto del fegato

è possibile solo per pochi pazienti accuratamente selezionati (ogni anno in Europa sono effettuati 5500 trapianti) a causa degli elevati costi e della carenza di donatori. Nella gestione dei pazienti cirrotici è dunque di fondamentale importanza classificare i rischi dei pazienti al fine di stabilire in modo oggettivo chi ha realmente bisogno di un trapianto e chi invece può essere curato con altre terapie. E' inoltre estremamente importante riuscire a diagnosticare la cirrosi fin dagli stadi iniziali della malattia, in cui la cirrosi è asintomatica (cirrosi compensata), al fine di mettere in atto terapie volte a prevenire l'insorgere di complicazioni (cirrosi scompensata).

## 1.2.2 Ipertensione portale

La complicazione più frequente (e quasi inevitabile) della cirrosi è l'ipertensione portale<sup>4</sup>, uno stato patologico caratterizzato dall'incremento del gradiente pressorio portale (PPG, portal pressure gradient):

- In condizioni normali il PPG assume valori compresi tra 1 e 5 mmHg;
- si parla di ipertensione portale quando il PPG supera i 5 mmHg;
- l'ipertensione portale diventa clinicamente rilevante per valori superiori ai 10 mmHg.

Il gradiente misura la differenza di pressione tra la vena porta, che convoglia nel fegato il sangue refluo proveniente dalla digestione intestinale e dalla milza, e la vena cava inferiore (IVC, inferior vena cava), in cui il sangue proveniente dalla vena porta confluisce dopo aver attraversato le vene epatiche (Figura 2). Alla base dell'aumento del gradiente vi è l'innalzamento della resistenza vascolare, che avviene secondo un doppio meccanismo:

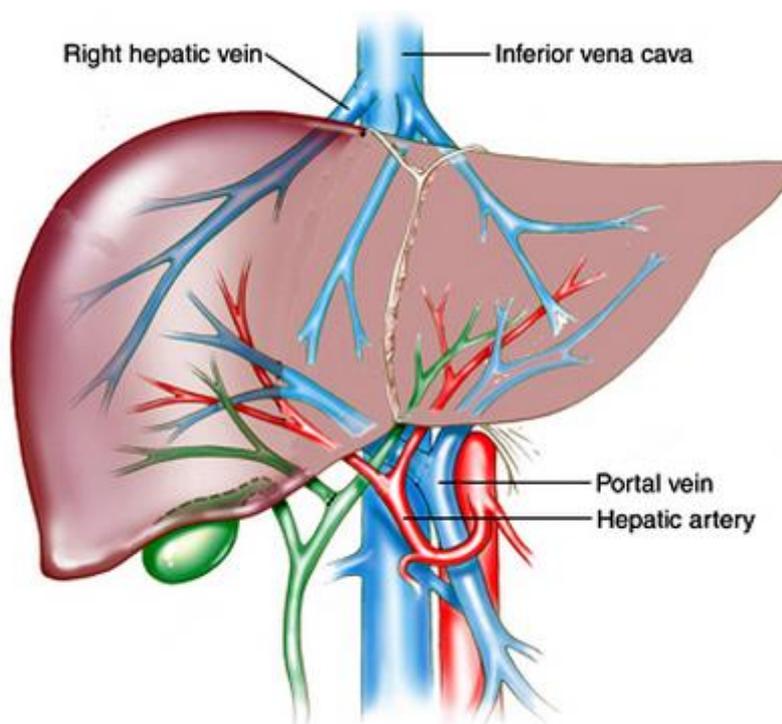
- l'alterazione della microcircolazione epatica (componente statica) a causa di fibrosi (sostituzione delle cellule

---

<sup>4</sup> Annalisa Berzigotti, Susana Seijo, Enric Reverter, Jaime Bosch. Assessing portal hypertension in liver diseases. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 7(2), 141-155 (2013).

parenchimali del fegato con tessuto connettivo), rigenerazione nodulare, angiogenesi (formazioni di nuovi vasi sanguigni) e occlusione di vasi già esistenti;

- l'aumento del tono muscolare epatico (componente dinamica), provocato dalla contrazione delle cellule muscolari lisce e dei miofibroblasti che originano dalla trasformazione delle cellule stellate.



**Figura 2.** Il gradiente pressorio portale misura la differenza di pressione tra la vena porta e la vena cava inferiore.

L'ipertensione portale rappresenta la prima causa di ammissione ospedaliera, trapianto di fegato e morte per i pazienti cirrotici. A causa della maggiore resistenza il sangue venoso del sistema portale viene infatti spinto verso canali secondari portando alla formazione di circoli collaterali che possono avere numerose conseguenze, alcune delle quali mortali. Le principali conseguenze sono:

- l'ascite, ovvero l'accumulo di liquidi nella cavità peritoneale;
- l'accumulo nel sangue di sostanze tossiche che normalmente vengono rimosse dal fegato. Tale accumulo è causa

dell'encefalopatia epatica, una sindrome neurologica che si manifesta con confusione mentale e sonnolenza e che negli ultimi stadi può condurre fino al coma e alla morte;

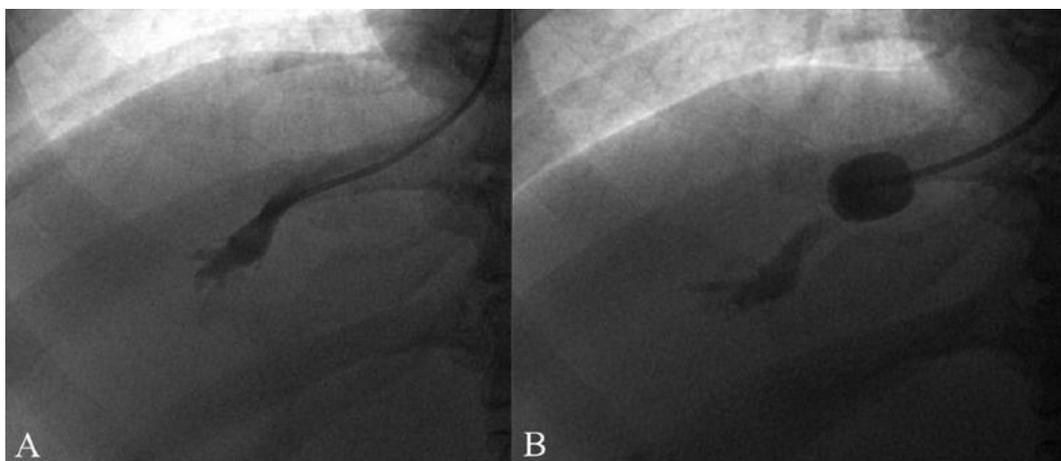
- la splenomegalia, ossia l'ingrossamento della milza;
- la formazione di anastomosi (comunemente dette fistole) tra il sistema portale e la circolazione sistemica. Le anastomosi più frequenti danno luogo alle emorroidi e alle varici esofagee, la cui rottura può provocare emorragie gastrointestinali potenzialmente fatali;
- una maggiore probabilità di incorrere in una peritonite batterica spontanea, un'infezione del liquido ascitico dovuta alla tralocazione di microrganismi batterici di origine enterica (tra cui Escherichia Coli e enterobacteriaceae);
- il rapido deterioramento della funzionalità renale a causa del ridotto apporto di sangue agli organi addominali. La ridotta funzionalità dei reni causa uno stato patologico noto come sindrome epatorenale, che risulta solitamente fatale.

### **1.3 Stato dell'arte nella stratificazione dei rischi dei pazienti cirrotici**

I due obiettivi principali della gestione dei pazienti cirrotici sono la cura delle malattie croniche del fegato e la diagnosi precoce delle complicazioni dovute alla cirrosi. Lo stato dell'arte per la diagnosi dell'ipertensione portale e per la stratificazione dei rischi dei pazienti è la misurazione del gradiente pressorio venoso del fegato.

#### **1.3.1 Misurazione del gradiente pressorio venoso del fegato**

Il gradiente pressorio venoso del fegato rappresenta attualmente il migliore indicatore di eventi clinici legati alle CLD. La misurazione di HVPG viene realizzata nel laboratorio di emodinamica epatica e richiede tra i 20 e i 120 minuti<sup>5</sup>. Per effettuare la misurazione un catetere a palloncino viene inserito in una vena periferica (la vena giugulare destra, femorale o quella brachiale) e guidato sotto controllo fluoroscopico attraverso l'atrio destro e la vena cava inferiore fino ad arrivare alla vena epatica maggiore destra, dove sono misurati la pressione venosa libera (FHVP, free hepatic venous pressure) e la pressione venosa bloccata (WHVP, wedged hepatic venous pressure). Quest'ultima si ottiene occludendo la vena con il palloncino in punta di catetere. L'HPVG si ottiene quindi come differenza tra WHVP e FHVP (Figura 3). La misurazione di HVPG è una tecnica sicura e riproducibile. Le complicazioni sono molto rare (occorrono in meno dell'1% dei casi) e sono dovute perlopiù a lesioni locali in prossimità dell'accesso venoso, che possono essere limitate effettuando la puntura venosa sotto controllo ecografico.



**Figura 3.** Per misurare la pressione venosa libera (FHVP) si mantiene la punta del catetere libera nella vena epatica ad una distanza dalla vena cava inferiore (IVC) compresa tra 2-4 cm (A), mentre per misurare la pressione venosa bloccata (WHVP) si deve gonfiare il palloncino in punta di catetere fino ad occludere la vena (B).

---

<sup>5</sup> Jaime Bosch, Juan G. Abraldes, Annalisa Berzigotti, Juan Carlos Garcia-Pagan. The clinical use of HVPG measurements in chronic liver diseases. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* 6, 573-582 (2009).

La misurazione di HVPG fornisce informazioni sulla severità dell'ipertensione portale e permette di predire le complicazioni ad essa associate (Tabella 1). Nei pazienti compensati le complicazioni caratteristiche dell'ipertensione portale (ascite, formazione di varici, sindrome epatorenale) si sviluppano per valori di HVPG superiori ai 10 mmHg, per cui a partire da tale valore l'ipertensione portale viene considerata clinicamente rilevante e i pazienti sono considerati ad alto rischio di decompensazione e di carcinoma epatocellulare. Per valori superiori a 12 mmHg cresce il rischio di sanguinamento delle varici. La soglia di decompensazione del fegato è fissata invece a 16 mmHg, valore al di sopra del quale aumenta sensibilmente il rischio di morte. Il superamento dei 20 mmHg durante un sanguinamento acuto delle varici predice, ad esempio, il fallimento nel controllo del sanguinamento e un tempo di sopravvivenza inferiore ad un anno, mentre valori superiori a 30 mmHg sono rappresentativi di una peritonite batterica spontanea in corso. In caso di carcinoma epatocellulare la resezione del fegato (cioè l'asportazione chirurgica del tumore) è controindicata per i pazienti con valori di HVPG superiori ai 10 mmHg per l'elevato rischio di decompensazione. La misurazione di HVPG è utilizzata anche per valutare la risposta emodinamica al trattamento farmacologico, che si considera positivo se il valore di HVPG si riduce del 20% rispetto al suo valore iniziale o scende sotto ai 12 mmHg. Il raggiungimento di questo obiettivo riduce fortemente il rischio di complicazioni, mentre il suo mancato raggiungimento rappresenta il più forte predittore di sanguinamento (o risanguinamento) delle varici. Il gradiente pressorio venoso rappresenta dunque il migliore strumento a disposizione dei clinici per la gestione dei pazienti cirrotici. Il suo utilizzo rimane tuttavia limitato a causa della sua invasività.

**Tabella 1.** Stratificazione dei rischi in base al valore del gradiente pressorio venoso del fegato (HVPG).

<b>Stadio</b>	<b>HVPG (mmHg)</b>	<b>Rischi legati al superamento della soglia</b>
Cirrosi compensata	10	Comparsa di varici esofagee Prima decompensazione per pazienti privi di varici Sviluppo di HCC Decompensazione in seguito a resezione per l'eliminazione di HCC
	12	Sanguinamento delle varici
	16	Prima decompensazione per pazienti con varici Morte
Cirrosi scompensata	16	Risanguinamento delle varici Morte
	20	Fallimento nel controllo del sanguinamento acuto delle varici Morte
	30	Peritonite batterica spontanea

## 1.4 Ecografia epatica con mezzo di contrasto

Lo scopo scientifico ed industriale di CLEVER è quello di migliorare la gestione dei pazienti cirrotici attraverso la sostituzione della misurazione del gradiente pressorio venoso del fegato con una tecnica non invasiva in grado di fornire una stratificazione dei rischi altrettanto accurata. Le tecniche non invasive finora proposte sono state accantonate proprio per la mancanza di accuratezza. In particolare:

- l'accuratezza dei test di laboratorio basati su albumina, bilirubina, rapporto internazionale normalizzato (INR, international normalized ratio) e sulla loro combinazione nella classificazione di Child-Pugh non supera il 60-70%;
- l'elastografia epatica a impulsi (TE, transient elastography; Fibroscan, Echosens, Parigi, Francia) misura la rigidità del tessuto epatico ed è la tecnica di riferimento per la diagnosi

della fibrosi epatica. Dato che la fibrosi è tra le prime cause di innalzamento della resistenza portale, l'elastografia è stata negli ultimi anni testata per la diagnosi dell'ipertensione portale, dove mostra un'accuratezza superiore all'80%. Non consente tuttavia un'ulteriore stratificazione dei rischi e non fornisce risultati utilizzabili nel 3-16% dei casi a causa di ascite e di obesità;

- l'ecografia permette di valutare in modo non invasivo la presenza di HCC e di segni tipici dell'ipertensione portale, ma mostra una sensibilità troppo bassa nel caso di pazienti compensati. In altre parole l'esito negativo dell'indagine (cioè l'assenza di segni) non consente di escludere con certezza la presenza di ipertensione portale<sup>6</sup>. Inoltre, neppure l'ecografia consente di stratificare ulteriormente i rischi dei pazienti di sviluppare complicazioni.

CLEVER propone di catturare la complessità dell'albero vascolare intraepatico in un modello a grafo facendo uso dell'ecografia epatica con mezzo di contrasto, una tecnica non ancora pienamente compresa e sfruttata dagli epatologi. Tale tecnica consente di visualizzare in tempo reale l'albero vascolare epatico grazie all'utilizzo di un mezzo di contrasto ecografico (USCA, ultrasound contrast agent) costituito da microbolle di gas inerte ed insolubile (come il perfluorocarburo o l'esafluoruro di zolfo) protette da un involucro stabilizzante costituito da lipidi o polimeri biodegradabili, che ne prolunga la vita in circolo permettendo più passaggi attraverso il filtro capillare polmonare<sup>7</sup>. Il mezzo di contrasto ecografico maggiormente utilizzato in Europa è SonoVue (Bracco Imaging SpA, Milano, Italia), un ecoamplificatore di seconda generazione costituito da microbolle di esafluoruro di zolfo (SF<sub>6</sub>) incapsulate in un guscio fosfolipidico. Le microbolle sono iniettate per via endovenosa e diffondono nell'intero sistema cardiovascolare. Le loro dimensioni (1-8 µm di diametro), comparabili a quelle dei globuli rossi, ne assicurano infatti il passaggio attraverso

---

<sup>6</sup> Annalisa Berzigotti, Fabio Piscaglia. Ultrasound in portal hypertension--part 2—and EFSUMB recommendations for the performance and reporting of ultrasound examinations in portal hypertension. *Ultraschall Med.* 2012; 33(1):8-32.

<sup>7</sup> Mario Meola. Nefropatia ischemica ed uremia terminale. Atti del 6° corso di ecografia e colorDoppler in nefrologia. Lerici 23-25 maggio 2005.

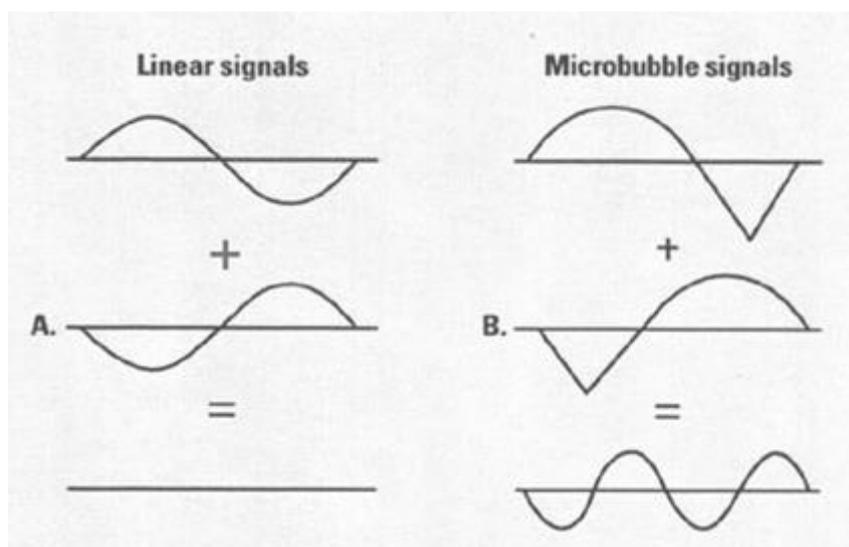
il filtro polmonare ed il letto capillare periferico. Dopo alcuni minuti dall'iniezione il gas contenuto nelle microbolle viene esalato attraverso i polmoni mentre l'involucro lipidico viene distrutto attraverso varie vie metaboliche. I mezzi di contrasto ecografici sono sicuri e atossici. Gli effetti collaterali dovuti all'iniezione delle microbolle sono infatti molto rari e dovuti per lo più ad allergie. Per visualizzare le microbolle si sfrutta il loro comportamento non lineare, che si manifesta quando le microbolle sono investite da un fascio ad ultrasuoni avente indice meccanico (MI, mechanical index) superiore a 0,15<sup>8</sup>. Tale comportamento è legato al fenomeno fisico della risonanza. Ogni volta che sono investite da un fascio ad ultrasuoni le microbolle iniziano a contrarsi e ad espandersi ritmicamente. Per valori di MI inferiori a 0.15 contrazione ed espansione sono simmetriche e le microbolle producono un eco lineare, per valori compresi tra 0.15 e 0.5 i due processi hanno invece fasi diverse a causa della maggiore resistenza delle microbolle alla compressione e le microbolle producono un eco non lineare. Per separare gli echi prodotti dalle microbolle dagli echi prodotti dai tessuti si utilizza una sequenza di acquisizione contrasto-specifica chiamata Pulse Inversion, che prevede l'invio di due treni di impulsi, il secondo dei quali identico al primo ma con polarità inversa, cioè sfasato di 180 gradi. In altri termini si può dire che nel primo impulso viene trasmessa una pressione positiva, mentre nel secondo viene trasmessa una pressione identica ma negativa. I bersagli che si comportano in modo lineare (come i globuli rossi e le strutture tissutali) rispondono alla pressione negativa e positiva in modo uguale, riflettendo verso il trasduttore segnali uguali ma di fase opposta che si annullano. Le microbolle rispondono invece in modo non lineare alle pressioni positive e negative, riflettendo verso il trasduttore segnali diversi che non si cancellano completamente<sup>9</sup> (Figura 4). Si può ottenere così

---

<sup>8</sup> Christopher J. Harvey, Thomas Albrecht. Ultrasound of focal liver lesions. Eur. Radiol. (2001) 11: 1578-1593.

<sup>9</sup> Nicolas G. Rognin, Marcel Arditi, Laurent Mercier, Peter J. A. Frinking, Michael Schneider, Geneviève Perrenoud, Anass Anaye, Jean-Yves Meuwly, Francois Tranquart. Parametric imaging for characterizing focal liver lesions in contrast-enhanced ultrasound. IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics and frequency control, Vol. 57, No. 11, 2010.

un'accurata visualizzazione della macro- e della microcircolazione, superando i limiti dell'Eco-Doppler, che permette di visualizzare solo i grandi vasi. L'ecografia con mezzo di contrasto permette di ottenere risultati analoghi a quelli forniti dalla tomografia computerizzata (CT, computed tomography) e dalla risonanza magnetica nucleare (NMR, nuclear magnetic resonance), ma in tempo reale e senza fare uso di radiazioni ionizzanti<sup>10</sup>. L'ecografia dinamica con mezzo di contrasto è stata finora utilizzata in campo epatologico solo per caratterizzare le lesioni focali epatiche (FLLs, focal liver lesions), che possono essere classificate sulla base del pattern vascolare dinamico (DVP, dynamic vascular patterns) che si osserva nell'intorno della lesione a seguito dell'iniezione di un bolo.



**Figura 4.** Nella modalità contrasto-specifica Pulse Inversion gli echi lineari prodotti dai tessuti si annullano (A), mentre gli echi non lineari prodotti dalle microbolle non si cancellano completamente (B).

Negli ultimi anni è stata dimostrata la possibilità di utilizzare l'ecografia epatica con mezzo di contrasto per valutare la perfusione epatica regionale<sup>11</sup>, per studiare la morfologia dei vasi<sup>12</sup> e

<sup>10</sup> Tommaso Vincenzo Bartolotta, Adele Taibbi, Massimo Midiri, Roberto Lagalla. Focal liver lesions: contrast-enhanced ultrasound. *Abdom Imaging* (2009) 34: 193-209.

<sup>11</sup> Annalisa Berzigotti, Carlos Nicolau, Pablo Bellot, Juan G. Abraldes, Rosa Gilibert, Juan Carlos Garcia-Pagan, Jaime Bosch. Evaluation of regional hepatic perfusion (RHP) by contrast-enhanced ultrasound in patients with cirrhosis. *Journal of Hepatology* 2011 vol. 55 | 307-314.

l'architettura vascolare<sup>13</sup>. CLEVER intende sfruttare queste nuove evidenze sperimentali per realizzare un software medico in grado di estrarre dalle immagini eco con contrasto informazioni emodinamiche e perfusionali da utilizzare per costruire un modello a grafo dell'albero vascolare epatico. L'analisi della connettività del modello a grafo rappresenta infatti una strategia molto promettente che potrebbe sostituire la misurazione di HVPG nella gestione dei pazienti cirrotici.

---

<sup>12</sup> Raffi Karshafian, Peter N. Burns, Mark R. Henkelman. Transit time kinetics in ordered and disordered vascular trees. *Phys. Med. Biol.* 48 (2003) 3225-3237.

<sup>13</sup> Hong Yang, Guang-Jian Liu, Ming-De Lu, Hui-Xiong Xu, Xiao-Yan Xie. Evaluation of the vascular architecture of focal liver lesions using micro flow imaging.

## Capitolo 2

# SPECKLE TRACKING IN VITRO

### 2.1 Correzione dei movimenti respiratori

Come illustrato nel Capitolo 1, il progetto CLEVER ha come obiettivo la realizzazione di un software medico in grado di predire il rischio di complicazioni dei pazienti cirrotici attraverso l'analisi della rete vascolare intraepatica. In particolare, propone l'utilizzo dell'ecografia dinamica con mezzo di contrasto per costruire un modello a grafo della rete vascolare a partire dal quale sia possibile, sfruttando la teoria dei grafi, ricavare un indice di connettività funzionale in grado di sostituire il gradiente pressorio venoso del fegato come supporto nelle decisioni dei clinici. La costruzione automatica del modello a grafo della rete vascolare intraepatica a partire dalle sequenze ecografiche richiede che la rete sia immobile per tutta la durata della perfusione. Il principale ostacolo al soddisfacimento di questo requisito è rappresentato dai movimenti respiratori. Tali movimenti determinano cambiamenti di forma, dimensione e posizione dei vasi che impediscono un'accurata analisi quantitativa della perfusione epatica locale, imprescindibile per la costruzione del grafo. Un approccio comunemente usato nella pratica clinica per ridurre gli effetti dei movimenti respiratori consiste nel chiedere al paziente di trattenere il respiro per tutta la durata dell'acquisizione, che può variare tra i 20 e i 40 secondi. Il trattenimento del respiro può tuttavia

alterare l'emodinamica<sup>14</sup>, portando alla costruzione di un modello inaccurato dell'albero vascolare. Inoltre bisogna considerare che non tutti i pazienti sono in grado di trattenere il respiro così a lungo. Molti clinici preferiscono allora effettuare l'acquisizione con mezzo di contrasto in condizioni di respirazione libera<sup>15</sup>, rimandando al termine dello studio ecografico la correzione dei movimenti. In questo tipo di acquisizione al paziente viene semplicemente chiesto di effettuare respiri corti e regolari, una richiesta che anche i pazienti in condizioni più critiche riescono a soddisfare. Terminato lo studio si procede quindi alla compensazione del movimento con tecniche di correzione manuali, automatiche o semiautomatiche. Una semplice tecnica manuale di correzione del movimento consiste nello scartare tutti i frame che mostrano uno scostamento significativo del diaframma (o di un'altra struttura ecogena di riferimento) rispetto al frame iniziale<sup>16</sup>. Questa tecnica dipende fortemente dall'esperienza del clinico e richiede molto tempo in quanto gli studi ecografici con mezzo di contrasto comprendono diverse centinaia di frame. Tali limiti possono essere superati grazie all'utilizzo di tecniche automatiche e semi-automatiche. La tecnica automatica più semplice è la registrazione rigida 2D, che prevede l'allineamento di ciascun frame ad un frame di riferimento attraverso una trasformazione rigida di pura traslazione del tipo:

$$RegisteredFrame(x, y) = OriginalFrame(x + u, y + v)$$

dove  $u$  e  $v$  rappresentano gli spostamenti lungo l'asse  $x$  e  $y$ . Per determinare l'entità di tali spostamenti si utilizza un algoritmo di

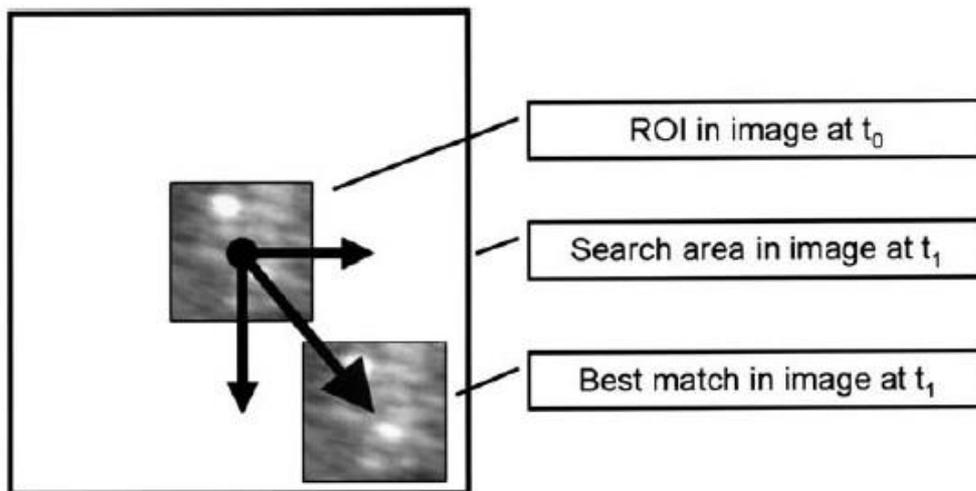
---

<sup>14</sup> Damianos Christofides, Edward Leen, Michalakis A. Averkiou. Automatic respiratory gating for contrast ultrasound evaluation of liver lesions. IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics and frequency control, vol. 61, no. 1 (2014).

<sup>15</sup> Ji Zhang, Mingyue Ding, Fan Meng, Ming Yuchi, Xuming Zhang. Respiratory motion correction in free-breathing ultrasound image sequence for quantification of hepatic perfusion. Medical Physics 38, 4737 (2011).

<sup>16</sup> Michalakis Averkiou, Marios Lampaskis, Konstantina Kyriakopoulou, Dimosthenis Skarlos, Georgios Klouvas, Costas Strouthos, Edward Leen. Quantification of tumor microvasculature with respiratory gated contrast enhanced ultrasound for monitoring therapy. Ultrasound in Med. & Biol., Vol 36, No. 1, pp. 68-77, 2010.

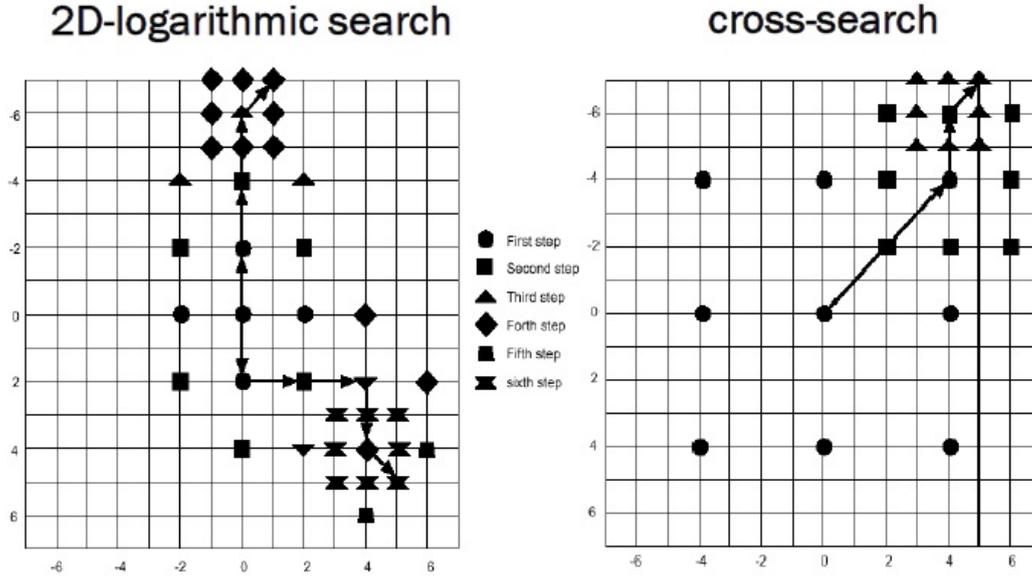
block matching<sup>17</sup>, che permette di stimare il movimento di una regione di interesse (ROI, region of interest) tra frame consecutivi di una stessa sequenza attraverso una strategia di pattern recognition. In pratica, una volta definita la ROI nel frame iniziale, l'algoritmo di block matching ne ricerca la migliore corrispondenza nei frame successivi basandosi sulla massimizzazione (o minimizzazione) di una funzione costo. La ricerca viene condotta all'interno di un'area (detta area di ricerca), centrata sulla ROI stessa, in cui si presume siano contenuti i massimi spostamenti della ROI tra due frame consecutivi. Nella ricerca esaustiva la ROI viene fatta scorrere su ogni pixel dell'area di ricerca e viene confrontata di volta in volta con il blocco di dimensioni equivalenti sottostante alla ricerca della migliore corrispondenza (Figura 5).



**Figura 5.** L'algoritmo di block matching cerca nel frame  $i+1$  ( $t_1$ ) la migliore corrispondenza della ROI definita nel frame  $i$ -esimo ( $t_0$ ) all'interno di un'area di ricerca centrata nella ROI stessa.

Al posto della ricerca esaustiva si possono utilizzare anche altre tecniche, come la ricerca logaritmica e la ricerca a croce (Figura 6), che permettono di ridurre sensibilmente la complessità computazionale attraverso la riduzione del numero di punti in cui la funzione costo deve essere valutata per la determinazione della migliore corrispondenza (tali punti sono detti matching point).

<sup>17</sup> Yoshihiro Noguchi, Jun Furukawa, Hitoshi Kiya. A fast full search block matching algorithm for MPEG-4 video. IEEE (1999).



**Figura 6.** La ricerca logaritmica (sinistra) e la ricerca a croce (destra) hanno un costo computazionale inferiore rispetto alla ricerca esaustiva. La ricerca logaritmica utilizza un pattern di ricerca a croce e dimezza la dimensione dell'area di ricerca ogni volta che la migliore corrispondenza viene individuata nel punto centrale del pattern. La ricerca a croce è invece caratterizzata dal decremento logaritmico della dimensione dell'area di ricerca.

La funzione utilizzata per determinare la migliore corrispondenza può essere una misura di similarità, come la cross-correlazione normalizzata (NCC, normalized cross-correlation) che dovrà essere massimizzata, o una misura di distanza, come la somma delle differenze assolute (SAD, sum of absolute difference) e la somma delle differenze quadrate (SSD, sum of squared difference) che dovranno invece essere minimizzate. Le funzioni elencate sono descritte dalle seguenti espressioni:

$$NCC(u, v) = \frac{\sum_{x,y \in ROI} (Frame_{i-1}(x, y) - \overline{Frame_{i-1}})(Frame_i(x, y) - \overline{Frame_i})}{\sqrt{\sum_{x,y \in ROI} (Frame_{i-1}(x, y) - \overline{Frame_{i-1}})^2 \sum_{x,y \in ROI} (Frame_i(x, y) - \overline{Frame_i})^2}}$$

$$SAD(u, v) = \sum_{(x,y) \in ROI} |Frame_{i-1}(x, y) - Frame_i(x + u, y + v)|$$

$$SSD(u, v) = \sum_{(x,y) \in ROI} (Frame_{i-1}(x, y) - Frame_i(x + u, y + v))^2$$

dove  $Frame_{i-1}$  è il frame di riferimento in cui è definita la ROI,  $Frame_i$  è il frame in cui viene cercata la sua migliore corrispondenza,  $u$  e  $v$  sono le distanze dal centro della ROI lungo l'asse  $x$  e  $y$ . La migliore corrispondenza individuata nell' $i$ -esimo frame diventa la ROI da ricercare al frame  $i+1$ . La registrazione rigida fornisce dunque una prima, rapida, correzione del movimento. Le operazioni richieste al clinico si limitano in questo caso alla selezione della ROI e dell'area di ricerca.

## 2.2 Speckle tracking

Le tecniche di correzione del movimento finora illustrate erano state in realtà proposte per un obiettivo differente rispetto a quello del progetto CLEVER: eliminare gli artefatti da movimento respiratorio nell'analisi differenziale di lesioni focali epatiche. In tale contesto la ROI da tracciare è la lesione (Figura 7), perciò si può utilizzare una misura di similarità molto semplice come la somma delle differenze assolute. L'obiettivo del progetto CLEVER è invece, come già detto, la costruzione di un modello a grafo dell'intero albero vascolare epatico. Le sequenze ecografiche che si intende correggere non conterranno allora necessariamente lesioni o altre strutture semplici da tracciare. Si deve quindi individuare una tecnica di tracking più robusta.



**Figura 7.** Nell'analisi differenziale delle lesioni focali epatiche la ROI è la lesione stessa. Ciò permette di utilizzare criteri di similarità molto semplici come la somma delle differenze assolute.

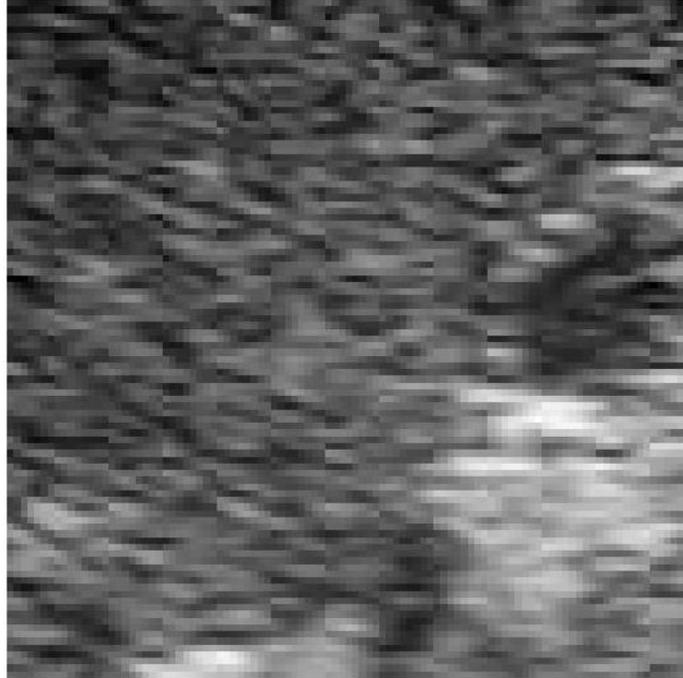
A tal fine si può sfruttare una caratteristica tipica delle immagini ad ultrasuoni. Esse sono infatti caratterizzate da una granulosità caratteristica che prende il nome di speckle (Figura 8), che è il risultato delle interferenze costruttive che si verificano all'interno di una cella risolutiva del trasduttore quando la sua interfaccia è investita dagli echi prodotti da piccole disomogeneità adiacenti del tessuto in esame<sup>18</sup> (Figura 9). Lo speckle non è casuale, è anzi fortemente correlato con la struttura reale a cui si sovrappone. Si è infatti visto che due immagini eco della medesima struttura acquisite in tempi diversi sono caratterizzate dalla stessa granulosità<sup>19</sup>. Lo speckle rappresenta dunque un marker tissutale che può essere utilizzato per stimare il movimento di una porzione di tessuto tra frame consecutivi. Sulla base di queste osservazioni è stato allora sviluppato, inizialmente in ambito cardiaco, un algoritmo di block matching per la

---

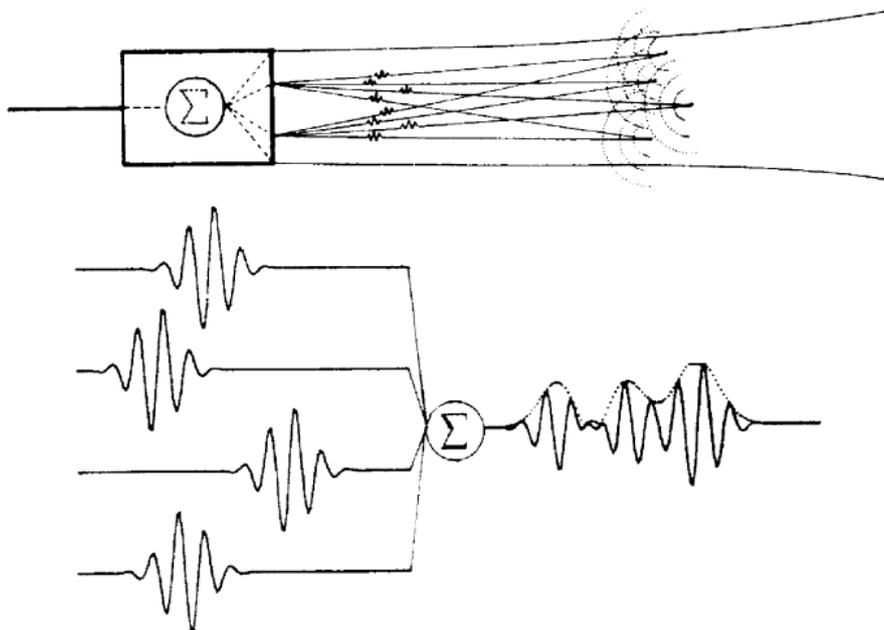
<sup>18</sup> Johan M. Thijssen. Ultrasonic speckle formation, analysis and processing applied to tissue characterization. *Pattern Recognition Letters* 24 (2003) 659-675.

<sup>19</sup> Christoph B. Burckhardt. Speckle in ultrasound B-Mode scans. *IEEE transactions on sonics and ultrasonics*, Vol. SU-25, No. 1 (1978).

ricostruzione dei movimenti basato sulla ricerca della migliore corrispondenza di un determinato pattern speckle.



**Figura 8.** Le immagini ecografiche sono caratterizzate da una granulosità caratteristica, detta speckle, fortemente correlata con la struttura a cui si sovrappone.



**Figura 9.** Lo speckle è il risultato della sovrapposizione di echi prodotti da piccole disomogeneità adiacenti di dimensione inferiore alla risoluzione della sonda ecografica.

Tale algoritmo è detto speckle tracking ed è stato validato usando come tecniche di riferimento la sonomicrometria e la risonanza magnetica con tag (tMRI, tagged magnetic resonance imaging)<sup>20</sup>, dimostrandosi capace di fornire informazioni quantitative sul moto e sulla deformazione del miocardio in modo non invasivo<sup>21</sup>. Si è perciò deciso di adottare la stessa tecnica per stimare il movimento del fegato. A tal fine, è stata realizzata la funzione `block_matching.m`, che esegue il tracking per una coppia di frame `f1` e `f2`. Tutti gli script descritti da questo punto in poi sono stati realizzati usando il pacchetto software Matlab (The Mathworks, Inc., Natick, MA). La funzione richiede in ingresso i seguenti parametri:

- il frame di riferimento `f1` contenente la ROI;
- il frame `f2` in cui cercare la migliore corrispondenza della ROI;
- la dimensione `SDim` dell'area di ricerca;
- la dimensione `rS` della ROI;
- le coordinate `(x0,y0)` del centro della ROI nel frame `f1`;
- il parametro `simCrit`, che rappresenta il codice del criterio di similarità che si intende utilizzare per la ricerca (1=SAD, 2=SSD, 3=NCC).

Il funzionamento cambia a seconda del criterio di similarità selezionato:

- nel caso di SAD e SSD la funzione definisce i vettori `xC` e `yC` necessari per la scansione dell'area di ricerca. Per ogni pixel dell'area prende la regione in esso centrata di dimensioni pari alla ROI e ne calcola la misura di similarità selezionata richiamando una funzione tra `sad.m` o `ssd.m`. I risultati dei confronti vengono salvati nella matrice `simMeas`. Terminata la ricerca esaustiva la funzione individua il minimo di `simMeas`

---

<sup>20</sup> Brage H. Amundsen, Thomas Helle-Valle, Thor Edvardsen, Hans Torp, Jonas Crosby, Erik Lyseggen, Asbjorn Stoylen, Halfdan Ihlen, Joao A. C. Lima, Otto A. Smiseth, Stig A. Slordhal. Noninvasive myocardial strain measurement by speckle tracking echocardiography. Validation against sonomicrometry and tagged magnetic resonance imaging. Journal of the American College of Cardiology, Vol. 47, No. 1, 2006.

<sup>21</sup> Simona Sitia, Livio Tomasoni, Maurizio Turel. Speckle tracking echocardiography: A new approach to myocardial function. World J Cardiol 2010 January 26; 2(1): 1-5.

(comando `find`) e determina il punto del frame `f2` ad esso associato;

- nel caso di NCC si utilizza il comando `normxcorr2`, che richiede in ingresso la ROI e l'area in cui cercare la migliore corrispondenza. Il comando effettua la ricerca esaustiva su tutta l'area e fornisce per ogni punto il coefficiente di correlazione tra la ROI e l'area delle stesse dimensioni centrata in quel punto. L'uscita del comando viene salvata nella matrice `simMeas`, di cui questa volta si deve determinare il massimo.

I parametri in uscita della funzione sono:

- le coordinate  $(u,v)$  del centro della migliore corrispondenza nel frame `f2`;
- `measure`, cioè il valore del criterio di similarità per la migliore corrispondenza.

## 2.3 Costruzione della sequenza eco sintetica

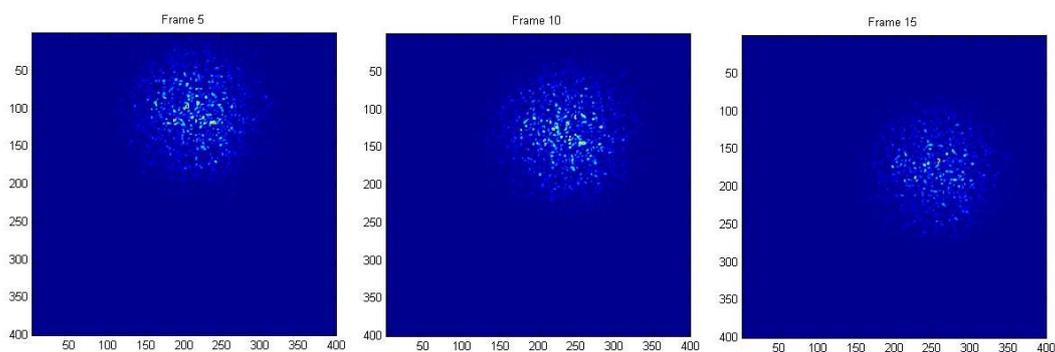
La funzione `block_matching.m` è stata testata innanzitutto su una sequenza eco sintetica costruita per l'occasione. Tale sequenza simula il movimento di una porzione di tessuto e la granulosità caratteristica delle immagini ad ultrasuoni. Per realizzare la sequenza si deve eseguire lo script `speckle_phantom.m`, che:

- genera lo speckle lavorando nel dominio di Fourier (cioè delle frequenze);
- impone alla porzione di tessuto simulata un campo di moto che descrive una traiettoria chiusa utilizzando il comando `circshift`, che trasla le righe e le colonne dell'immagine in modo circolare.

Come detto in precedenza, lo speckle è il risultato dell'interferenza di numerosi segnali con fasi casuali, dunque lo si può simulare antitrasformando un piano di Fourier contenente componenti di questo tipo (comando `ifft`). Il raggio dello speckle è determinato dal

parametro  $W$ , che definisce il numero di componenti nel piano di Fourier in quanto rappresenta il raggio della circonferenza che le racchiude (il raggio dello speckle è inversamente proporzionale al numero di componenti nel piano di Fourier). Nelle acquisizioni ecografiche lo speckle mostra piccole variazioni tra frame consecutivi anche in assenza di movimento. Queste variazioni sono dovute ai movimenti non omogenei delle piccole strutture riflettenti che generano lo speckle, e possono essere simulate moltiplicando ad ogni passo le componenti nel piano di Fourier per una seconda fase, anch'essa casuale, modulata da un parametro delta il cui valore può variare tra 0 e 1. Ricapitolando, lo speckle pattern simulato dipende da due parametri:

- $W$ , che rappresenta il raggio dello speckle;
- delta, che rappresenta la variabilità dello speckle tra frame consecutivi.



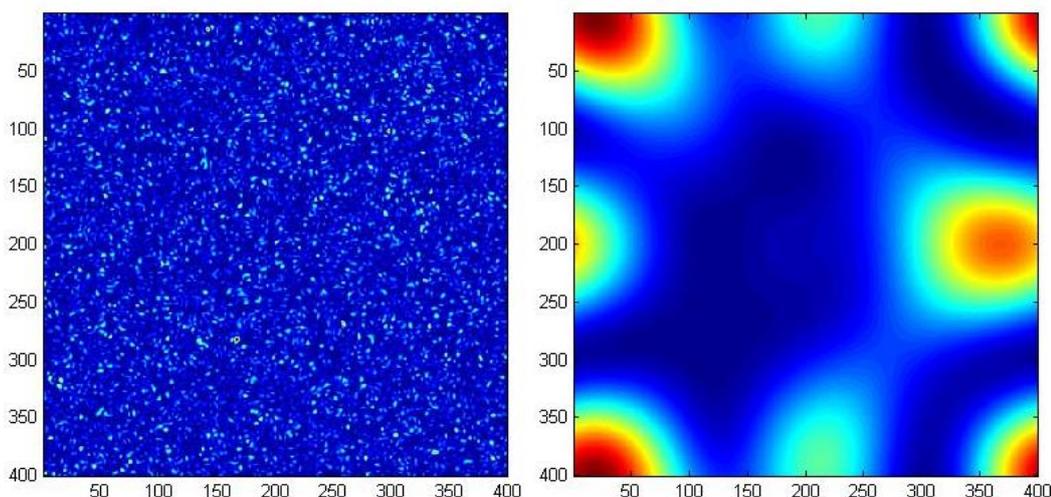
**Figura 10.** La sequenza eco sintetica utilizzata per valutare le prestazioni dell'algoritmo di speckle tracking simula il movimento di una porzione di tessuto ed è caratterizzata dalla granulosità caratteristica delle immagini ad ultrasuoni.

Al termine dell'esecuzione la sequenza eco sintetica viene salvata nel file `sequence.mat` insieme ai campi di moto `xDispl` e `yDispl`, che saranno utilizzati al termine del tracking per valutarne la bontà. Per rendere ancora più difficile il tracking si è deciso di applicare ai frame della sequenza anche un campo di deformazione. Per costruire tale campo si deve eseguire lo script `deformation_field.m`, che:

- crea una sequenza che raffigura delle deformazioni concentriche usando la medesima strategia utilizzata per

simulare gli speckle, riducendo semplicemente i valori dei parametri  $W$  e  $\delta$ . Tali deformazioni possono essere infatti pensate come speckle di grandi dimensioni con ridotto grado di variabilità tra frame consecutivi (Figura 11);

- costruisce il campo di deformazione come la trasformazione non rigida che porta alla registrazione di ciascun frame a quello che lo precede. A tal fine è stata utilizzata la funzione `register_images` del toolkit ‘Multimodality non-rigid demon algorithm image registration’, che restituisce in uscita l’immagine registrata e la trasformazione  $(F_y, F_x)$  utilizzata per effettuare la registrazione. La trasformazione stimata per registrare l’ $i$ -esimo frame al frame  $i-1$  viene applicata all’ $i$ -esimo frame della sequenze eco sintetica usando la funzione `movepixels`, contenuta nel medesimo toolkit.



**Figura 11.** Il pattern speckle (sinistra) e il campo di deformazione (destra) sono stati costruiti usando lo stesso algoritmo agendo sui parametri  $\delta$  e  $W$ . Le deformazioni possono infatti essere pensate come speckle di grandi dimensioni con ridotto grado di variabilità tra frame consecutivi.

## 2.4 Speckle tracking su sequenze eco sintetiche

La funzione `block_matching.m` illustrata nel Paragrafo 2.2 ricerca la migliore corrispondenza di una regione di interesse definita nel frame di riferimento `f1` nel frame `f2`. Per realizzare il tracking completo l'operazione deve essere ripetuta per tutti i frame della sequenza. La funzione che realizza il tracking completo si chiama `single_experiment.m` e richiede in ingresso i seguenti parametri:

- `sequence`, cioè la sequenza eco sintetica;
- i vettori `xC` e `yC` dei centri esatti. Tali vettori devono essere calcolati a partire dal centro della ROI nel frame iniziale usando i vettori `xDispl` e `yDispl`, che rappresentano il campo di moto imposto alla porzione di tessuto simulata nella sequenza eco sintetica;
- il rapporto segnale-rumore (SNR, Signal-to-noise Ratio), che quantifica il rumore additivo gaussiano bianco (AWGN, additive white gaussian noise) che si vuole aggiungere ai frame;
- `filtering`, che deve essere posto a 1 se non si vuole effettuare alcun filtraggio prima del tracking, a 2 altrimenti;
- `simCrit`, cioè il codice corrispondente alla funzione costo da utilizzare per la ricerca;
- `W`, rappresentativo delle dimensioni dello speckle.

E' dunque possibile, prima di effettuare il tracking, aggiungere rumore ai frame (comando `awgn`) ed effettuare un filtraggio con un filtro passa-basso adattivo di Wiener (comando `wiener2`). La funzione `block_matching.m` deve essere eseguita per ogni coppia di frame della sequenza fornendo i seguenti parametri:

- il lato della ROI, pari a  $2 * \text{RegionSize}$ ;
- il lato dell'area di ricerca, pari a  $2 * \text{SearchWindow}$ ;
- le coordinate del centro della migliore corrispondenza individuata nel frame precedente, ossia la nuova ROI. Nel caso

dei primi due frame si utilizzano le coordinate del centro esatto, contenute nei vettori  $x_C$  e  $y_C$  in posizione 1.

Completato il tracking, la funzione `single_experiment.m` restituisce in uscita i seguenti parametri:

- i vettori  $x_{CEst}$  e  $y_{CEst}$  delle coordinate dei centri delle migliori corrispondenze individuate in ciascun frame;
- la radice del valore quadratico medio (RMSE, root mean square error), che misura lo scarto quadratico medio tra i centri della ROI e i centri delle migliori corrispondenze individuate dalla funzione di block matching, ed è descritto dall'equazione:

$$RMSE = \sqrt{\frac{(x_C - x_{CEst})^2 + (y_C - y_{CEst})^2}{nFrames}}$$

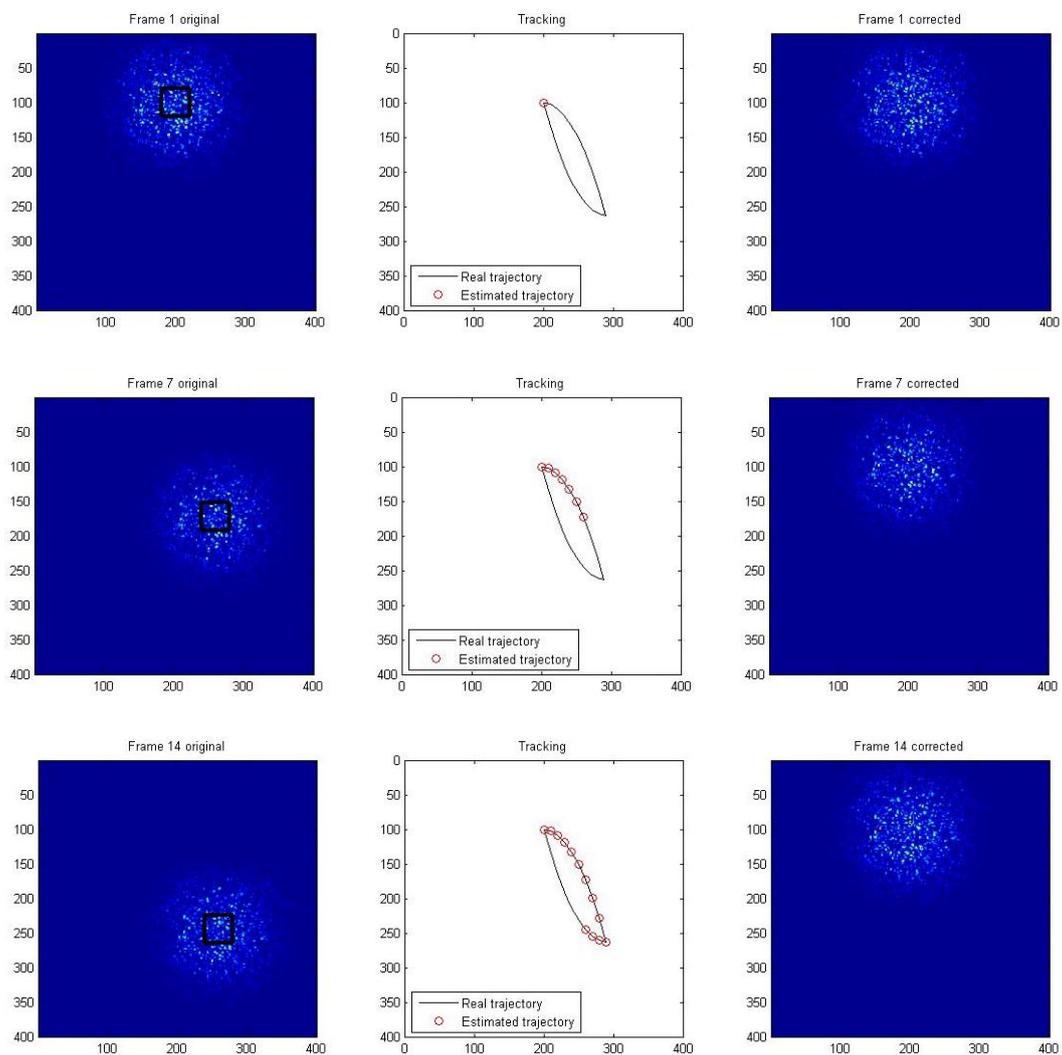
dove  $nFrames$  è il numero totale di frame della sequenza;

- `meanMeasure`, ossia il valore medio dei valori forniti dal criterio di similarità per le migliori corrispondenze individuate in ciascun frame.

Gli ultimi due parametri permettono di valutare quantitativamente la bontà del tracking. Per un'analisi qualitativa si può eseguire lo script `results.m` (Figura 12), che:

- disegna un quadrato nero rappresentativo della ROI e delle sue migliori corrispondenze individuate in ciascun frame sulla sequenza eco sintetica;
- confronta la traiettoria esatta (curva nera) con la traiettoria stimata dall'algoritmo (cerchi rossi);
- mostra la sequenza eco corretta.

Come anticipato nel Paragrafo 2.1, la correzione è stata ottenuta con una trasformazione rigida di pura traslazione. Ogni frame è stato riallineato al frame iniziale usando il comando `circshift`, richiamato per ogni frame con traslazione pari alle proiezioni sui due assi della distanza tra il centro stimato in quel frame e il centro della ROI nel frame di riferimento.



**Figura 12.** La ricostruzione del movimento si può considerare corretta se il quadrato nero rimane sempre al centro della porzione di tessuto simulata (sinistra), i cerchi rossi corrispondenti alla traiettoria stimata si muovono lungo la traiettoria esatta (centro) e nel frame corretto la porzione di tessuto simulata resta immobile.

## 2.5 Simulazioni e risultati

La funzione `single_experiment.m` è stata utilizzata per valutare le prestazioni dei tre criteri di similarità al variare:

- dell'intensità del rumore additivo gaussiano;

- dell'intensità della deformazione imposta.

A tal fine è stato realizzato lo script `main_inVitro.m` che carica una sequenza (`sequence.mat`, generata con `speckle_phantom.m`) e un campo di deformazione (`defField.mat`, generato con `deformation_field.m`), quindi richiama iterativamente la funzione `single_experiment.m` per testare il tracking in condizioni di:

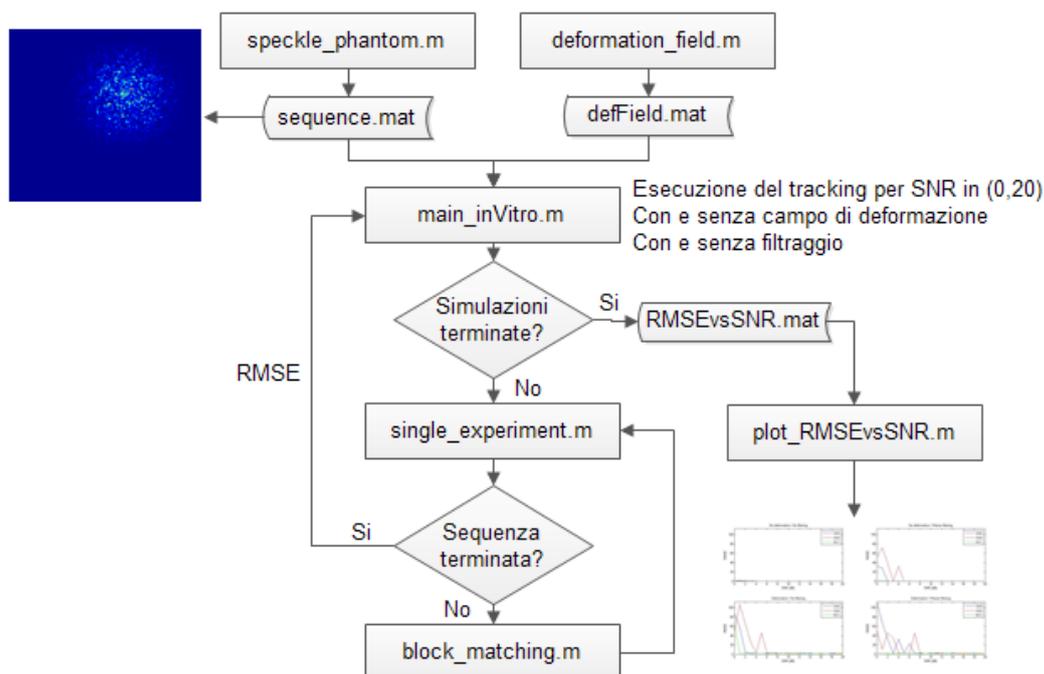
- solo movimento;
- movimento e deformazione.

Nel primo caso `main_inVitro.m` passa alla funzione direttamente la sequenza caricata, mentre nel secondo caso deve prima applicare alla stessa il campo di deformazione contenuto in `defField.mat` facendo uso della funzione `movepixels` contenuta nel toolkit 'Multimodality non-rigid demon algorithm image registration'. Per entrambe le condizioni simulate il tracking viene ripetuto:

- con valori crescenti di rumore additivo gaussiano, equivalenti a valori di SNR compresi nell'intervallo  $[0,20]$  dB;
- utilizzando in successione tutti i criteri di similarità.

Per tutte le simulazioni effettuate è stato valutato anche l'effetto di un prefiltraggio dei frame con il filtro di Wiener con kernel  $5 \times 5$ . Il tracking è stato effettuato facendo uso di una ROI quadrata di lato 20 pixel posizionata al centro dell'oggetto in movimento, lontano dai bordi. La migliore corrispondenza è stata cercata su un'area di ricerca quadrata di lato 35 pixel, valore che è stato fissato tenendo conto del massimo spostamento della ROI tra frame consecutivi, che in questo caso è noto. La conoscenza del campo di moto ha permesso di valutare quantitativamente la bontà del tracking facendo uso dell'RMSE, che pone a confronto frame per frame il centro vero della ROI con il centro della migliore corrispondenza individuata dalla funzione di block matching nello stesso frame. Lo script `main_inVitro.m` è stato eseguito con campi di deformazione di intensità crescente, mantenendo invariata la sequenza di base a cui il campo viene applicato. I valori di RMSE salvati ad ogni esecuzione possono essere visualizzati in funzione del SNR eseguendo lo script `plot_RMSEvsSNR.m`. Per il campo di deformazione di minore

intensità è stata valutata anche l'influenza della dimensione della ROI. Per comprendere meglio il modo in cui gli script descritti finora interagiscono tra loro per realizzare le simulazioni di interesse si può fare riferimento al diagramma a blocchi di Figura 13.



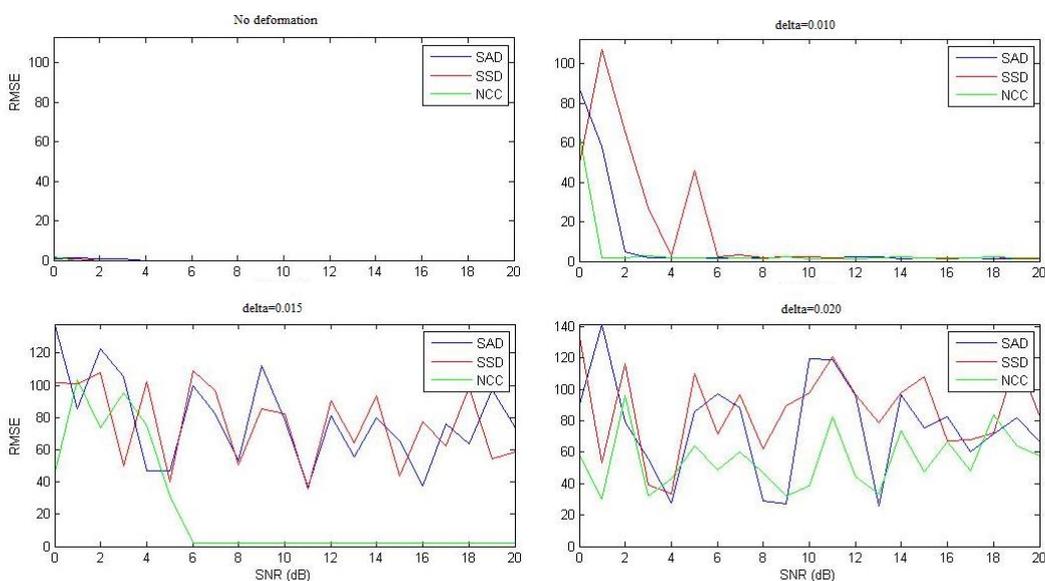
**Figura 13.** Schema di funzionamento del tracking in vitro.

## 2.5.1 Intensità del campo di deformazione

Per valutare l'influenza della deformazione sulle prestazioni dell'algorithmo di speckle tracking sono stati considerati tre campi di deformazione di intensità crescente, ottenuti agendo sul parametro delta dello script deformation\_field.mat, che è stato fatto variare nell'intervallo [0.010,0.020]. Dai grafici di RMSE in funzione di SNR (Figura 14) si osserva che:

- in assenza di deformazione le tre misure di similarità si comportano allo stesso modo e permettono di ricostruire con esattezza il movimento dell'oggetto anche in condizioni di elevato rumore;

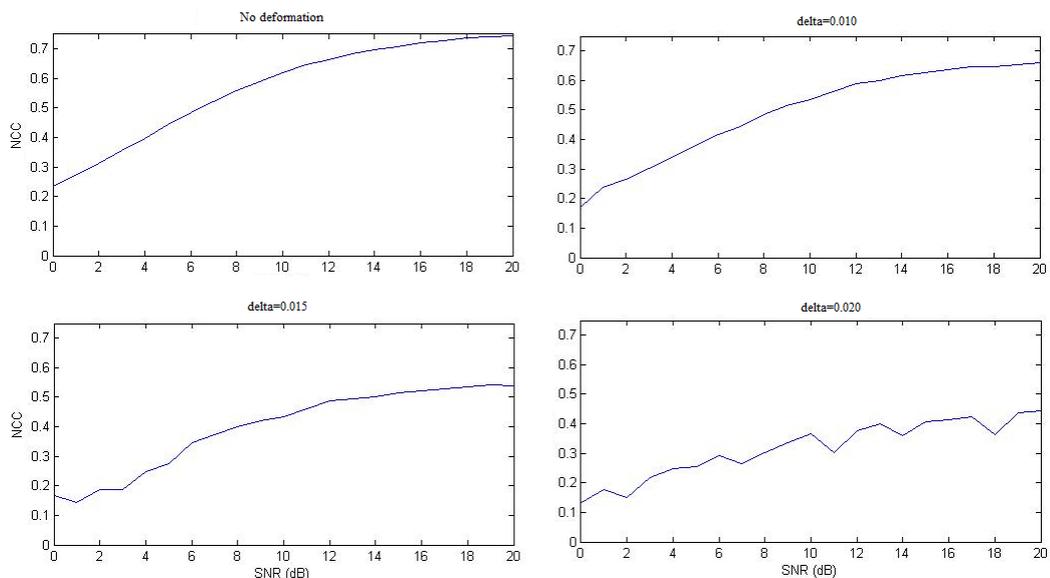
- se l'oggetto si deforma in maniera lieve ( $\delta=0.010$ ) il tracking continua a fornire ottime prestazioni. I tre criteri mostrano un'accuratezza comparabile ma per i valori di SNR più bassi SAD e NCC si rivelano più robusti di SSD, riuscendo sempre a portare a termine con successo il tracking;
- applicando la deformazione intermedia ( $\delta=0.015$ ) solo la NCC continua a garantire buone prestazioni, mentre SAD e SSD si dimostrano completamente inaffidabili, fallendo sistematicamente il tracking anche in assenza di rumore. La NCC stessa inizia a mostrare i primi segni di difficoltà, fallendo completamente il tracking per valori di SNR inferiori a 5 dB;
- la deformazione prodotta dal campo a maggiore intensità ( $\delta=0.020$ ) è tale da determinare il fallimento sistematico del tracking indipendentemente dal criterio di similarità adottato e dal livello di rumore gaussiano aggiunto alle immagini.



**Figura 14.** Effetto dell'intensità del campo di deformazione sui valori di RMSE.

Si conclude quindi che non esiste un criterio di similarità in grado di garantire sempre una corretta ricostruzione del movimento. Tra i criteri testati, NCC è quello che garantisce maggiore accuratezza e robustezza. Per comprendere le ragioni del progressivo peggioramento

delle prestazioni della NCC è sufficiente osservare la curva dei valori medi di correlazione in funzione del SNR (Figura 15). Tali valori sono ottenuti mediando i valori di NCC forniti all'interno di una singola simulazione dalla funzione di block matching (si tratta cioè dei valori corrispondenti alle migliori corrispondenze individuate per ogni frame della sequenza). Ad ogni incremento di intensità della deformazione si osserva una diminuzione dei valori medi di NCC approssimativamente del 10%, in altre parole aumenta la decorrelazione temporale dello speckle, venendo progressivamente a mancare il requisito fondamentale dello speckle tracking, ossia la stabilità temporale dello speckle<sup>22</sup>. Ciò si verifica tuttavia solo per valori molto bassi di SNR o nel caso di deformazioni molto elevate, superiori a quelle provocate dai movimenti respiratori.

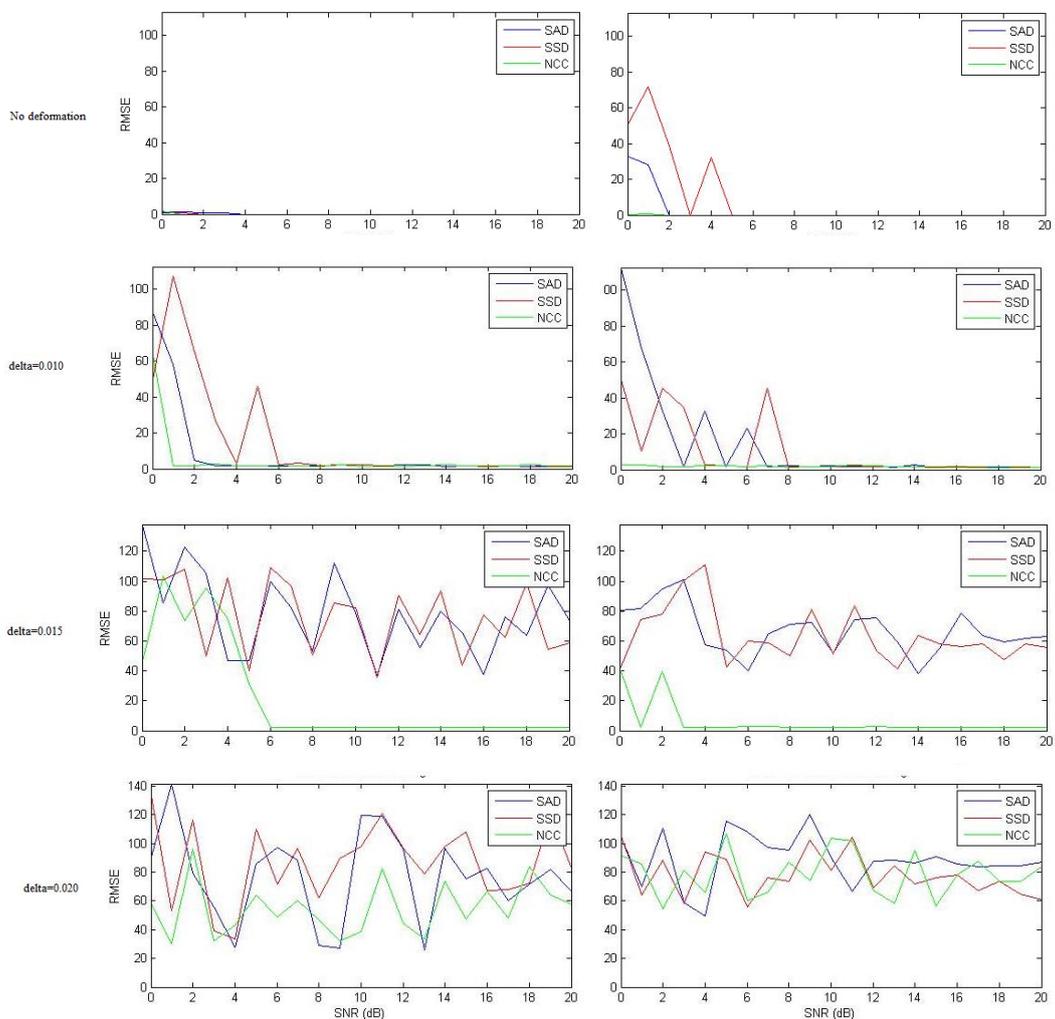


**Figura 15.** Effetto dell'intensità del campo di deformazione sui valori medi di NCC.

<sup>22</sup> Fei Yeung, Stephen F. Levinson, Dongshan Fu, Kevin J. Parker. Feature-adaptive motion tracking of ultrasound image sequences using a deformable mesh. IEEE transactions on medical imaging, Vol. 17, No. 6, 1998.

## 2.5.2 Filtraggio

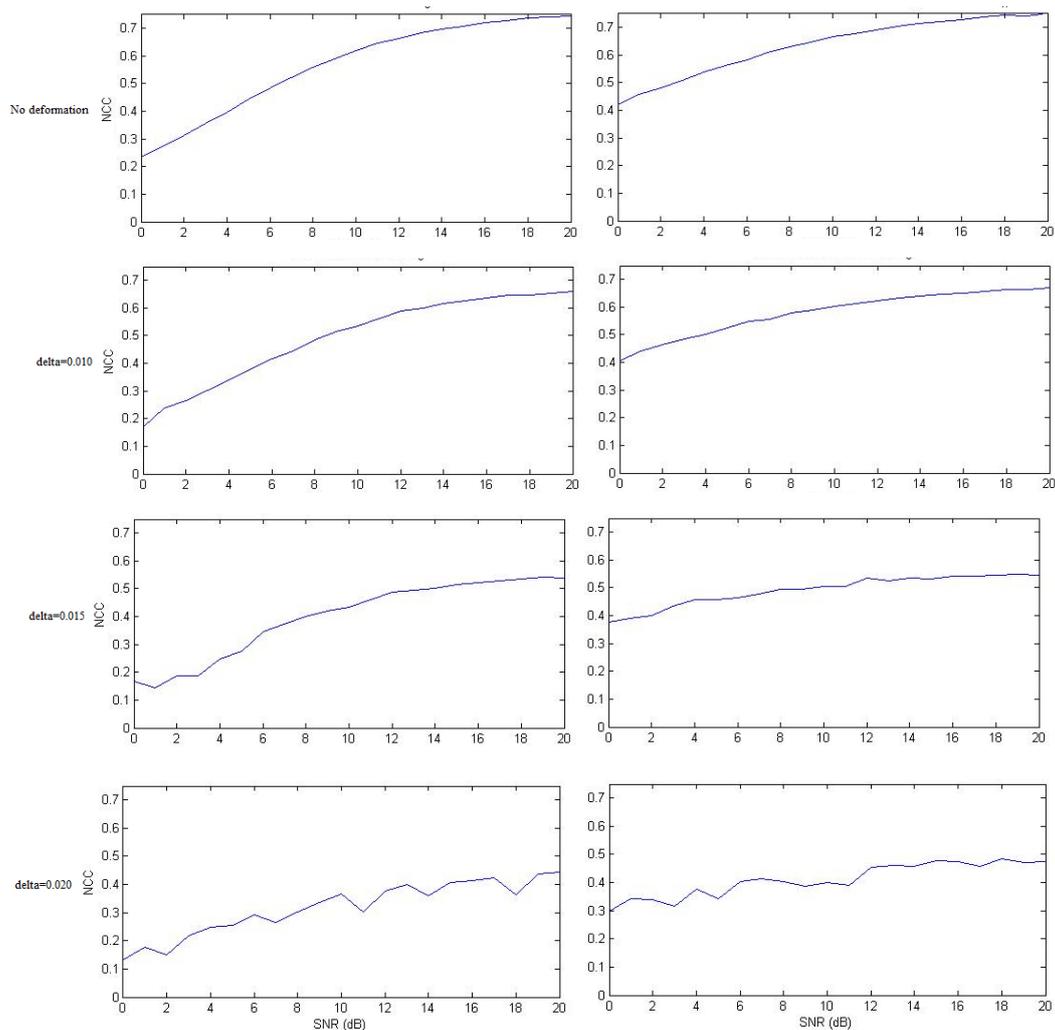
Per valutare l'effetto del filtraggio sono stati utilizzati i dati ottenuti nelle simulazioni precedenti. Osservando ancora le curve di RMSE in funzione di SNR si osserva che il filtraggio dei frame con il filtro di Wiener ha effetti positivi solo nel caso si utilizzi NCC, mentre nel caso di SSD e SAD introduce artefatti che conducono ad un peggioramento delle prestazioni.



**Figura 16.** Effetto del filtraggio sui valori di RMSE al variare dell'intensità del campo di deformazione.

Il recupero della correlazione temporale è evidente se si osservano le curve dei valori medi di NCC (Figura 17), dove per i valori più bassi

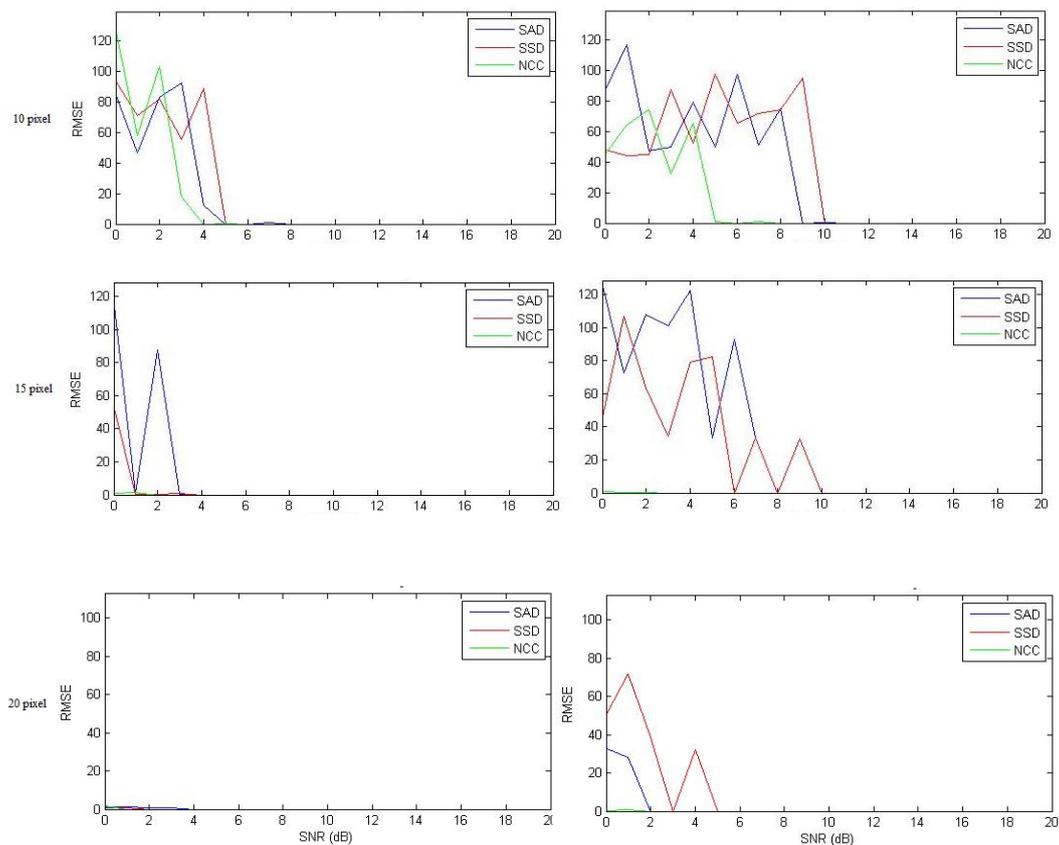
di SNR il filtraggio determina un incremento dei valori di NCC del 20%. Significativo è il risultato che si ottiene con la deformazione di media intensità, dove il filtraggio consente di ridurre la soglia di fallimento del tracking da 6 a 3 dB. L'effetto del filtraggio è invece nullo nel caso della deformazione a maggiore intensità, dove il tracking continua a fallire sistematicamente.



**Figura 17.** Effetto del filtraggio sui valori medi di NCC al variare dell'intensità del campo di deformazione.

### 2.5.3 Dimensione della ROI

L'esecuzione di `main_inVitro.m` con il campo di deformazione di minore intensità ( $\delta=0.010$ ) è stata ripetuta più volte variando la dimensione della ROI per valutarne l'effetto sulla ricostruzione del movimento. Si è a tal fine fatto uso di ROI quadrate con lato variabile nell'intervallo  $[10,20]$  con passo pari a 5 pixel, mantenendo invariata l'area di ricerca. Dai risultati ottenuti si osserva che le prestazioni del tracking tendono a peggiorare in modo proporzionale alla riduzione della ROI. Minore è la ROI, maggiore è infatti la probabilità di incontrare pattern speckle simili, e quindi di ottenere falsi matching. Il peggioramento è ancora più evidente quando si fa uso del filtro di Wiener.



**Figura 18.** Effetto della dimensione della ROI sui valori di RMSE in assenza di deformazione.

Tra i criteri di similarità utilizzati NCC è ancora una volta quello che resiste maggiormente alle modifiche introdotte, dimostrandosi ancora una volta il criterio più robusto e affidabile per ricostruire il movimento dell'oggetto.

# Capitolo 3

## SPECKLE TRACKING IN VIVO

### 3.1 Speckle tracking su sequenze eco reali

Nel Capitolo 2 si è fatto uso di immagini eco sintetiche per dimostrare che è possibile ricostruire i movimenti di una porzione tissutale facendo uso dell'algoritmo di speckle tracking sviluppato. Nel presente capitolo si illustrano i risultati ottenuti applicando il medesimo algoritmo a sequenze eco con mezzo di contrasto fornite dall'Ambulatorio di Ecografia diagnostica ed interventistica del reparto di Medicina Interna del Policlinico Sant'Orsola di Bologna sottoforma di file DICOM<sup>23</sup>. I moderni ecografi consentono di visualizzare contemporaneamente sul monitor l'immagine acquisita nelle modalità B-Mode e DCEUS (Figura 19). Le due immagini forniscono al clinico informazioni complementari. In particolare:

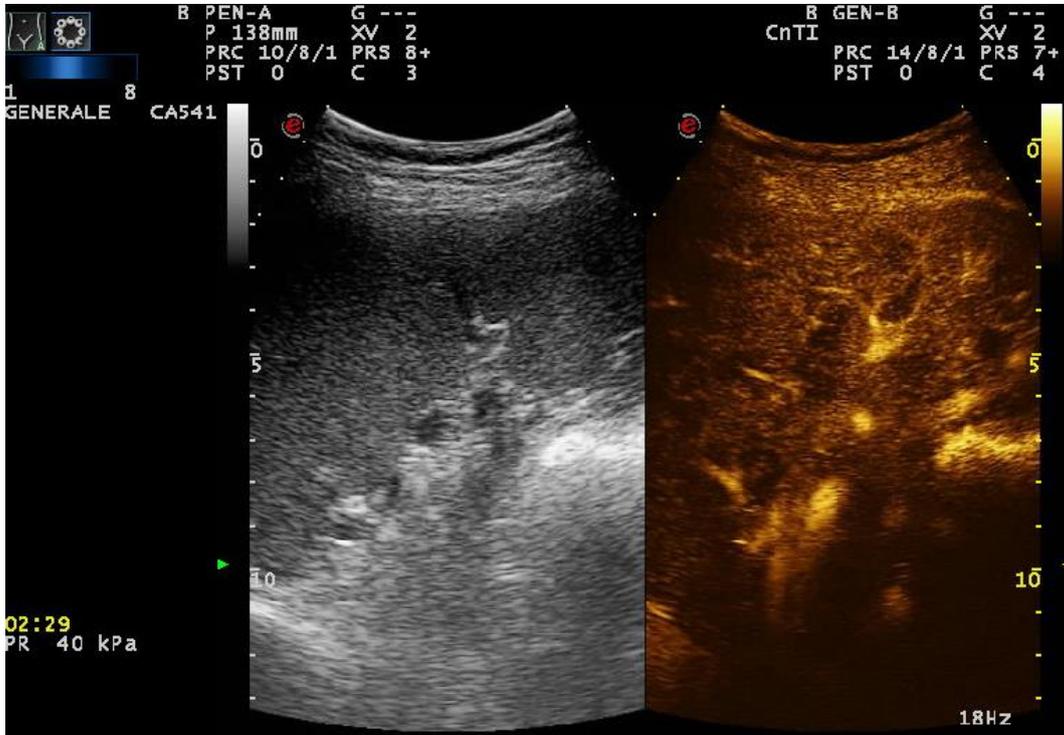
- la modalità B-Mode fornisce informazioni sulle strutture anatomiche;
- la modalità DCEUS fornisce informazioni sulla struttura dell'albero vascolare e sulla perfusione dei vasi.

La doppia visualizzazione permette dunque al clinico di localizzare in modo accurato la porzione tissutale di interesse osservando la

---

<sup>23</sup> Il DICOM (Digital Imaging and COmmunications in Medicine) è lo standard mondiale per il trasferimento e la gestione delle immagini mediche, introdotto sul finire degli anni ottanta per risolvere il problema degli standard proprietari, che avevano creato una situazione di totale incomunicabilità tra le apparecchiature di produttori diversi.

sequenza B-Mode e allo stesso tempo di controllare la perfusione dei vasi sfruttando l'informazione fornita dalla sequenza DCEUS.



**Figura 19.** I moderni ecografi consentono di visualizzare contemporaneamente sul monitor la stessa immagine in modalità B-Mode e in modalità DCEUS.

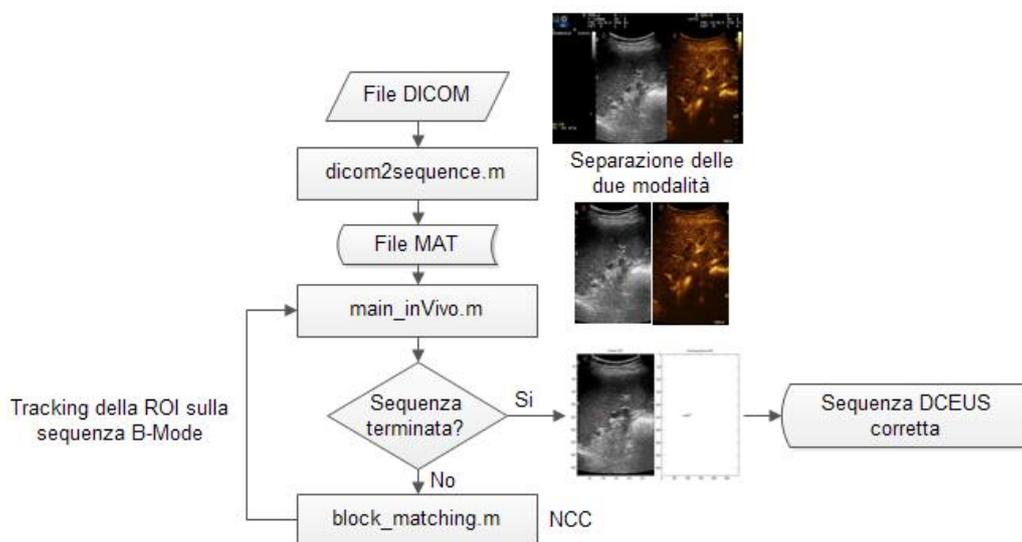
L'esatta corrispondenza spaziale e temporale delle due modalità permette di aggirare i problemi che il tracking diretto sulle immagini eco con mezzo di contrasto comporterebbe a causa delle grandi variazioni di intensità dei pixel tra frame consecutivi provocate dalla distruzione delle microbolle e dalla conseguente nuova perfusione dei vasi. La doppia visualizzazione consente infatti di effettuare il tracking della porzione tissutale di interesse sulla sequenza B-Mode e di utilizzare le informazioni ricavate per registrare le immagini eco con mezzo di contrasto. Il primo passo per correggere i movimenti respiratori nelle sequenze eco reali consiste allora nel separare le due sequenze. Lo script `dicom2sequence.m` carica le immagini contenute nel file DICOM (comando `dicomread`), estrae le sequenze B-Mode e DCEUS e le salva in un file MAT. Per consentire l'estrazione l'utente deve effettuare manualmente il crop dell'immagine B-Mode nel primo

frame della sequenza (comando `ginput`). Una volta separate le due sequenze si deve avviare lo script `main_inVivo.m` e caricare il file MAT contenente lo studio ecografico di interesse. Le immagini contenute nel file DICOM sono in formato RGB24, dunque la prima operazione da effettuare è la conversione a scala di grigio (comando `rgb2gray`). Lo script effettua il tracking della ROI scelta dall'utente richiamando iterativamente la funzione `block_matching.m` descritta nel Capitolo 2. Visti gli ottimi risultati forniti nelle simulazioni in vitro e la sua netta superiorità rispetto agli altri criteri di similarità si è deciso in questo caso di utilizzare in tutte le simulazioni la cross-correlazione normalizzata. E' stata inoltre aggiunta la possibilità di impostare una soglia per evitare di aggiornare la ROI quando i valori di NCC sono troppo bassi. La decorrelazione temporale dello speckle trasforma infatti il problema della ricostruzione del movimento in un problema mal posto e può essere causa di falsi matching. La decorrelazione può essere dovuta in particolare:

- a movimenti non uniformi dei piccoli elementi adiacenti che contribuiscono con i loro echi alla formazione dello speckle;
- alla presenza di movimenti out of plane del fegato, cioè cambiamenti del piano epatico acquisito con la sonda che portano alla comparsa nelle immagini di porzioni tissutali in precedenza assenti, caratterizzate da uno speckle differente da quello utilizzato per il tracking. Tali effetti sono in genere dovuti allo scivolamento della sonda ecografica sulla superficie cutanee.

Il tracking viene fatto partire dal frame immediatamente successivo alla distruzione delle microbolle per evitare la forte variazione di intensità causata dall'impulso ad alto indice meccanico. Non si tratta di una semplificazione eccessiva perché, ai fini delle elaborazioni successive, volte come già detto ad analizzare la perfusione dei vasi dopo la distruzione delle microbolle, i frame che precedono l'impulso sono completamente ininfluenti. Al termine del tracking lo script determina i vettori spostamento di ciascun frame calcolando la distanza tra la migliore corrispondenza individuata nell'*i*-esimo frame

e la ROI nel frame di riferimento, quindi registra le immagini eco con contrasto applicando ad ogni frame una traslazione di entità pari allo spostamento calcolato ma in direzione opposta. Il funzionamento del tracking in vivo è riassunto dal diagramma a blocchi di Figura 20.



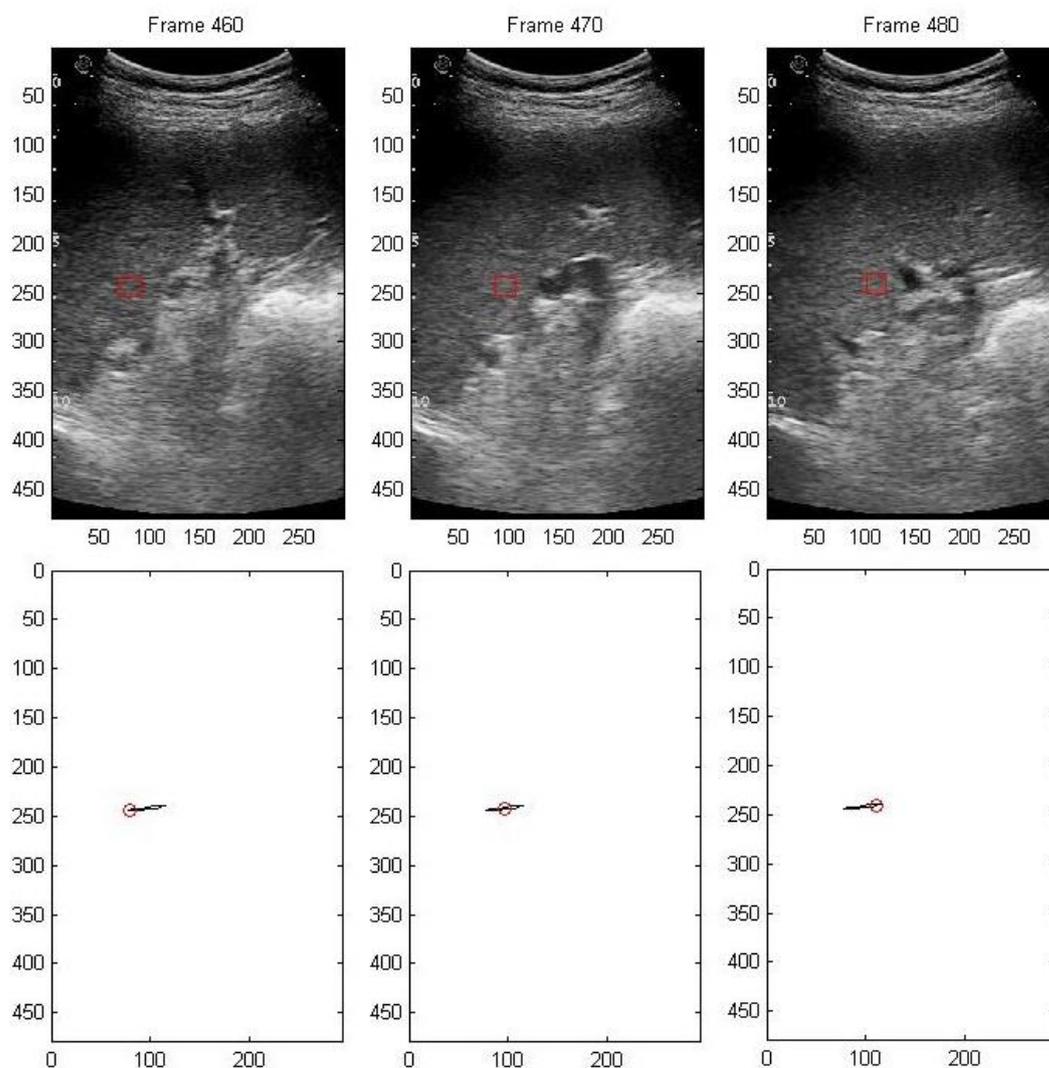
**Figura 20.** Schema di funzionamento del tracking in vivo.

### 3.2 Simulazioni e risultati

L'algoritmo di speckle tracking è stato testato su dieci sequenze ecografiche reali (Tabella 2). Per prima cosa sono state determinate le dimensioni ottimali della regione di interesse e dell'area di ricerca ripetendo il tracking su una stessa sequenza e mantenendo inalterato il centro della regione. In queste simulazioni la bontà del tracking è stata valutata solo qualitativamente, non essendo noto il campo di moto reale. E' stato dunque possibile solamente verificare che le migliori corrispondenze individuate dalla funzione di block matching fossero effettivamente tali da seguire i movimenti della porzione tissutale in esame, permettendone così la ricostruzione (Figura 21).

**Tabella 2.** Sequenze eco reali utilizzate.

ID	Movimenti presenti nella sequenza
006	Singola oscillazione al frame 460
009	Oscillazioni di ampiezza crescente
010	Nessun movimento
012	Oscillazioni a partire dal frame 300
013	Oscillazioni a partire dal frame 200
048	Movimenti molto lievi
054	Oscillazioni periodiche
075	Nessun movimento
109	Oscillazioni a partire dal frame 700
110	Singola oscillazione al frame 750



**Figura 21.** Valutazione qualitativa del tracking per la sequenza 006.

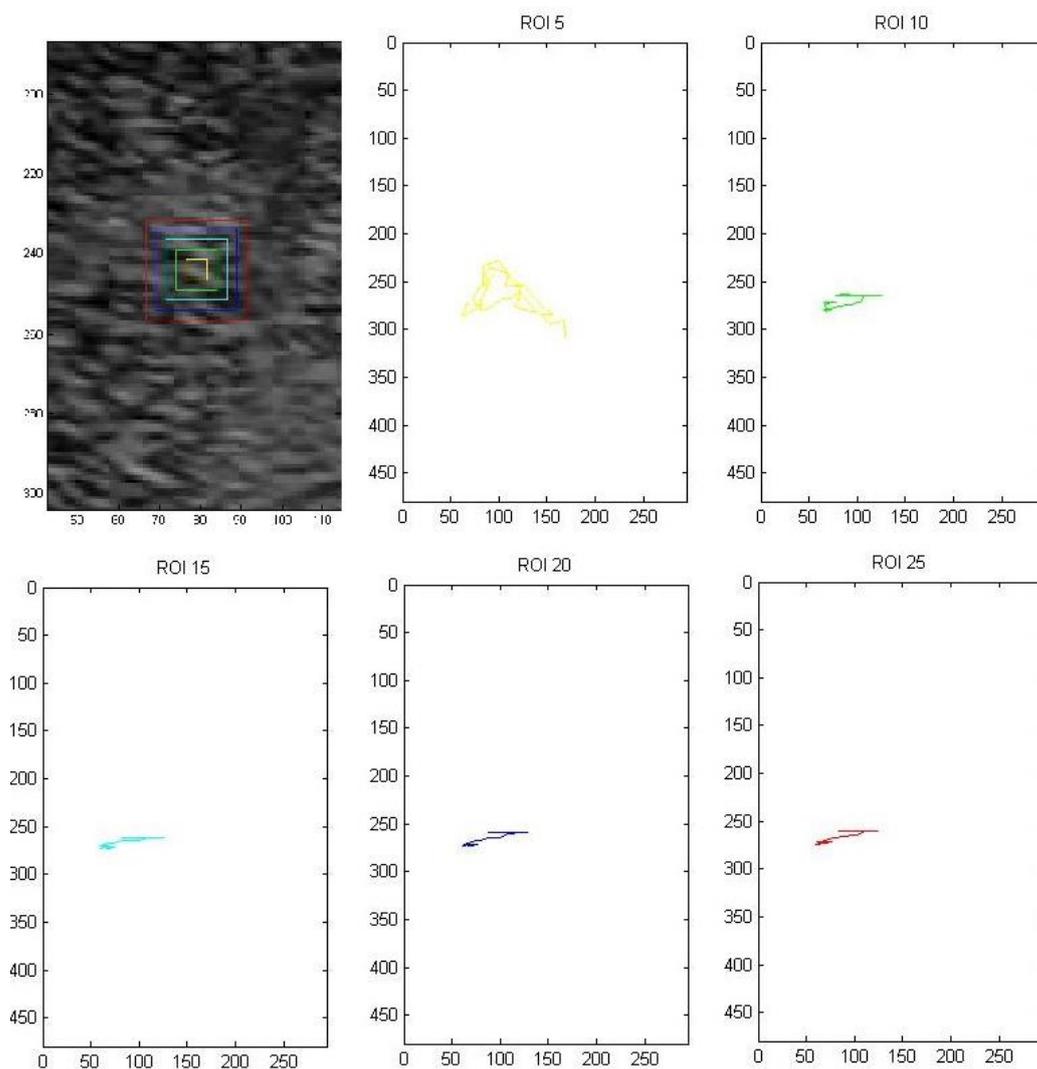
I valori dei parametri determinati nelle simulazioni precedenti sono stati utilizzati per valutare come la scelta della regione di interesse influenza l'esito del tracking, determinando in tal modo quali sono le ROI che con maggiore probabilità portano ad una corretta ricostruzione del movimento. A tal fine è stato eseguito il tracking considerando regioni diverse ma di uguali dimensioni della stessa sequenza. Le conoscenze ricavate dalle precedenti simulazioni sono state quindi sfruttate per eseguire il tracking su tutte le sequenze eco a disposizione. Le simulazioni in cui il tracking ha condotto a ricostruzioni inesatte o imprecise del movimento sono state infine ripetute impostando un valore di soglia.

### **3.2.1 Dimensione della ROI**

Per valutare l'influenza della dimensione della regione di interesse sull'accuratezza del tracking si è fatto uso delle sequenze 9 e 54. Il tracking è stato ripetuto usando ROI quadrate di lato variabile tra 5 e 25 pixel, centrate nel medesimo punto. La dimensione della finestra di ricerca, anch'essa quadrata, è stata fissata a 40 pixel per tutte le simulazioni. Per entrambe le sequenze si osserva una corretta ricostruzione del movimento per valori superiori ai 20 pixel, mentre il tracking è affetto da imprecisioni e inesattezze per regioni di 15 e 10 pixel e fallisce completamente scegliendo una ROI di 5 pixel (Figure 22 e 23). Maggiore è la dimensione della ROI, maggiore è infatti la probabilità che il pattern speckle in essa contenuto sia unico, e quindi sia meno sensibile al rumore e alla decorrelazione temporale<sup>24</sup>. Per garantire una sufficiente robustezza del tracking si è allora deciso di utilizzare per tutte le simulazioni successive una ROI quadrata di lato pari a 20 pixel.

---

<sup>24</sup> L. N. Bohs, B. J. Geiman, M. E. Anderson, S. C. Gebhart, G. E. Trahey. Speckle tracking for multi-dimensional flow estimation. *Ultrasonics* 38 (2000) 369-375

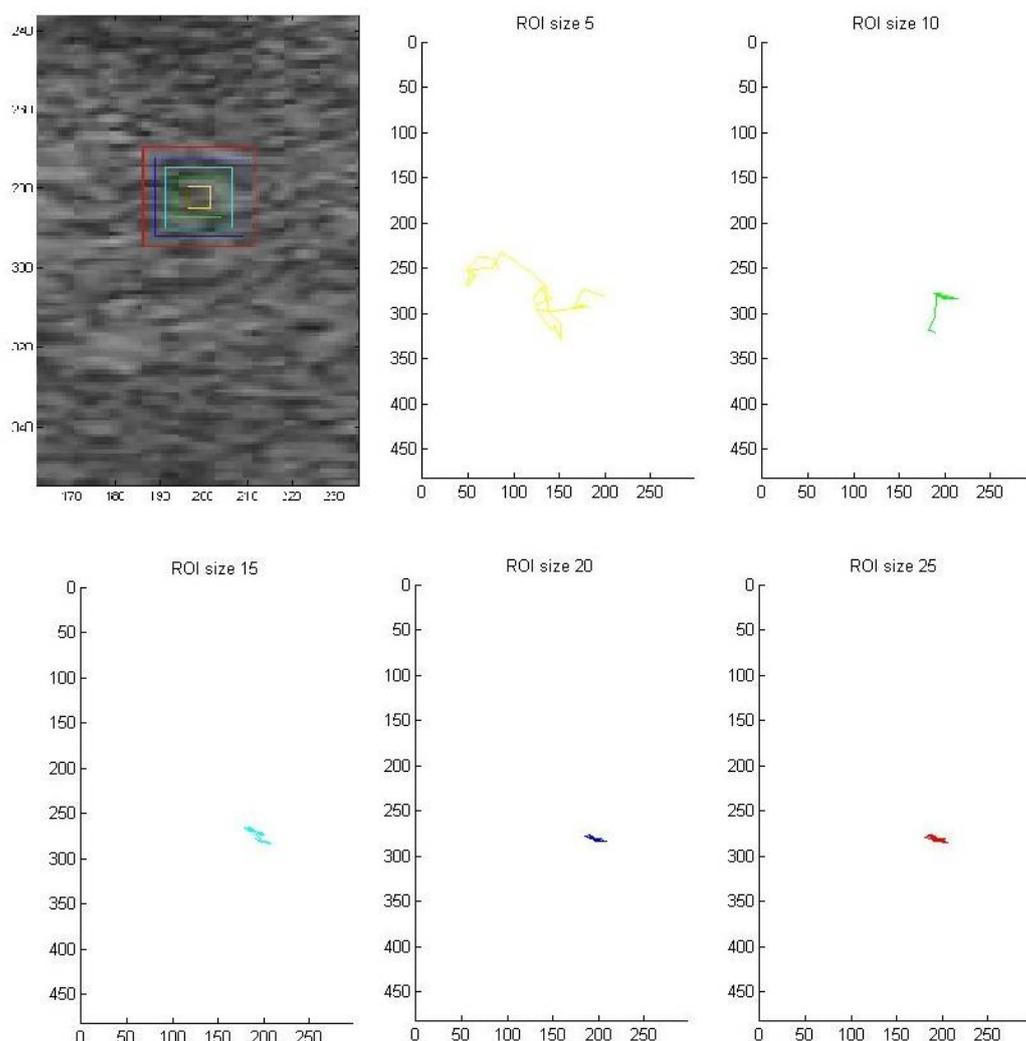


**Figura 22.** Influenza della dimensione della ROI sul tracking (sequenza 009).

### 3.2.2 Utilizzo della soglia

Nelle simulazioni con ROI di 10 e 15 pixel si è tentato di correggere le imprecisioni facendo uso della soglia. La soglia permette di trascurare gli aggiornamenti corrispondenti ai picchi negativi della curva della cross-correlazione normalizzata, a cui sono associati con elevata probabilità gli errori nel tracking. Se si considera il tracking effettuato sulla sequenza 54 con la ROI di lato 15 pixel si osserva ad esempio un picco negativo intorno al frame 180 (Figura 24). In questo caso è stato possibile correggere la ricostruzione del movimento semplicemente

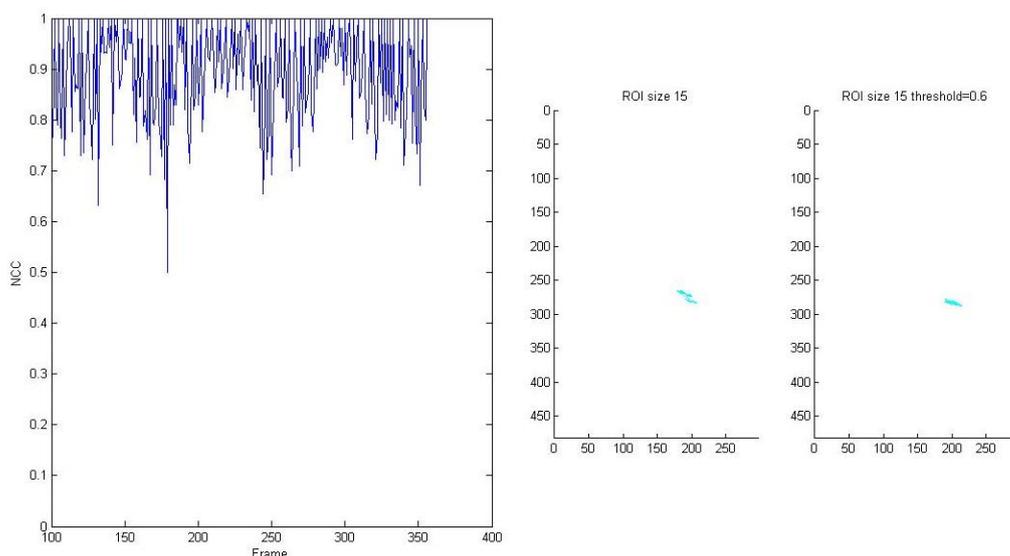
fissando una soglia di 0.60, che viene superata solamente dal picco in esame.



**Figura 23.** Influenza della dimensione della ROI sul tracking (sequenza 054).

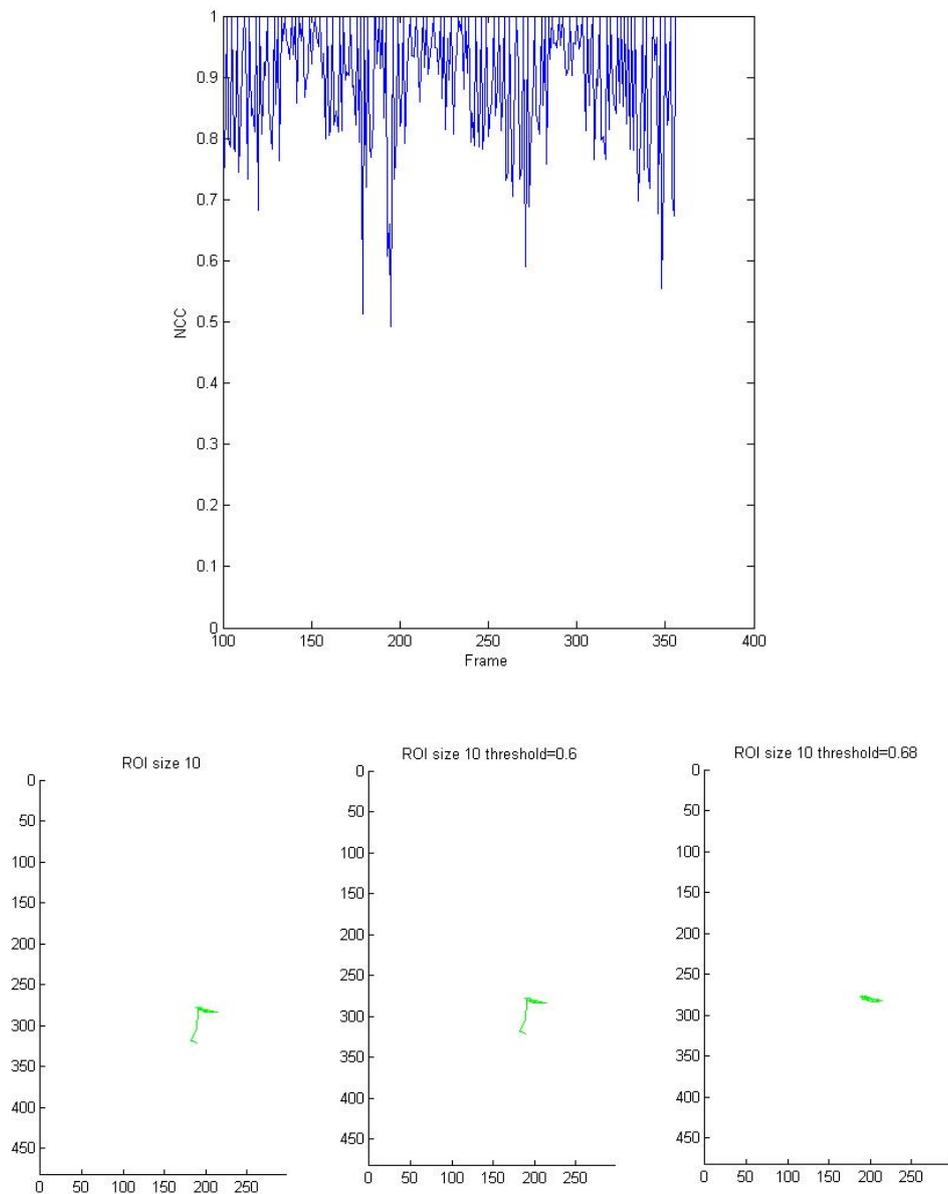
In questo caso è stato quindi semplice individuare il punto in cui il tracking cade in errore e correggere l'imprecisione che ne risulta saltando il frame corrispondente. E' importante specificare che l'imprecisione non è in realtà dovuta ad un errore dell'algoritmo di block matching, che si limita ad individuare la migliore corrispondenza della regione di interesse nel frame, bensì è un effetto dell'elevata decorrelazione temporale dello speckle che determina un

abbassamento del contrasto nella matrice di correlazione calcolata da `normxcorr2`.



**Figura 24.** Influenza della soglia sul tracking (sequenza 054, ROI di lato 15).

La scelta della soglia non è però sempre così semplice. Osservando i valori di NCC che si ottengono per la stessa sequenza nelle simulazioni con ROI di lato 10 si può notare la presenza di picchi multipli (Figura 25). In questo caso risulta molto più difficile riuscire ad associare le imprecisioni presenti nel tracking al giusto picco e si deve procedere per tentativi, tenendo anche conto che non sempre l'imprecisione è legata al minimo assoluto di NCC. In questo caso l'utilizzo di una soglia pari a 0.6 non porta ad alcun miglioramento, dunque si procede incrementando progressivamente la soglia. Le imprecisioni sono ancora presenti se si fissa la soglia a 0.65, mentre scompaiono con una soglia di 0.70. In quest'ultimo caso si scartano però anche frame corrispondenti a reali movimenti della ROI. Si deve allora scegliere una soglia intermedia, pari a 0.68. Per scegliere la soglia è dunque necessario analizzare attentamente i dati forniti dal tracking stesso. Si deve notare che non sempre l'utilizzo della soglia consente di correggere le imprecisioni. E' ad esempio il caso della sequenza 9, dove l'utilizzo della soglia non porta ad alcun miglioramento.



**Figura 25.** Effetto della soglia sul tracking (sequenza 054, ROI di lato 10).

### 3.2.3 Dimensione dell'area di ricerca

Per valutare il modo in cui la dimensione dell'area di ricerca influenza l'accuratezza del tracking è stata utilizzata la sequenza 6, che presenta un solo rapido movimento verso destra. Il tracking è stato ripetuto usando ROI di dimensione costante e aree di ricerca di lato compreso tra 20 e 50 pixel. I risultati ottenuti mostrano che il tracking fallisce

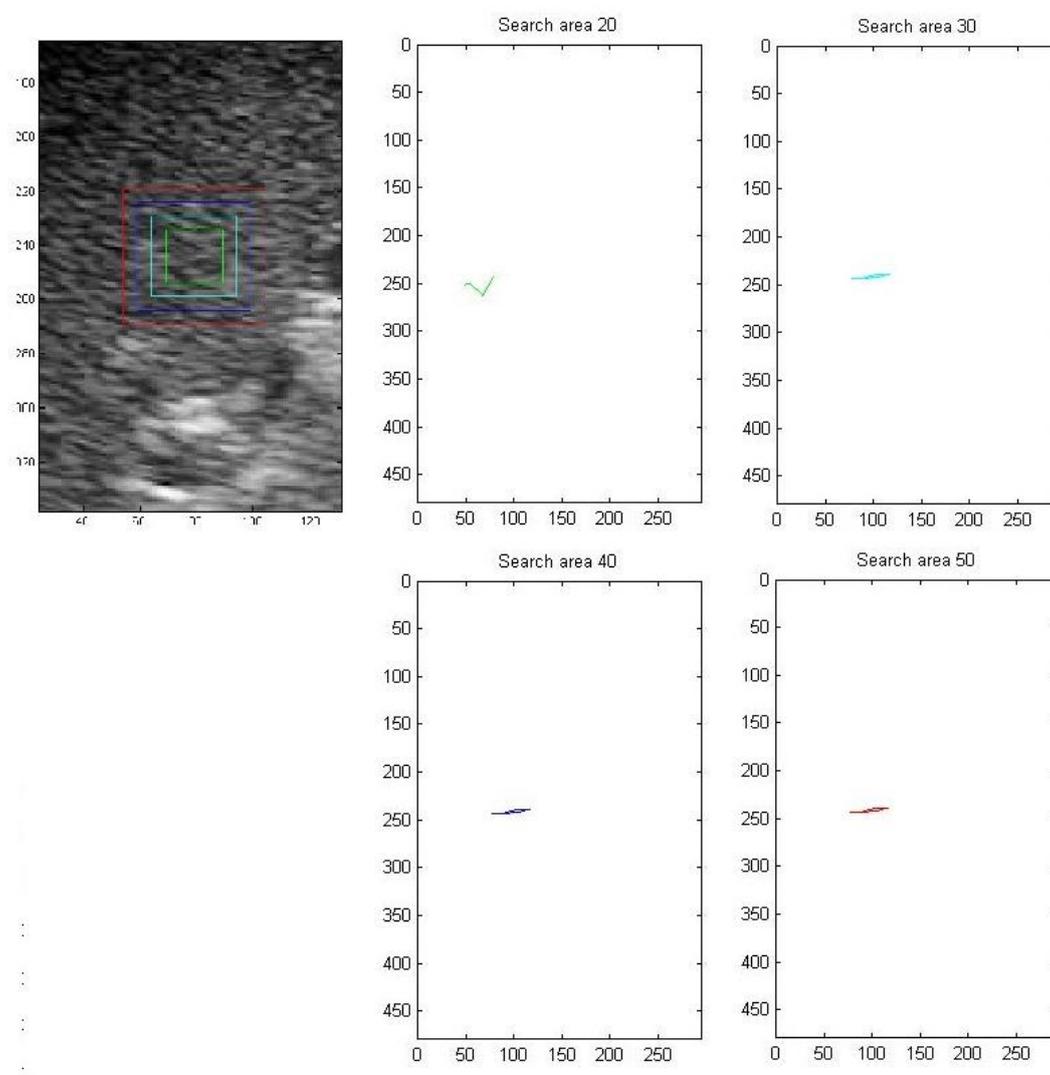
solo quando si utilizza un'area di ricerca con lato pari a 20 pixel, mentre l'algoritmo è in grado di ricostruire correttamente lo spostamento se si utilizzano aree di ricerca superiori ai 30 pixel (Figura 26). L'elevato frame rate delle sequenze fa infatti sì che gli spostamenti della ROI tra frame consecutivi siano piuttosto limitati (nella sequenza 006 in occasione del movimento la ROI si sposta lungo l'ascissa con velocità massima di 2 pixel/frame), dunque è in generale sufficiente utilizzare un'area di ricerca di dimensioni di poco superiori alla regione di interesse. Nell'ottica di stabilire dei parametri in grado di fornire risultati ottimali per qualunque sequenza si è deciso di utilizzare nel seguito un'area di ricerca quadrata di lato pari a 40 pixel, ritenuta sufficientemente grande da contenere tutti gli spostamenti della ROI tra frame consecutivi.

### **3.2.4 Posizione della ROI**

Un altro aspetto critico dello speckle tracking è la scelta della porzione tissutale da tracciare. Per valutare l'importanza di un corretto posizionamento della ROI il tracking è stato ripetuto su una stessa sequenza considerando diversi centri, mantenendo inalterati tutti gli altri parametri. Le sequenze considerate sono in questo caso la 6 e la 9. I risultati ottenuti per la sequenza 9 (Figura 27) mostrano innanzitutto che è bene evitare le seguenti porzioni dell'immagine:

- la porzione inferiore dell'immagine, caratterizzata da una risoluzione troppo bassa che impedisce un tracking accurato;
- la porzione superiore dell'immagine, perché troppo scura. Il tracking in questa regione risulterebbe inoltre superfluo in quanto l'area non comprende il fegato, cioè l'elemento al centro delle successive elaborazioni, ma solo gli strati superficiali dell'addome;
- l'estremo destro, poiché in tutte le sequenze analizzate lo spostamento iniziale è sempre diretto verso destra. Scegliere la

ROI vicino al bordo potrebbe dunque portare all'uscita della stessa dal frame e al conseguente fallimento del tracking.

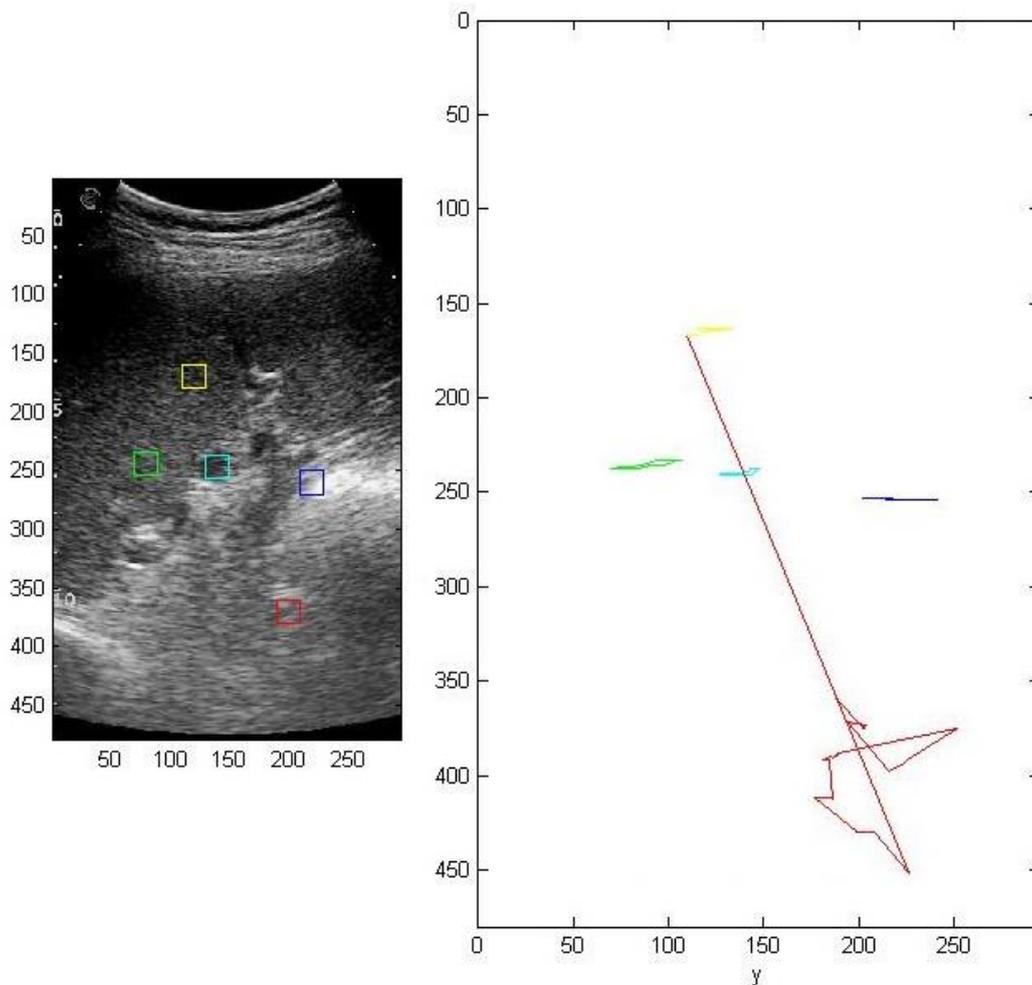


**Figura 26.** Influenza della dimensione dell'area di ricerca sul tracking (sequenza 006).

La ROI deve dunque essere scelta nella porzione centrale del frame. All'interno di questa si devono preferire le regioni omogenee e prive di ostacoli, evitando di posizionare la ROI:

- all'interno dei grandi vasi (se visibili anche in modalità B-Mode), dove il pattern speckle è caratteristico del sangue e riflette quindi il movimento di quest'ultimo (e non del fegato);

- nelle zone troppo chiare, dove la saturazione del segnale porta alla perdita della granulosità. Queste regioni corrispondono inoltre a strutture vincolate che mostrano movimenti diversi rispetto a quelli del fegato.



**Figura 27.** Influenza del posizionamento della ROI sul tracking (sequenza 009).

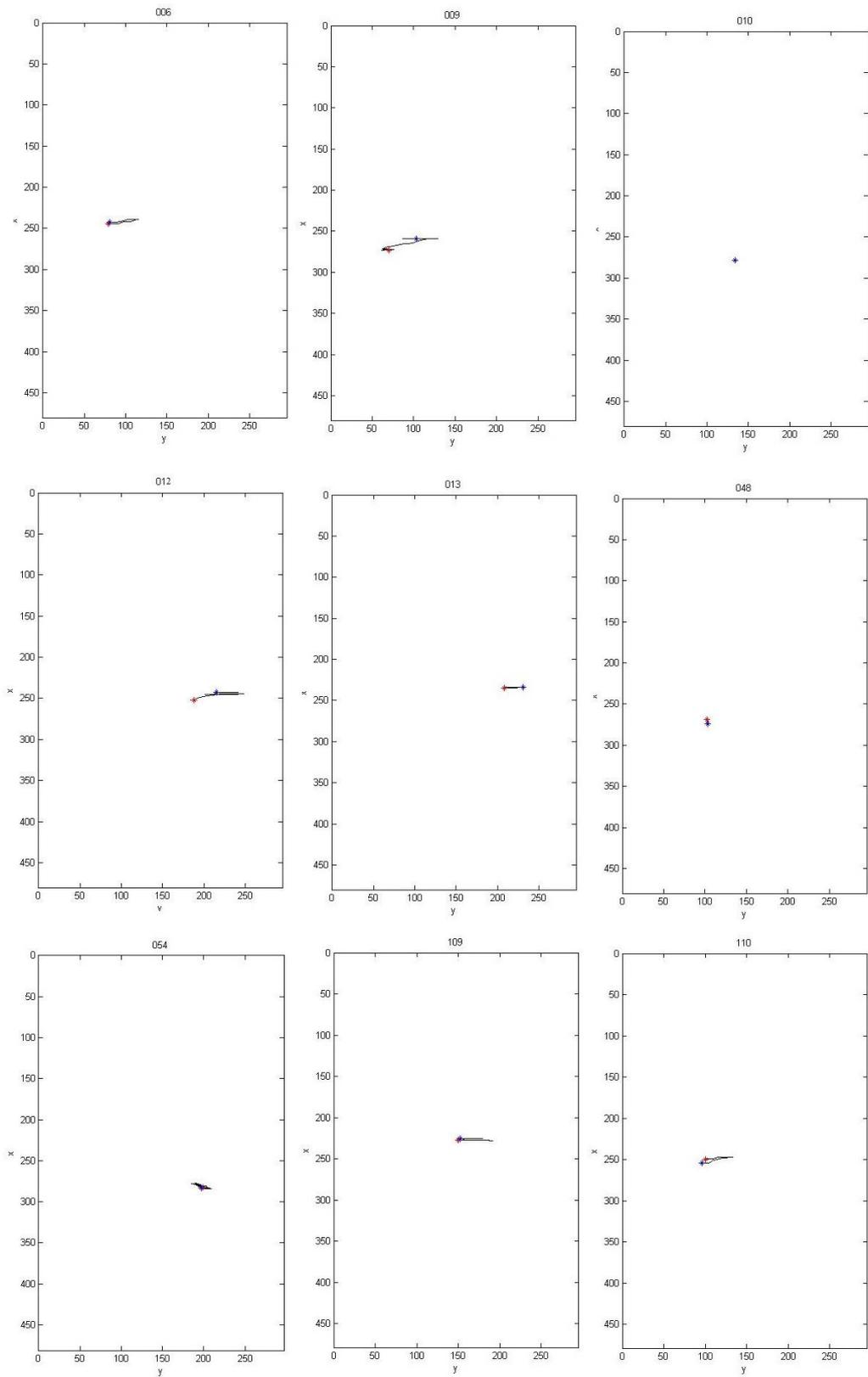
### 3.2.5 Risultati finali

Le conoscenze ricavate dalle simulazioni precedenti sono state sfruttate per effettuare il tracking di tutte le sequenze a disposizione. In tutti i casi l'utilizzo di una ROI di dimensioni 20x20 pixel posizionata in una regione sufficientemente omogenea (Tabella 3) e di

un'area di ricerca 40x40 pixel ha permesso di ottenere una ricostruzione corretta del movimento (Figura 28). Con tali impostazioni dei parametri non è stato in nessun caso necessario utilizzare la soglia per correggere imprecisioni del tracking. Lo speckle tracking si è dunque rivelato una tecnica affidabile per la ricostruzione dei movimenti del fegato nelle immagini ecografiche.

**Tabella 3.** Scelta della ROI nelle simulazioni conclusive.

ID	Centro della ROI (x,y)	NCC	
		Valore medio	Valore minimo
006	(244,79)	0.96	0.59
009	(273,70)	0.92	0.56
010	(278,134)	0.98	0.91
012	(252,188)	0.92	0.43
013	(235,208)	0.90	0.28
048	(269,102)	0.96	0.75
054	(282,199)	0.89	0.54
075	(282,199)	0.93	0.48
109	(227,150)	0.95	0.54
110	(250,100)	0.97	0.60



**Figura 28.** Ricostruzione del movimento per tutte le sequenze eco a disposizione.

# Conclusioni

Nel presente lavoro è stata messa a punto una tecnica di speckle tracking per la correzione dei movimenti in ecografia epatica con mezzo di contrasto. La tecnica è stata dapprima testata su sequenze ecografiche sintetiche per valutare le prestazioni dei diversi criteri di similarità presi in esame (NCC, SAD e SSD), quindi è stata applicata a dieci sequenze ecografiche reali per valutarne il funzionamento in vivo.

Dalle simulazioni in vitro (Capitolo 2) è emersa la netta superiorità della cross-correlazione normalizzata, in grado di garantire un'accurata ricostruzione del movimento anche in condizioni di basso rapporto segnale-rumore e in presenza di deformazioni.

Nelle simulazioni in vivo (Capitolo 3) è stato valutato l'effetto della dimensione della ROI e del suo posizionamento all'interno del frame sulla bontà del tracking, utilizzando come criterio di similarità la cross-correlazione normalizzata. Si è in particolare visto che per garantire buoni risultati è necessario utilizzare una ROI di lato pari a 20 pixel (o superiore), cioè di dimensioni tali da poter affermare con elevata probabilità che il pattern di granulosità in essa contenuto sia unico. L'utilizzo di ROI di lato 10 e 15 pixel determina invece un tracking meno accurato, che può essere in alcuni casi migliorato facendo uso di una soglia sui valori di NCC che impedisce l'aggiornamento della posizione della ROI in caso di elevata decorrelazione dello speckle. La ROI deve essere posizionata nella zona centrale del frame, lontano da grandi vasi ed altre strutture che possono ostacolare il tracking. La migliore corrispondenza della ROI deve essere cercata nei frame successivi all'interno di un'area di lato non inferiore a 40 pixel, per garantire una risoluzione spaziale tale da consentire una ricostruzione accurata anche dei movimenti più veloci.

L'utilizzo di questi accorgimenti ha permesso di completare con successo il tracking di tutte le dieci sequenze fornite. Si può dunque concludere che è stata individuata una tecnica robusta e affidabile per ricostruire i movimenti del fegato nelle sequenze ecografiche con mezzo di contrasto. Lo speckle tracking può allora essere applicato nell'ambito del progetto CLEVER (considerando simultaneamente più ROI dell'immagine, in quanto il fegato si muove e si deforma in modo non uniforme) per correggere i movimenti respiratori e consentire la costruzione di un modello a grafo sufficientemente accurato dell'albero vascolare. Lo studio di tale modello permetterà, secondo le previsioni, di individuare un indice di connettività vascolare in grado di sostituire il gradiente pressorio venoso del fegato nella gestione dei pazienti cirrotici, con benefici in termini di costo, tempo e comfort dei pazienti.

# Bibliografia

1. Martin Blachier, Henri Leleu, Markus Peck-Radosavljevic, Dominique Charles-Valla, Françoise Roudot-Thoraval. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *Journal of Hepatology* 2013 vol. 58 | 593-608.
2. La fibrosi epatica. Prof. Fabio Marra. Dipartimento di Medicina Interna, Università di Firenze.
3. Guadalupe Garcia-Tsao, Joseph Lim. Management and treatment of patients with cirrhosis and portal hypertension: recommendations from the department of veterans affairs hepatitis C resource center program and the national hepatitis C program. *The American Journal of Gastroenterology* 2009 vol. 104.
4. Annalisa Berzigotti, Susana Seijo, Enric Reverter, Jaime Bosch. Assessing portal hypertension in liver diseases. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 7(2), 141-155 (2013).
5. Jaime Bosch, Juan G. Abraldes, Annalisa Berzigotti, Juan Carlos Garcia-Pagan. The clinical use of HVPG measurements in chronic liver diseases. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* 6, 573-582 (2009).
6. Annalisa Berzigotti, Fabio Piscaglia. Ultrasound in portal hypertension--part 2—and EFSUMB recommendations for the

performance and reporting of ultrasound examinations in portal hypertension. *Ultraschall Med.* 2012; 33(1):8-32.

7. Mario Meola. Nefropatia ischemica ed uremia terminale. Atti del 6° corso di ecografia e colorDoppler in nefrologia. Lerici 23-25 maggio 2005.
8. Christopher J. Harvey, Thomas Albrecht. Ultrasound of focal liver lesions. *Eur. Radiol.* (2001) 11: 1578-1593.
9. Nicolas G. Rognin, Marcel Arditi, Laurent Mercier, Peter J. A. Frinking, Michael Schneider, Geneviève Perrenoud, Anass Anaye, Jean-Yves Meuwly, Francois Tranquart. Parametric imaging for characterizing focal liver lesions in contrast-enhanced ultrasound. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics and frequency control*, Vol. 57, No. 11, 2010.
10. Tommaso Vincenzo Bartolotta, Adele Taibbi, Massimo Midiri, Roberto Lagalla. Focal liver lesions: contrast-enhanced ultrasound. *Abdom Imaging* (2009) 34: 193-209.
11. Annalisa Berzigotti, Carlos Nicolau, Pablo Bellot, Juan G. Abraldes, Rosa Gilabert, Juan Carlos Garcia-Pagan, Jaime Bosch. Evaluation of regional hepatic perfusion (RHP) by contrast-enhanced ultrasound in patients with cirrhosis. *Journal of Hepatology* 2011 vol. 55 | 307-314.
12. Raffi Karshafian, Peter N. Burns, Mark R. Henkelman. Transit time kinetics in ordered and disordered vascular trees. *Phys. Med. Biol.* 48 (2003) 3225-3237.
13. Hong Yang, Guang-Jian Liu, Ming-De Lu, Hui-Xiong Xu, Xiao-Yan Xie. Evaluation of the vascular architecture of focal liver lesions using micro flow imaging.

14. Damianos Christofides, Edward Leen, Michalakis A. Averkiou. Automatic respiratory gating for contrast ultrasound evaluation of liver lesions. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics and frequency control*, vol. 61, no. 1 (2014).
15. Ji Zhang, Mingyue Ding, Fan Meng, Ming Yuchi, Xuming Zhang. Respiratory motion correction in free-breathing ultrasound image sequence for quantification of hepatic perfusion. *Medical Physics* 38, 4737 (2011).
16. Michalakis Averkiou, Marios Lampaskis, Konstantina Kyriakopoulou, Dimosthenis Skarlos, Georgios Klouvas, Costas Strouthos, Edward Leen. Quantification of tumor microvasculature with respiratory gated contrast enhanced ultrasound for monitoring therapy. *Ultrasound in Med. & Biol.*, Vol 36, No. 1, pp. 68-77, 2010.
17. Yoshihiro Noguchi, Jun Furukawa, Hitoshi Kiya. A fast full search block matching algorithm for MPEG-4 video. *IEEE* (1999).
18. Johan M. Thijssen. Ultrasonic speckle formation, analysis and processing applied to tissue characterization. *Pattern Recognition Letters* 24 (2003) 659-675.
19. Christoph B. Burckhardt. Speckle in ultrasound B-Mode scans. *IEEE transactions on sonics and ultrasonics*, Vol. SU-25, No. 1 (1978).
20. Brage H. Amundsen, Thomas Helle-Valle, Thor Edvardsen, Hans Torp, Jonas Crosby, Erik Lyseggen, Asbjorn Stoylen, Halfdan Ihlen, Joao A. C. Lima, Otto A. Smiseth, Stig A. Slordhal. Noninvasive myocardial strain measurement by speckle tracking echocardiography. Validation against

sonomicrometry and tagged magnetic resonance imaging. Journal of the American College of Cardiology, Vol. 47, No. 1, 2006.

21. Simona Sitia, Livio Tomasoni, Maurizio Turel. Speckle tracking echocardiography: A new approach to myocardial function. World J Cardiol 2010 January 26; 2(1): 1-5.
22. Fei Yeung, Stephen F. Levinson, Dongshan Fu, Kevin J. Parker. Feature-adaptive motion tracking of ultrasound image sequences using a deformable mesh. IEEE transactions on medical imaging, Vol. 17, No. 6, 1998.
23. L. N. Bohs, B. J. Geiman, M. E. Anderson, S. C. Gebhart, G. E. Trahey. Speckle tracking for multi-dimensional flow estimation. Ultrasonics 38 (2000) 369-375.