

Scuola di Ingegneria

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

Anno accademico 2013/2014

Tesi di Laurea

Studio, sviluppo e validazione di un algoritmo di clustering multidimensionale per la segmentazione di immagini di risonanza magnetica multiecho

Relatore

Ing. Vincenzo Positano

Il candidato

Flavio Di Martino

Controrelatore

Ing. Nicola Vanello

INDICE

Introduzione	4
1. Cenni all'imaging RM T2*-pesato finalizzato alla valutazione dell'accumulo di ferro in pazienti talassemici	11
1.1 MRI quantitativa	11
1.2 Mapping T2*	15
1.3 Applicazioni cliniche	20
2. Talassemia ed accumulo di ferro nei vari organi	22
2.1 Talassemie: cause e sintomi	22
2.2 Le complicanze	23
2.2.1 Cuore	23
2.2.2 Fegato	24
2.2.3 Sistema endocrino	24
2.2.4 Osteoporosi	24
2.2.5 Ipersplenismo	25
2.3 La terapia	25
2.3.1 La terapia chelante	26
2.4 Misurazione dei livelli di ferro	27
2.4.1 Monitoraggio della ferritina sierica	27
2.4.2 Biopsia epatica	27
2.4.3 Suscettometria biomagnetica tramite SQUID	28
2.4.4 LPI/NTBI	28
2.4.5 Risonanza magnetica per immagini (MRI)	28
2.5 Protocollo per l'esecuzione di un esame di CMR	30
3. Il network MIOT ed il software HIPPO-MIOT	40
3.1 Descrizione della rete MIOT	40
3.2 Funzionalità del software per l'analisi T2* cardiaca	43
3.3 Principali limitazioni e definizione del problema	47

<i>3.4 Stato dell'arte</i>	<i>50</i>
<i>3.4.1 Principali campi di applicazione clinica</i>	<i>56</i>
4 L'algoritmo ISODATA	77
<i>4.1 Descrizione dell'algoritmo</i>	<i>77</i>
<i>4.2 Implementazione dell'algoritmo in linguaggio IDL</i>	<i>87</i>
<i>4.2.1 Cenni alla programmazione IDL</i>	<i>87</i>
<i>4.2.2. Analisi del codice</i>	<i>89</i>
<i>4.3 Applicazione su immagini 'phantom'</i>	<i>98</i>
<i>4.4 Selezione e calcolo degli indici di performance</i>	<i>106</i>
5 Risultati ottenuti sul modello	114
<i>5.1 Caratterizzazione dell'algoritmo in funzione della variabilità clinica</i>	<i>114</i>
<i>5.2 Minima dimensione dei clusters</i>	<i>119</i>
<i>5.3 Dimensione del dataset</i>	<i>130</i>
<i>5.4 Parametro di lumping</i>	<i>137</i>
<i>5.5 Parametro di splitting</i>	<i>150</i>
<i>5.6 Impostazione ottimale dei parametri ed analisi dei casi critici</i>	<i>168</i>
6 Risultati ottenuti su immagini reali	175
<i>6.1 Prove preliminari su immagini reali</i>	<i>175</i>
<i>6.2 Validazione</i>	<i>183</i>
7 Conclusioni e sviluppi futuri	196
8 Bibliografia	201

Introduzione

L'imaging di risonanza magnetica (RM) rappresenta ad oggi l'unica tecnica in grado di realizzare una valutazione quantitativa accurata, affidabile e non invasiva dell'accumulo di ferro multiorgano, in particolare a livello cardiaco. Tale valutazione viene tipicamente effettuata su pazienti affetti da emocromatosi primaria o secondaria; un caso tipico di emocromatosi secondaria è rappresentato dai pazienti con talassemia major dove l'accumulo di ferro è dovuto alle trasfusioni periodiche a cui i pazienti devono sottoporsi. Le talassemie sono malattie a base genetica caratterizzate da un trasporto difettoso dell'ossigeno da parte dei globuli rossi, diffuse prevalentemente tra le popolazioni di origine mediterranea, africana e asiatica; in Italia, secondo un censimento del 2000, le persone colpite da questa malattia sono circa 7000. I pazienti affetti da talassemia major soffrono di anemia e richiedono dunque continue trasfusioni di sangue, le quali portano ad un sovraccarico di ferro in svariati organi come fegato, cuore e pancreas. Tale accumulo, se non trattato, porta ad una serie di complicanze, più o meno gravi, per ciascuno degli organi coinvolti; è necessario quindi istituire in tempo opportune terapie chelanti per eliminare il ferro in eccesso. Per poter effettuare tali terapie è tuttavia necessario possedere una stima accurata dell'accumulo di ferro nei vari organi. Grazie ai farmaci chelanti infatti l'aspettativa di vita dei malati è notevolmente migliorata, ma purtroppo l'uso prolungato di tali farmaci comporta una serie di controindicazioni anche gravi. E' quindi necessario utilizzare metodiche che consentano di misurare efficacemente l'accumulo di ferro nei vari organi in modo da poter adattare la dose di chelante alle condizioni del paziente, limitando il più possibile le controindicazioni e gli effetti tossici dei farmaci ma garantendo allo stesso tempo l'efficacia della terapia.

L'imaging RM ha sostituito nel corso degli anni svariate metodiche utilizzate per la valutazione del ferro circolante e di quello immagazzinato, ed in particolare ha preso il posto di una tecnica storicamente considerata il 'gold standard' nella valutazione dell'accumulo di ferro corporeo: la biopsia epatica. L'accumulo di ferro epatico è considerato da sempre un precursore dell'accumulo in altri organi, specialmente nel cuore; tramite la biopsia epatica è possibile misurare la LIC ('Liver Iron Concentration') ed utilizzarla come valore rappresentativo dell'accumulo corporeo di ferro. La biopsia è tuttavia una tecnica invasiva, poco ripetibile e difficilmente estendibile al caso cardiaco; inoltre, se il campione prelevato non è sufficientemente grande, fornisce risultati poco correlati con la reale condizione clinica del paziente.

Per la misura dell'accumulo di ferro mediante RM viene sfruttato il legame tra l'accumulo di ferro e il valore del T2* (tempo di pseudorilassamento). Tale valore rappresenta un parametro tissutale intrinseco dell'imaging RM, tipico per ciascun tessuto, ed è dato dalla somma di due componenti: la prima componente è il tempo

di rilassamento trasversale (o T2, anch'esso tipico per ciascun tessuto), che misura la velocità di decadimento della magnetizzazione trasversa in seguito all'applicazione dell'impulso di eccitazione a RF, mentre la seconda è data dalle disomogeneità presenti nel campo magnetico statico applicato. Tali disomogeneità sono dovute a svariati fattori, tra i quali per l'appunto l'accumulo tissutale di ferro. La relazione tra T2* ed accumulo di ferro è una relazione di proporzionalità inversa, per cui a bassi valori di T2* (espressi in ms) corrispondono accumuli di ferro severi e viceversa; apposite linee guida cliniche permettono di associare ad ogni valore di T2* una stima del grado di severità della patologia. La procedura di misura del valore T2* prevede l'estrazione del segnale RM da una serie di immagini acquisite a tempi di echo (TE) diversi e dal fitting del segnale estratto con un opportuno modello di decadimento esponenziale del segnale; l'obiettivo finale è quindi quello di ottenere delle mappe T2*, ovvero immagini delle stesse dimensioni di quelle usate come input in cui in ogni pixel viene riportato il valore T2* relativo a quella regione elementare di spazio. Nell'imaging cardiaco, le immagini vengono acquisite con sequenze GRE-T2* multiecho. Le immagini vengono acquisite in 'breath hold' per evitare artefatti di movimento e nella fase telediastolica del ciclo cardiaco, mediante un corretto triggering con il segnale ECG, per acquisire le immagini in una fase 'stabile' del ciclo cardiaco in cui il miocardio è rilassato; ciò permette di garantire l'allineamento dei frames lungo i vari TE. Per ogni paziente vengono tipicamente acquisite tre fette in asse corto (SA) cardiaco, rispettivamente basale, media ed apicale. Le limitazioni nel tempo di acquisizione dovute alla necessità del triggering ECG riducono la qualità delle immagini cardiache rispetto a quelle acquisite su organi non soggetti a movimento. Si è quindi scelto di affrontare il problema della segmentazione di immagini cardiache in quanto i risultati ottenuti sono estendibili ad altri tipi di immagini.

Nell'imaging cardiaco, l'analisi T2* richiede come primo passo il tracciamento manuale dei contorni della parete cardiaca (endocardio ed epicardio); a partire da tali contorni è possibile suddividere la parete cardiaca in 16 segmenti, secondo il modello proposto dalla AHA ('American Heart Association'; 6 segmenti basali, 6 medi e 4 apicali), calcolando poi i vari valori dei T2* segmentali e quello globale della parete cardiaca.

Il tracciamento manuale di tali contorni deve essere eseguito da un radiologo esperto, e comporta l'introduzione nella procedura di variabilità intra-osservatore ed inter-osservatore, che limitano la riproducibilità della metodica. L'obiettivo della tesi è stato realizzare un algoritmo di segmentazione multidimensionale, ossia applicabile a dataset RM multidimensionali (multiparametrici e/o multiecho), e con approccio di tipo 'unsupervised', in cui cioè l'intervento di un'operatore esterno può essere necessario per iniziare la

segmentazione ma non influisce sui risultati ottenuti, annullando dunque le variabilità intra ed inter-osservatore.

In letteratura sono presenti diversi algoritmi che utilizzano dataset RM multiparametrici, ma nessuno di essi prende in esame immagini RM cardiache e neanche dataset di tipo multiecho. La quasi totalità degli studi analizzati utilizza invece come algoritmo di segmentazione l'algoritmo ISODATA, che è stato quindi scelto per valutarne la possibilità di applicazione ad immagini RM-T2* multiecho ai fini della valutazione dell'accumulo di ferro cardiaco.

L'algoritmo ISODATA, acronimo per 'Iterative Self-Organizing Data Analysis Technique', è un algoritmo di segmentazione di tipo 'unsupervised' applicabile a dati multidimensionali. Tale algoritmo è molto simile nella sua forma base all'algoritmo K-means; esso è infatti un algoritmo iterativo, che inizializza i valori dei vari centroidi e successivamente assegna i vari pixels ai centroidi più vicini secondo la metrica scelta, classificando dunque i pixels in vari clusters. A differenza del K-means, l'algoritmo ISODATA possiede degli steps ulteriori che comportano l'abilità di tale algoritmo di aggiustare in maniera automatica il numero di cluster individuati; tali steps sono conosciuti solitamente con i termini 'splitting' e 'merging' (letteralmente 'suddivisione' e 'fusione'). I vantaggi principali di tale algoritmo stanno dunque nel fatto di non necessitare né di nessuna procedura di 'training' precedente alla segmentazione né di alcuna conoscenza a priori del numero esatto di clusters in cui suddividere i dati. Il principale svantaggio dell'algoritmo risiede invece nella necessità di ottimizzare un rilevante numero di parametri che ne caratterizzano il funzionamento.

Per realizzare tale ottimizzazione è stato implementato un dataset di immagini 'phantom', opportunamente create per simulare morfologia, distribuzione spaziale e decadimento T2* tipico dei tessuti presenti nelle immagini RM in esame, che sono background/aria, miocardio, fegato, 'blood pool', tessuto muscolare e tessuto adiposo. Il 'phantom' realizzato ha permesso di modellare le fonti di disturbo presenti nelle reali pratiche di acquisizione, come il rumore e l'effetto volume parziale (PVE), per ottenere un modello realistico simile alle immagini reali. L'utilizzo di immagini fantoccio ha permesso inoltre di calcolare opportuni indici di performance (numero di clusters individuati, RMSE, 'Overlapping Area' dei tessuti più importanti come miocardio, fegato e 'blood pool') attraverso i quali può essere caratterizzata l'efficacia del funzionamento dell'algoritmo.

Per ottimizzare il funzionamento dell'algoritmo ciascun parametro critico è stato variato all'interno di un range opportuno mantenendo fissa l'impostazione degli altri parametri critici, e per ogni valore assunto è stato valutato l'andamento dei vari indici di performance. I risultati sono stati mediati per ogni caso su 10 prove, per valutare anche l'eventuale presenza di una componente random dell'algoritmo. Le prove sono state eseguite utilizzando come variabile principale del problema il

valore di T2* del miocardio; nei pazienti che si sottopongono ad imaging RM non sono infatti note a priori le condizioni cliniche, e quindi il valore di T2* del miocardio può assumere valori variabili da frazioni di ms in casi di accumulo severo di ferro fino a valori > 60-65ms in condizioni fisiologiche. Dai risultati ottenuti è stato possibile individuare un legame più o meno evidente tra ciascuno dei parametri critici esaminati ed alcune caratteristiche intrinseche delle immagini analizzate, come ad esempio la dimensione delle immagini e l'entità del rumore presente in esse.

Uno dei primi risultati raggiunti ha dimostrato l'assenza di componenti random interne all' algoritmo ISODATA; ciò implica che, impostando un dato set di parametri, l'algoritmo fornisce sempre gli stessi risultati in uscita. Tra i vari risultati raggiunti, è stata dimostrata l'esistenza di una dimensione minima per il dataset di immagini RM multiecho da impiegare come input per la segmentazione ISODATA, necessaria affinché il funzionamento dell'algoritmo sia ottimale. E' risultato altresì evidente che in alcuni casi l'uso di dataset di dimensioni eccessive rispetto a quella minima possa rivelarsi inefficace o addirittura controproducente nel tentativo di aumentare l'accuratezza della segmentazione. Le immagini relative agli ultimi TE della sequenza sono infatti quelle in cui il segnale di ciascun tessuto è più basso e l'influenza del rumore è dunque maggiore. Tale effetto risulta amplificato per i tessuti con bassi valori di T2*, per i quali il segnale RM decresce molto rapidamente.

E' risultato poi evidente uno stretto legame tra il parametro di 'splitting' e la deviazione standard del rumore applicato sulle immagini. Il parametro di splitting è una soglia massima di deviazione standard intra-cluster, superata la quale il cluster in esame risulta idoneo per essere suddiviso in due nuovi cluster; tale parametro è dunque legato alle fonti di variabilità interne alle immagine analizzate, che sono rappresentate per la maggior parte dal rumore di misura. E' stata quindi dimostrata l'esistenza di un legame tra questo parametro e la deviazione standard del rumore applicato sulle immagini, tenendo conto che il rumore in MRI presenta una distribuzione Rician, differente dal modello usuale di rumore gaussiano. E' stata inoltre dimostrata l'esistenza di un legame tra il parametro relativo alla minima dimensione ammessa per un cluster (espressa in n° di pixels) e le dimensioni dei/delle vari/e tessuti/strutture presenti nelle immagini da segmentare. Aumentando tale parametro a valori superiori alle dimensioni dei vari tessuti, i tessuti in questione non vengono più differenziati e quindi inglobati erroneamente in cluster corrispondenti ad altri tessuti; in alcuni casi invece l'uso di un valore troppo basso di tale parametro porta alla formazione di micro-cluster che non hanno nessuna corrispondenza con la realtà. Poichè la misura delle dimensioni di ciascun tessuto può essere eseguita facilmente sulle immagini 'phantom' ma non su quelle reali, si è potuto generalizzare il concetto legando tale parametro con le

dimensioni delle immagini impiegate.

E' stato possibile successivamente selezionare il range ottimo per ciascun parametro; ciò ha portato alla definizione di un set ottimo di parametri che sono stati ri-applicati al modello per valutare nuovamente gli indici di performance. Sono stati esaminati poi alcuni casi critici, ed in particolare è stata evidenziata la capacità dell' algoritmo di riconoscere il miocardio in ogni caso proposto, avvalendosi anche di algoritmi di labeling per eliminare eventuali quote di pixels spuri appartenenti ad altri tessuti, in particolare fegato e muscolo, che possono venire erroneamente attribuiti al miocardio.

Concluse le prove sul modello, l'algoritmo ISODATA è stato sottoposto ad una serie di prove preliminari su immagini reali, utilizzando un set di 6 immagini 'demo' ottenute da altrettanti pazienti. Le prove preliminari hanno mostrato un buon funzionamento dell'algoritmo anche sulle immagini reali, seppur considerate le numerose fonti di disturbo, la variabilità del segnale e lo scarso contrasto intrinseco nella metodica di acquisizione RM usata. Tali prove hanno inoltre mostrato come l'impostazione ottimale dei parametri ottenuta sul modello possa costituire un punto di partenza per l'applicazione su immagini reali, ma che tale impostazione vada in alcuni casi rivista e modificata per tenere conto della maggiore complessità dei dati reali.

Terminate le prove preliminari sulle immagini reali, l'algoritmo è stato implementato in linguaggio IDL ('Interactive Data Language', versione 8.2), un linguaggio specifico per l'elaborazione di immagini biomediche e in cui è stato scritto anche il software HIPPO-MIOT utilizzato in ambito clinico per la refertazione di immagini GRE-T2* multiecho. E' stato possibile quindi integrare l'algoritmo sviluppato all'interno del software in modo da effettuare un test sperimentale in ambiente clinico. Il lavoro svolto si è concluso con la validazione del metodo di segmentazione automatica implementato, utilizzando come dati le immagini RM di un set di 30 pazienti, già suddivisi in base alla gravità dell'accumulo di ferro cardiaco (severo, moderato, assente). La procedura di validazione è stata effettuata confrontando i risultati ottenuti con la segmentazione automatica del miocardio tramite algoritmo ISODATA con una misura 'gold standard', realizzata mediante tracciamento manuale dei contorni della parete cardiaca; in particolare è stato analizzato il grado di 'overlap' tra la misura automatica e quella manuale. I risultati ottenuti sono stati sottoposti ad opportuni test statistici per evidenziare l'eventuale presenza di differenze significative tra i vari gruppi analizzati; nei casi in cui tale differenza è stata rilevata, sono stati effettuati opportuni confronti per valutare in quale/i gruppo/i risiedesse la differenza riscontrata.

L'analisi statistica realizzata ha dimostrato che non vi è alcuna differenza nel funzionamento dell'algoritmo sulle varie fette in asse corto cardiaco (basale, media

apicale). E' stato dimostrato invece che vi è una differenza nel comportamento dell' algoritmo per le varie classi di accumulo di ferro cardiaco (quindi al variare del $T2^*$ cardiaco nel range di valori clinici). In entrambi i casi le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando un livello di significatività pari al 5% , che rappresenta la soglia di significatività classica impiegata in medicina. Per il caso delle diverse classi di accumulo cardiaco di ferro è stato dimostrato che l'algoritmo funziona meglio su pazienti con accumulo severo di ferro ($T2^* < 10\text{ms}$) rispetto a quelli con accumulo moderato ($10\text{ms} \leq T2^* < 20\text{ms}$) ed a quelli con assenza di accumulo ($T2^* \geq 20\text{ms}$), mentre non vi è differenza significativa tra le classi di accumulo moderato ed assente.

Sono state infine elencate e discusse le principali limitazioni intrinseche della procedura di validazione realizzata e la loro influenza sui risultati ottenuti.

Nel capitolo 1 verrà fornita una breve panoramica riassuntiva su alcuni concetti fondamentali dell'imaging RM, per poi andare a descrivere successivamente le procedure che portano ad ottenere le mappe $T2^*$ a partire dalle immagini RM acquisite. Il capitolo 1 si conclude con una panoramica su svariate tecniche di imaging RM che fanno uso di sequenze $T2^*$ -pesate e sui loro principali ambiti di applicazione clinica.

Nel capitolo 2 verranno descritte tutte le tecniche che permettono una misurazione dell'accumulo di ferro, risaltando i vantaggi forniti dall'imaging RM a discapito delle limitazioni delle altre metodiche; il capitolo si concluderà infine con una descrizione dettagliata del protocollo di acquisizione in RM cardiovascolare (CMR) finalizzato alla valutazione dell'accumulo di ferro in pazienti talassemici, descrivendo in particolare l'acquisizione di immagini RM cardiache per l'analisi $T2^*$.

Nel capitolo 3 verrà descritta brevemente la rete MIOT ('Myocardial Iron Overload in Thalassemia'), una rete sorta in Italia nel 2006 per permettere l'integrazione dei dati provenienti dall'imaging RM con i dati clinici ed anamnestici provenienti dai centri per la talassemia (centri ematologici e/o pediatrici specializzati nella cura di tale malattia). Verrà inoltre descritta la metodica di elaborazione delle immagini RM- $T2^*$ cardiache e, a partire dalle limitazioni di tale metodica, verrà introdotta la ricerca di un algoritmo in grado di segmentare in maniera automatica le immagini RM in esame, ed in particolare la parete cardiaca.

Nel capitolo 4 sarà descritto nel dettaglio l'algoritmo ISODATA, ponendo particolare attenzione sui parametri di input, le operazioni eseguite nei vari steps dell'algoritmo e i risultati forniti in uscita; sarà poi descritta l'implementazione di tale algoritmo realizzata in linguaggio IDL.

Nel capitolo 5 verrà descritto il dataset di immagini 'phantom' creato ed utilizzato come modello delle immagini reali, e verranno descritti gli indici di performance

scelti per valutare l'efficacia di funzionamento dell'algoritmo.

Verrà discussa la scelta del set di parametri di input considerati critici, e saranno in seguito riportati e discussi i risultati ottenuti applicando l'algoritmo sul modello; verranno messi in risalto i legami tra ciascun parametro critico ed alcune caratteristiche delle immagini RM impiegate e la definizione di un range di funzionamento ottimo per ciascuno di tali parametri.

Nel capitolo 6 verranno riportati i risultati delle prove preliminari dell'algoritmo su immagini reali e sarà descritta la procedura di validazione. Saranno infine riportati i risultati ottenuti dalla validazione e sarà discussa l'analisi statistica effettuata su tali risultati.

CAPITOLO 1

Cenni all'imaging RM T2-pesato finalizzato alla valutazione dell'accumulo di ferro in pazienti talassemici.*

1.1 MRI quantitativa

Uno dei limiti fondamentali della risonanza magnetica è dato dal fatto che il valore del segnale RM non è in generale riproducibile, al contrario di quanto avviene ad esempio per la TAC o per l'imaging di medicina nucleare; il segnale dipende infatti da un insieme di numerosi parametri, quali ad esempio (solo per citarne alcuni) il tipo di scanner e di sequenza impiegati. Da un punto di vista clinico questo significa che è impossibile o comunque molto difficile caratterizzare un tessuto attraverso la misura dell'intensità del suo segnale, mentre sarà invece possibile osservare la differenza di segnale tra tessuti diversi. Ad esempio, nel caso di immagini cardiache, sarà possibile rilevare un difetto locale di perfusione miocardica attraverso la differenza di segnale tra l'area ben perfusa e l'area ipoperfusa, mentre un difetto globale di perfusione su tutta la parete cardiaca sarà molto più difficile da identificare. Per superare questo limite sono state sviluppate delle tecniche che consentono di misurare i parametri tissutali intrinseci dell'imaging RM, e cioè la densità protonica (PD) ed i tempi di rilassamento T2, T2* e T1. Le tecniche, che saranno in seguito introdotte e descritte, rappresentano un'operazione di estrazione del segnale RM a partire da una serie di immagini ed il successivo fitting del segnale estratto con opportuni modelli al fine di ricavare un mapping di parametri quantitativi.

Per comprendere a pieno tali tecniche è tuttavia necessario effettuare una breve panoramica su alcuni principi alla base dell'imaging RM. In MRI, in presenza di un campo magnetico statico B_0 , viene applicato un campo a radiofrequenza B_1 che provoca lo spostamento del vettore magnetizzazione M rispetto alla direzione di equilibrio parallela al campo statico. Spento B_1 il vettore magnetizzazione M ritorna nella sua posizione di equilibrio a causa dei fenomeni di rilassamento, dovuti allo scambio di energia di ciascun spin con quelli circostanti e tra gli spin e l'ambiente esterno. Queste interazioni danno origine a 2 tipi di decadimento del vettore M , e vengono chiamate rispettivamente rilassamento "spin-spin" e rilassamento "spin-reticolo" (o "spin-lattice"). Queste 2 tipologie di rilassamento avvengono con costanti di tempo tipiche per ciascun tessuto, definite rispettivamente tempo di rilassamento trasversale (o T2) e tempo di rilassamento longitudinale (o T1).

Il rilassamento spin-reticolo causa il graduale riallineamento dei momenti magnetici dei nuclei con B_0 ; la componente di M parallela a B_0 , ossia la

componente longitudinale M_z , torna al suo valore di equilibrio con il suo tempo caratteristico T_1 . Il valore di T_1 rappresenta l'istante temporale che corrisponde ad un recupero da parte di M_z del suo valore equilibrio M_0 di un fattore $(1-1/e)$, pari cioè a circa il 63% di tale valore di equilibrio (fig1.2).

Il rilassamento spin-spin è causato dalle interazioni dei momenti magnetici nucleari; in seguito all'applicazione dell'impulso RF, che ribalta la magnetizzazione longitudinale sul piano trasverso, la magnetizzazione trasversale M_{xy} raggiunge il suo valore massimo e tutti i protoni si trovano in fase tra loro. Immediatamente dopo la sua formazione, la magnetizzazione trasversa inizia a decrescere in ampiezza a causa del defasamento dei vari protoni. Infatti il campo magnetico a cui ciascun nucleo è sottoposto istantaneamente è dovuto principalmente al campo esterno applicato B_0 ma vi è anche un contributo del campo locale proveniente dai nuclei circostanti; tali interazioni provocano una debole variazione della velocità di precessione di ciascun nucleo (i nuclei non precedono più tutti alla medesima frequenza di Larmor), risultando in una perdita di coerenza di fase complessiva. Di conseguenza, con un tempo caratteristico T_2 , la componente trasversale M_{xy} si riduce a zero. Il valore di T_2 rappresenta l'istante temporale che corrisponde ad un decadimento del segnale di un fattore $1/e$, ovvero a circa il 37% del suo valore massimo (fig 1.1).

E' importante notare che una volta che il vettore M è tornato al suo valore di equilibrio non vi è alcuna possibilità di avere una magnetizzazione trasversa diversa da zero, a meno di applicare nuovamente un impulso RF. Per questo motivo il valore di T_2 è sempre minore o al limite uguale a T_1 .

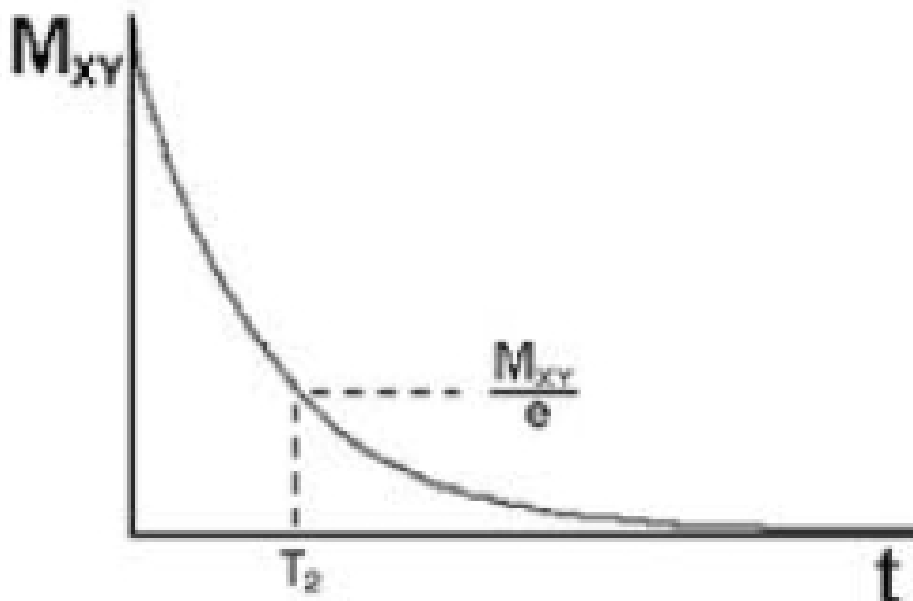


Fig 1.1 Rilassamento T_2

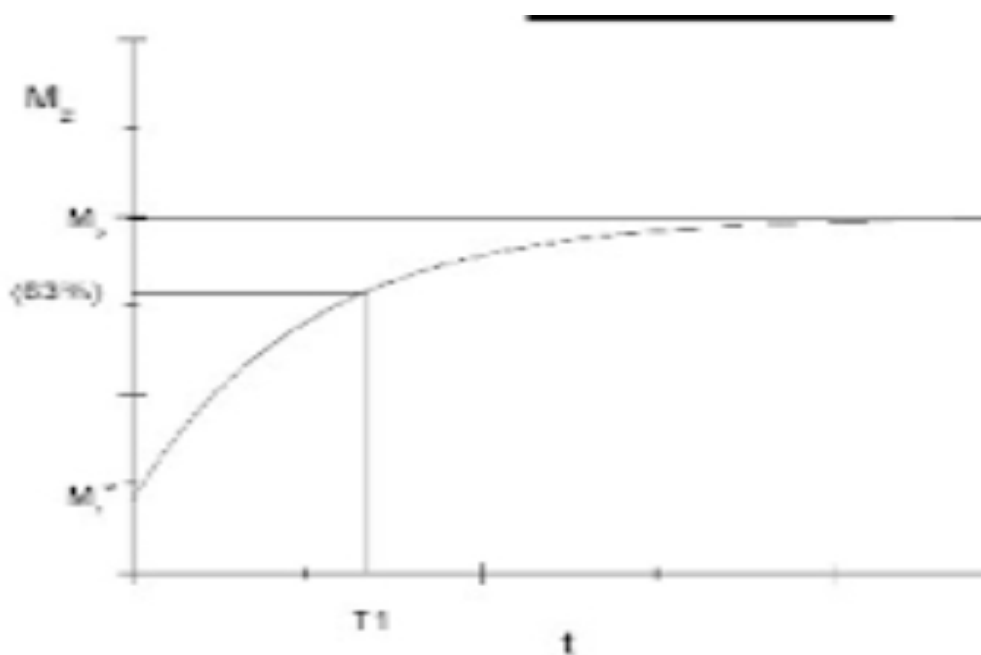


Fig 1.2 Rilassamento T1

Al rilassamento spin-spin si aggiunge poi un'ulteriore fonte di defasamento reversibile provocata da disomogeneità locali nel campo magnetico statico B_0 , e il suo tempo caratteristico viene indicato come $T2^*$ (detto anche tempo di pseudo-rilassamento). Questo fattore supplementare di defasamento deriva da disomogeneità intrinseche del campo magnetico statico, da differenze di suscettività magnetica tra i vari tessuti o materiali, dal chemical shift e dai gradienti applicati per la codifica spaziale.

Questo defasamento può essere eliminato utilizzando un impulso a 180° (detto anche impulso rifocalizzante), come avviene nelle sequenze di tipo Spin-Echo (SE); di conseguenza, in una sequenza SE può essere misurato solo il valore di $T2$ ('true' $T2$). Il tempo di pseudo-rilassamento può essere valutato invece solo con sequenze di tipo Gradient-Echo (GRE), le quali non contengono tale impulso rifocalizzante e dunque non eliminano questi effetti di defasamento.

In conclusione, il rilassamento trasversale valutato con sequenze GRE è una combinazione del rilassamento $T2$ e del rilassamento causato da disomogeneità del campo magnetico. Il valore di $T2^*$ è dunque minore di quello $T2$, e la loro relazione può essere espressa dalla seguente equazione, dove γ rappresenta il rapporto giromagnetico:

$$1 / T2^* = 1 / T2 + \gamma \Delta B_{\text{inhom}}$$

oppure:

$$1 / T2^* = 1 / T2 + 1 / T2'$$

dove $1 / T2' = \gamma \Delta B_{\text{inhom}}$, e ΔB_{inhom} rappresenta la disomogeneità di CM.

In generale quindi il segnale RM sarà dato da :

$$S \propto M(TE) = M_{xy}^0 (1 - \exp(-TR/T1)) \exp(-TE/T2)$$

dove $M(TE)$ e M_{xy}^0 sono rispettivamente la magnetizzazione al tempo di eco (cioè il tempo a cui viene acquisita l'immagine) e quella successiva all'impulso RF, mentre TR è il tempo di ripetizione, ovvero la distanza temporale fra 2 impulsi RF successivi. Variando opportunamente i parametri TR e TE si possono ottenere immagini pesate in T1 o T2. Ad esempio un TE dell'ordine del T2 del tessuto e un TR lungo conduce ad una sequenza T2 pesata (spin-echo, SE) mentre un TR dell'ordine del T1 ed un TE breve conducono ad una sequenza T1 pesata. Per quanto riguarda il decadimento T2*, tale decadimento ha inizio con l'eccitazione RF e progredisce nel tempo. Più lungo è il TE, maggiore sarà la perdita di segnale; quindi, al crescere di TE, la sensibilità della sequenza GRE cresce a causa dell'aumentato defasamento. Con un basso angolo di flip la magnetizzazione trasversa rimane vicina allo stato di equilibrio, indipendentemente dai diversi valori di T1. Un basso angolo di flip (θ) implica che θ sia molto minore dell'angolo di Ernst dell'immagine (cioè $\theta^2 \ll 2TR/T1$); dunque un TR lungo riduce anch'esso gli effetti del T1. Di conseguenza, sequenze GRE possono essere rese T2*-pesate utilizzando bassi valori di flip angle e TE e TR lunghi. Altri fattori che influiscono sono dati dall'intensità del CM statico applicato e dalle dimensioni dei voxel usate.

A seconda della sequenza utilizzata, il segnale RM decadrà quindi nel tempo con costante di tempo T2 nel caso di sequenze spin-echo (SE) e T2* nel caso di sequenze gradient-echo (GRE).

Disomogeneità di campo magnetico causate da differenze di suscettività tra tessuti o materiali diversi provocano un rilassamento T2* più rapido, conducendo a perdite di intensità di segnale in immagini GRE; le disomogeneità possono inoltre causare distorsioni geometriche, portando quindi alla generazione di artefatti [1]. Tali disomogeneità possono essere macroscopiche (ossia inter-voxel) oppure microscopiche (ossia intra-voxel); disomogeneità macroscopiche possono essere causate dalla presenza di deossiemoglobina in piccole vene, dalle interfacce aria-tessuto o da impianti di tipo metallico, mentre quelle microscopiche possono invece derivare da agenti di contrasto paramagnetici e/o depositi di ferro [1]. Utilizzando sequenze T2*-pesate le lesioni, le strutture e/o le aree di defasamento sono mostrate come aree più scure, permettendo dunque la loro rivelazione e classificazione.

1.2.Mapping T2*

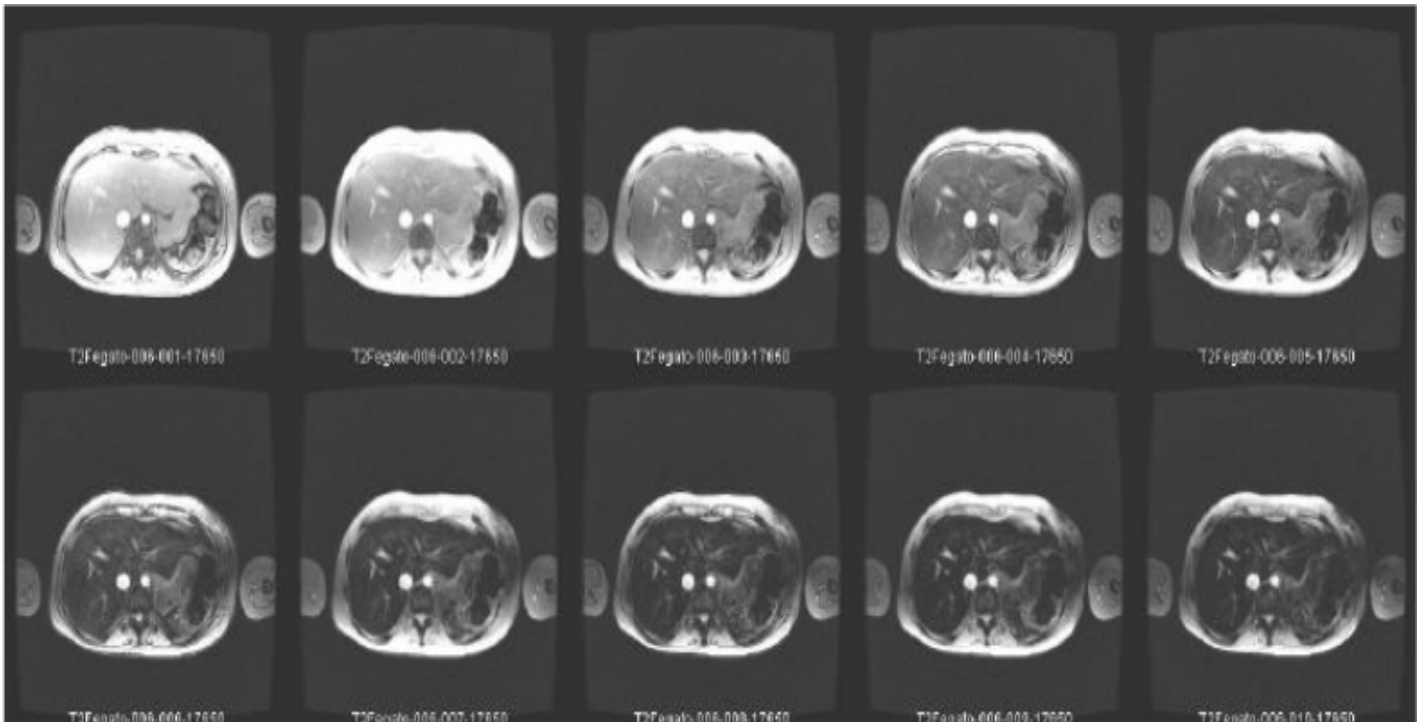


Fig 1.3 Serie di immagini GRE-multiecho epatiche

Nella figura 1.3 possiamo osservare una serie di immagini GRE acquisite a tempi di eco crescenti; come affermato in precedenza, il valore del segnale di ciascun tessuto decresce al crescere del tempo di echo. In particolare, in assenza di rumore o di altri artefatti il valore del segnale dovrebbe decadere come:

$$S = S(0) \cdot e^{-TE \cdot R2^*}$$

dove $R2^*$ è uguale al reciproco di $T2^*$ e rappresenta dunque la velocità di pseudo-rilassamento. L'andamento ideale del decadimento del segnale sarà in realtà corrotto da varie sorgenti di disturbo.

La prima sorgente da considerare è il rumore di misura in MRI, il quale presenta una distribuzione di tipo Riciano; tale rumore deriva dal raddrizzamento del rumore presente nei due canali (fase e quadratura) attraverso i quali il segnale RM viene demodulato. Questi due canali rappresentano rispettivamente la parte reale e quella immaginaria del K-spazio, ed il rumore che si inserisce in tali canali viene modellato solitamente come rumore gaussiano bianco con deviazione standard uguale sui due canali.

Per ricostruire l'immagine a partire dal K-spazio, si calcola la trasformata inversa di Fourier 2-D del K-spazio stesso, ottenendo un'immagine complessa della quale poi si calcola il modulo; la non linearità introdotta dall'operazione di modulo cambia la

distribuzione del rumore che diviene per l'appunto di tipo Riciano. Tale rumore non è più a media nulla né additivo (ma moltiplicativo), e quindi comporterà una variazione casuale del segnale sui campioni acquisiti rispetto al valore teorico e la presenza di un valore non nullo del segnale in tutte le parti dell'immagine. Il segnale non potrà quindi mai raggiungere il valore nullo come nel modello teorico. È importante ricordare che il rumore in MRI può essere approssimato come uguale al rumore gaussiano dei canali di fase e quadratura nelle zone dell'immagine con alto SNR, mentre tale assunzione non è valida in regioni a basso SNR, come ad esempio lo sfondo dell'immagine. Per questo motivo la SD del rumore misurata sul background dell'immagine deve essere moltiplicata per un opportuno fattore correttivo (pari a 1.526 per il caso di bobine a singolo canale) per ottenerne una stima corretta.

Inoltre il segnale del singolo pixel risulterà in generale dal segnale di una regione di spazio compenetrata da diversi tessuti. Ad esempio nel tessuto miocardico avremo la compresenza di tessuto muscolare e di sangue nella microvascolatura (sangue ossigenato nel caso di acquisizione in fase diastolica).

Il modello corretto del segnale sarebbe quindi dato da una somma di esponenziali decrescenti (uno per ogni tessuto), caratterizzati da diversi valori di $T2^*$.

L'offset sul segnale causato dalla presenza di 'specie' con rilassamento più lento (ad esempio il sangue ossigenato) può essere tenuto in considerazione utilizzando un modello di decadimento del segnale bi-esponenziale, utilizzando un esponenziale per il tessuto in esame ed un altro per tenere conto di tutti i tessuti con rilassamento lento; tale modello è stato utilizzato con successo in studi sul fegato, anche se sono stati adottati in seguito modelli ulteriormente semplificati.

Infine, nelle immagini multiecho è presente un'oscillazione indotta di periodo noto, sovrapposta al decadimento del segnale, causata dal fenomeno del 'chemical shift' tra tessuti con tempi di rilassamento diversi. L'oscillazione prevalente è indotta dall'interfaccia grasso-acqua ed è caratterizzata ad 1.5T da un periodo di circa 4.6ms.

Altri effetti di disturbo possono essere causati dal fatto che le immagini multiecho possono non essere perfettamente allineate a causa di artefatti di movimento/respirazione o da un non corretto sincrono con il segnale ECG nel caso di acquisizioni cardiache. Le immagini GRE multiecho cardiache sono quindi acquisite in "breath-hold" ed in fase telediastolica, cioè in una fase stabile del ciclo cardiaco nella quale il miocardio è rilassato, individuata attraverso un corretto triggering con il segnale ECG.

Un modello matematico che tenga conto di tutte le possibili sorgenti di disturbo sarebbe quindi assai complesso e di difficile gestione, dovendo comprendere un numero elevato di parametri incogniti.

Nella pratica clinica si fanno quindi una serie di assunzioni semplificative che consentono l'uso di modelli semplificati:

- il rumore viene considerato costante su tutti i campioni e a media non nulla;
- il rilassamento di altri tessuti diversi da quello in esame viene considerato avvenire con un tempo molto più lungo rispetto all'intervallo di campionamento del segnale, e viene quindi approssimato con un valore costante (ad esempio questa ipotesi è di solito verificata nel caso di sangue ossigenato che ha un valore $T2^* > 200$ ms) ;
- L'oscillazione indotta dal chemical shift viene compensata attraverso la scelta di un' intervallo opportuno tra gli echi (circa 2.3 ms) che consenta di avere le oscillazioni in fase e controfase rispetto all'andamento teorico. Non è quindi necessario introdurla nel modello.

Con queste ipotesi significative il modello matematico del decadimento sarà quindi:

$$S = S(0) \cdot e^{-TE \cdot R2^*} + C$$

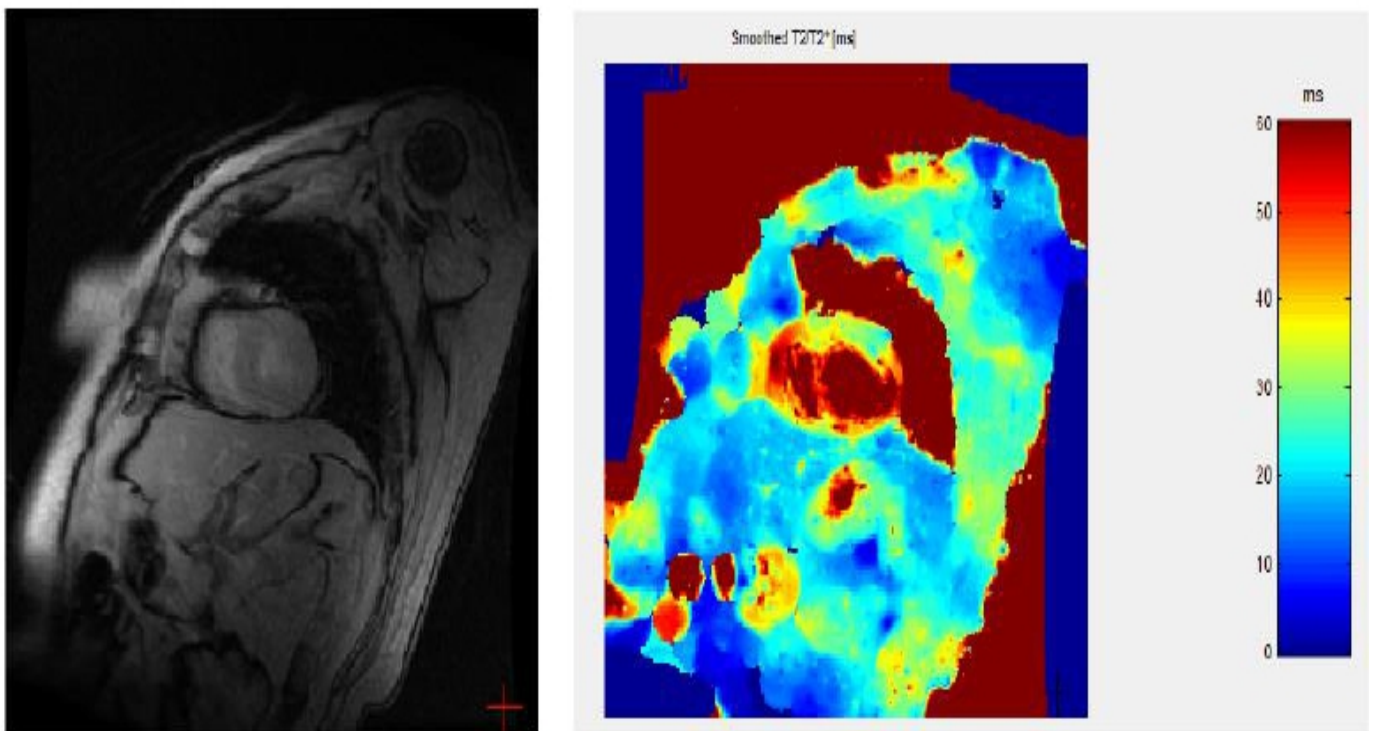
Tale relazione vale per ogni pixel dell'immagine, cioè ogni pixel sarà caratterizzato da un coefficiente di rilassamento $R2^*$ ($1/T2^*$), che è quello che ci interessa determinare, da un valore di segnale teorico $S(0)$ relativo al primo TE e da un valore C che rappresenta il plateau del segnale indotto dagli elementi di disturbo prima elencati. Essendo il modello di decadimento semplificato rispetto alla realtà fisica, esso rappresenterà solo un'approssimazione dell'andamento reale del segnale. In queste condizioni sarà impossibile risolvere il problema per via analitica, ma si procederà utilizzando un algoritmo di fitting. L'idea generale di un algoritmo di fitting è quella di definire un modello del segnale (in questo caso il modello è l'equazione precedente) e trovare successivamente mediante un algoritmo di ottimizzazione la tripletta di parametri (S_0 , $R2^*$, C) che minimizzino la differenza tra il modello e i dati. L'algoritmo di fitting richiede quindi sostanzialmente tre passi:

1. La definizione di un modello dei dati;
2. La definizione di una funzione distanza tra il modello e i dati;
3. La definizione di una procedura di ottimizzazione che trovi il set di parametri che minimizzi la distanza definita al passo precedente.

Per quanto riguarda la distanza, tipicamente si considera l'errore quadratico medio tra il modello e i dati. Senza approfondire i numerosi algoritmi ottimizzazione possibili, è importante notare che i metodi di ottimizzazione usati correntemente sono metodi locali, cioè che assicurano la convergenza solo in presenza di una stima iniziale ragionevole dei parametri. E' quindi fondamentale inizializzare l'algoritmo di fitting con una buona stima; in questo caso un'inizializzazione ragionevole dei parametri potrebbe essere:

- S_0 = valore del campione al primo TE;
- T_2^* = valore tipico di T_2^* per il tessuto che ci interessa;
- C = valore del segnale sul fondo dell'immagine.

Se si ripete l'operazione di fitting per tutti i pixel dell'immagine si può creare una immagine derivata in cui su ogni pixel viene scritto il valore del parametro R_2^* , ottenendo dunque la mappa R_2^* (o T_2^*) dell'immagine (figura 1.4).



*Fig 1.4 Esempio di mappa T_2^**

Alla mappa T_2^* deve essere sempre associata una mappa dell'errore di fitting commesso nella valutazione dei parametri ottimi del modello, come riportato in figura 1.5.

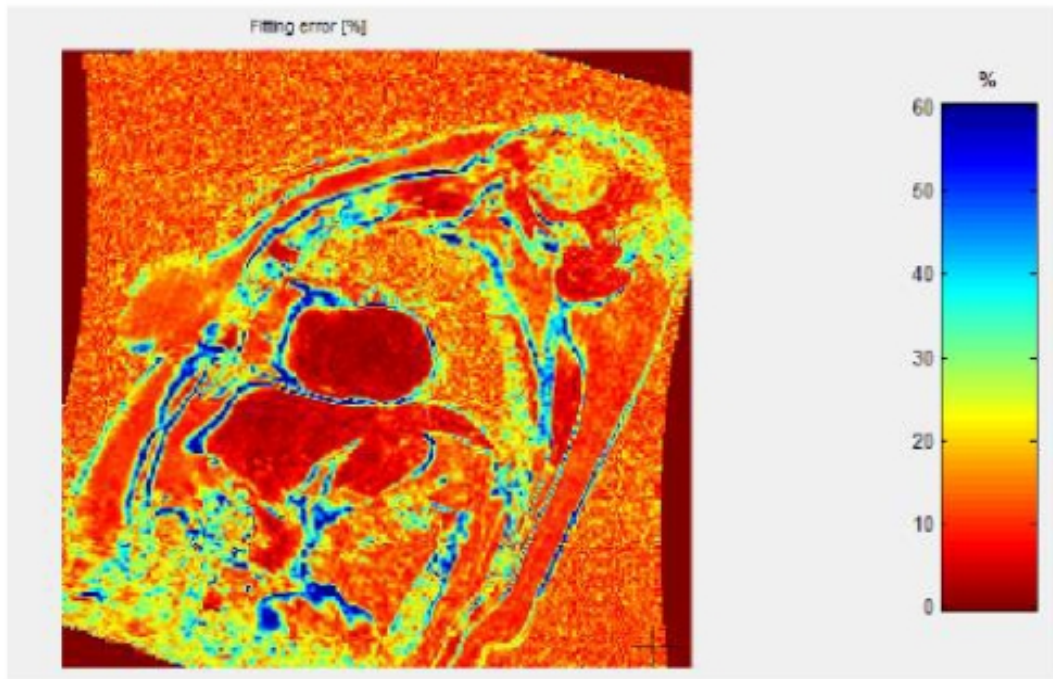


Fig 1.5 Mappa dell'errore di fitting

L'errore di fitting si calcola di solito come errore quadratico medio tra i valori di segnale misurati ed i valori che assume il modello in corrispondenza di tali campioni, e spesso viene espresso in percentuale rispetto al valore del segnale.

La mappa dell'errore di fitting ha l'importante funzione di comunicare l'affidabilità della misura di $T2^*$ effettuata. Infine, una mappa $T2^*$ può essere efficacemente visualizzata a falsi colori, purché vi venga associata la colormap corrispondente.

Per migliorare la qualità delle mappe $T2$ o $T2^*$ è possibile utilizzare, invece che il singolo pixel, una regione di spazio maggiore, ad esempio una regione 3×3 centrata sul pixel stesso. In questo modo la curva di decadimento risultante verrà ricavata da campioni ottenuti come media dei valori di segnale dell'immagine a quel tempo di eco nella regione di interesse, con conseguente diminuzione del rumore e miglioramento della curva su cui si effettua il fitting. Si ottiene per contro uno 'smoothing' della mappa a causa dell'operazione di media, che può comunque essere positivo dal punto di vista della qualità di visualizzazione.

Se quello che interessa non è ottenere una mappa ma eseguire una serie di misure $T2^*$ in determinate regioni dell'immagine, si può estremizzare il concetto definendo una ROI ('Region Of Interest') che comprenda la zona di interesse ed estraendo ad ogni TE il valore medio del segnale sulla ROI. Si ottiene in questo modo una curva di decadimento unica per la ROI in esame. Questa procedura consente di ottenere un processo di fitting più rapido e controllabile rispetto al tracciamento della medesima ROI sulla mappa $T2^*$ e il calcolo del valore di $T2^*$ su tale ROI.

1.3 Applicazioni cliniche

Le sequenze T2*-pesate vengono utilizzate per identificare la deossiemoglobina paramagnetica, la metaemoglobina o l'emosiderina all'interno di lesioni e tessuti. Tali sequenze possono rivelare numerose condizioni patologiche, come ad esempio emorragia cerebrale, ictus ischemico, malformazioni artero-venose ed occlusioni, cavernoma ed emorragie all'interno di tessuti tumorali e molte altre.

Dall'imaging T2*-pesato deriva l'imaging SW ('Susceptibility-Weighted') il quale sfrutta le informazioni di fase nelle immagini GRE (non solo quelle date usualmente dal modulo) per evidenziare le differenze di suscettività magnetica nel sangue, nei depositi di ferro e nelle calcificazioni in vari tessuti [1].

Lo 'shift' di fase presente nelle immagini GRE rappresenta una media del campo magnetico dei protoni all'interno di un voxel, il quale dipende dalla suscettività locale dei tessuti presenti in tale volume elementare.

Sostanze paramagnetiche come la deossiemoglobina, l'emosiderina e la ferritina aumentano il CM locale, risultando in uno shift di fase positivo rispetto all'ambiente circostante, mentre sostanze diamagnetiche come il calcio diminuiscono il CM locale portando ad uno shift negativo.[2,3,4]. Le immagini di fase sono dunque sensibili alle variazioni di CM indotte da tali componenti, e possono essere quindi usate per caratterizzare le differenze di suscettività fra i vari tessuti.

Un altro campo di applicazione riguarda l'imaging RM di perfusione (PWI); tale modalità di imaging evidenzia le variazioni di segnale che si verificano con il passaggio di un tracciante, come ad esempio il 'gadopentetate dimeglumine' [5]. Quando l'agente di contrasto 'gadolinium-based' passa con elevata concentrazione attraverso la microvascolatura, esso provoca rilassamenti T2/T2* indotti da differenze di suscettività rispetto ai tessuti circostanti, che vengono visti come perdite di intensità di segnale. La decrescita del segnale è assunta linearmente proporzionale alla concentrazione del tracciante, e le variazioni di intensità sono collegate in modo quantitativo con la concentrazioni locali del tracciante e convertite in curve tempo-concentrazione [6].

Applicando le leggi sulla cinetica dei traccianti a tali curve si possono ricavare molti indici clinici di notevole importanza, come ad esempio il volume di sangue cerebrale (CBV) e il flusso sanguigno cerebrale (CBF). Uno dei campi principali di applicazione dell'imaging di perfusione riguarda la diagnosi di molti tumori e il monitoraggio della loro crescita, i quali dipendono principalmente dall'angiogenesi, che può essere facilmente rilevata da tale modalità di imaging.

Vi è poi la risonanza magnetica funzionale (fMRI), che pone le sue basi sulle differenze di suscettività magnetica fra ossiemoglobina (diamagnetica) e deossiemoglobina (paramagnetica).

La deossiemoglobina causa una riduzione di segnale, creando gradienti di campo magnetico microscopici all'interno ed attorno ai vasi sanguigni[7].

La stimolazione di aree cerebrali attraverso paradigmi che il paziente deve eseguire, come ad esempio un'attività motoria (un 'task' classico è il cosiddetto 'finger tapping') o uno stimolo uditivo, aumenta il flusso sanguigno nella/e regione/i attivata/e [8]. Poichè il sangue che affluisce a tali regioni risulta maggiormente ossigenato, vi è un diminuzione di deossiemoglobina locale e un aumento locale del segnale RM; tale fenomeno è detto effetto BOLD ('Blood Oxygenation Level Dependent') [7].

L'effetto base della deossiemoglobina è quello di causare microspiche variazioni di campo dentro e fuori dai vasi, le quali portano ad una riduzione del T2*; di conseguenza, con l'effetto BOLD, la situazione finale è data da una crescita locale del T2* causata da una diminuzione della deossiemoglobina stessa.

Tali variazioni di intensità di segnale dovute al livello di ossigenazione sanguigna sono rilevate tramite sequenze GRE 'fast', come ad esempio l'echo-planar imaging, e sono utilizzate per rilevare le aree del cervello deputate al controllo di una particolare attività o sensazione.

Un'applicazione clinica attualmente di grande interesse e di notevole importanza per l'imaging T2*, ed oggetto principale di discussione in questa tesi, è la valutazione quantitativa dell'accumulo di ferro multiorgano in pazienti affetti da emocromatosi primaria o secondaria; nel secondo caso tale condizione patologica è causata dalla talassemia.

CAPITOLO 2

Talassemia ed accumulo di ferro nei vari organi

2.1. Talassemie: cause e sintomi

Le talassemie sono un gruppo di disturbi genetici provocati dall'alterazione della sintesi dei componenti dell'emoglobina (Hb), proteina contenuta nei globuli rossi che cattura l'ossigeno dai polmoni e lo trasporta nei diversi tessuti e, viceversa, raccoglie l'anidride carbonica prodotta nei tessuti e la trasporta ai polmoni, dove viene eliminata. Esse sono dunque malattie a base genetica caratterizzate da un trasporto difettoso dell'ossigeno da parte dei globuli rossi ; sono diffuse prevalentemente tra le popolazioni di origine mediterranea, africana e asiatica, abitanti una fascia tropicale e sub-tropicale estesa dal Mediterraneo al Sud-Est Asiatico.

L'emoglobina è una proteina con struttura quaternaria, costituita da 4 catene proteiche più piccole (dette subunità o globine). Negli adulti ogni molecola di emoglobina, denominata HbA, contiene due subunità di tipo α e due subunità di tipo β , mentre nel feto è presente un'altra emoglobina, l'HbF, formata da due subunità α e da due subunità chiamate γ . I geni di queste catene proteiche si trovano su due cromosomi diversi: sul cromosoma 16 troviamo quattro geni α , mentre i due geni β si trovano sul cromosoma 11; sempre sul cromosoma 11 troviamo altri geni globinici , fra cui due geni δ che producono le δ -globine. Proprio in base alle alterazioni che colpiscono i diversi geni globinici, si riconoscono tre tipi di talassemia: l' α -talassemia, nella quale viene a mancare la produzione di α -globina, la β -talassemia, nella quale il difetto riguarda la produzione di β -globina e la δ -talassemia.

Sulla base della severità invece, la α e la β - talassemia vengono classificate in linea generale in 3 tipologie:

1. talassemia major;
2. talassemia intermedia;
3. talassemia minor.

I pazienti affetti da talassemia major soffrono di anemia severa e richiedono continue trasfusioni di sangue, le quali portano ad un sovraccarico di ferro in svariati organi.

2.2 Le complicanze

Negli ultimi vent'anni il trattamento della talassemia major è migliorato in modo evidente, provocando un netto incremento dei tassi di sopravvivenza e un miglioramento nella qualità della vita dei malati, soprattutto di quelli che vivono nei paesi industrializzati. Ciò nonostante i pazienti continuano a dover fare i conti con una serie di complicanze, alcune delle quali dovute alla malattia stessa, altre invece alla terapia trasfusionale e al conseguente accumulo di ferro in circolo e negli organi.

2.2.1 Cuore

E' stato stimato che circa i due terzi dei decessi in pazienti affetti da β -talassemia major siano dovuti a complicanze cardiache [9]; la maggiore deposizione di ferro si verifica nel sistema ventricolare e nello strato epicardiale, mentre negli atri e nel sistema di conduzione l'accumulo è minore. In generale, la gravità dei danni al cuore dipende dalla quantità di ferro depositata nelle singole fibre miocardiche e dal numero di fibre coinvolte. Se l'accumulo riguarda una grande proporzione di fibre miocardiche il paziente può andare incontro a significativi problemi cardiaci. Al contrario, se l'accumulo di ferro è soprattutto limitato alle aree perinucleari con poche fibre coinvolte, il paziente è di solito solo lievemente compromesso.

Il difetto cardiaco più comune provocato dal sovraccarico di ferro è la cardiomiopatia congestizia, causa di scompenso cardiaco.

Altri possibili problemi comprendono la pericardite (l'infiammazione della membrana che racchiude il cuore), la cardiomiopatia restrittiva (cioè un cuore privo di elasticità che non si contrae né si espande normalmente) e l'angina (dolore toracico provocato da un'ossigenazione insufficiente del tessuto cardiaco).

In questi casi, se non si interviene con un'adeguata terapia, la prognosi è infausta, mentre migliora se viene adottata una terapia appropriata. Tuttavia, in seguito a quanto osservato in molti pazienti talassemici, sembrerebbe che, anche in stato avanzato, la cardiomiopatia sia reversibile se un idoneo trattamento viene iniziato subito. Sfortunatamente la diagnosi arriva spesso troppo tardi a causa della imprevedibilità della deposizione di ferro cardiaco e al fatto che i sintomi e le alterazioni visibili con un'ecocardiografia si sviluppano in ritardo; in più, il passaggio da una lieve alterazione alla completa compromissione cardiaca è spesso molto rapido.

Il cuore dunque rappresenta, insieme al fegato, uno degli organi maggiormente colpiti dall'accumulo di ferro nei pazienti talassemici; le conseguenze di tale accumulo, unite ad altre complicazioni, risultano tra le più gravi e mortali; è dunque necessaria una corretta valutazione dei depositi di ferro cardiaci al fine di istituire in tempo opportuno un'efficace terapia.

2.2.2 Fegato

Le complicanze epatiche possono essere dovute ad infezioni causate da agenti virali quali il virus C o il virus B, responsabili di forme di epatite sia acuta sia cronica. Gli stati infiammatori determinati da queste infezioni possono causare alterazioni al tessuto epatico che, se non curate, possono portare con il tempo alla sostituzione delle cellule del fegato con tessuto cicatriziale (fibrosi, cirrosi).

Essendo inoltre il fegato la principale sede di deposito del ferro introdotto con le trasfusioni, molte complicanze epatiche, tra cui fibrosi e cirrosi, possono essere diretta conseguenza di questo sovraccarico; poiché infatti il ferro organico viene immagazzinato soprattutto nelle cellule parenchimali del fegato, quest'ultimo è uno degli organi più colpiti dal sovraccarico di ferro.

2.2.3 Sistema endocrino

Il sovraccarico di ferro esercita diversi effetti su numerosi organi endocrini, tra cui pancreas, ipofisi, tiroide e paratiroidi, testicoli nei maschi ed ovaie nelle femmine. Queste ghiandole, responsabili della produzione e secrezione di ormoni, sono molto sensibili agli effetti tossici del ferro in eccesso, che ne impedisce la corretta funzione.

Per questo, le complicanze endocrinologiche sono un problema molto comune tra i talassemici, anche in coloro che cominciano presto un'appropriata terapia chelante: uno studio recente su pazienti con β -talassemia major ha dimostrato che circa il 41% di essi ha almeno una complicanza correlata al sistema endocrino [9]. Circa il 30-50% dei pazienti con talassemia major ha problemi di crescita dovuti a un deficit dell'ormone della crescita (pituitario e/o ipotalamico), un'insufficiente sintesi epatica del fattore di crescita simil-insulina, anemia cronica ed ipersplenismo [9].

In più, la deposizione di ferro nelle cellule pancreatiche interstiziali può causare deposizione di collagene in eccesso e microcircolazione insufficiente, con conseguente deficit di insulina e sviluppo di diabete mellito.

2.2.4 Osteoporosi

Nei malati di talassemia si può verificare anche un'alta incidenza di osteoporosi della colonna vertebrale e dell'anca in entrambi i sessi, dunque una riduzione della massa e della solidità ossea e un conseguente maggior rischio di fratture, che aumenta ulteriormente con l'età. La fragilità ossea, problema comune nei pazienti talassemici, è il risultato di diversi fattori: anemia, iperattività del midollo osseo, una dieta povera di calcio, fattori genetici, ma anche ipogonadismo (deficit di ormoni sessuali) e altri problemi endocrini legati al sovraccarico di ferro.

2.2.5 Ipersplenismo

Con questo termine si indica una delle complicanze più diffuse della malattia, cioè l'ingrossamento e l'iperfunzionamento della milza. Quando ha dimensioni normali, quest'organo – la cui funzione è quella di filtrare dal sangue i microrganismi nocivi ed eliminare i globuli rossi alla fine del loro ciclo vitale – contiene dai 20 ai 30 millilitri di globuli rossi.

Nei pazienti con anemia persistente, moderata o grave, la milza può arrivare a contenere circa un litro di sangue; questo accade perché, nel tentativo di superare la condizione di anemia, la milza comincia a produrre globuli rossi in eccesso secondo un processo chiamato eritropoiesi extramidollare (cioè al di fuori del normale sito di produzione, che è il midollo osseo).

La conseguenza di questa iperattività della milza è il suo ingrossamento, fino a dilatare l'addome, e la distruzione dei globuli rossi che il paziente riceve attraverso le trasfusioni; tale condizione può portare, in casi estremi, all'asportazione della milza stessa.

Altre complicanze dovute alla talassemia sono rappresentate da problemi ai muscoli scheletrici, iperpigmentazione, ipertensione polmonare, trombofilia, mentre negli ultimi anni sono stati condotti studi contrastanti per valutare l'incidenza del sovraccarico di ferro sulla funzionalità renale[9].

2.3 La terapia

La terapia della talassemia dipende dal tipo e dalla gravità della malattia.

Per la talassemia major la cura definitiva consiste nel trapianto di midollo osseo.

Il trapianto di midollo osseo rappresenta ad oggi l'unica possibilità di curare e guarire definitivamente la talassemia; l'obiettivo è quello di sostituire le cellule staminali portatrici dei geni difettosi per la sintesi dell'emoglobina con cellule staminali normali, e ciò può portare a completa guarigione. L'accessibilità a questo tipo di terapia risolutiva è limitata dalla necessità di reperire un donatore compatibile e dalle condizioni di salute del paziente stesso, che devono essere tali da consentirgli di affrontare un percorso di terapie piuttosto tossiche.

Si tratta, quindi, di un intervento che comporta anche dei rischi: può essere associato a diverse complicanze ed ha un tasso di mortalità di circa il 5% [9].

Tra le complicanze acute ci sono il rigetto del trapianto, la reazione immunitaria del trapianto contro l'ospite, le infezioni, le tossicità d'organo causate dal regime di condizionamento pre-trapianto e di immunosoppressione successiva e, se il trapianto non ha un esito positivo, la ricomparsa della talassemia.

Le complicanze tardive possono invece consistere in una reazione immunitaria cronica del trapianto contro l'ospite, una crescita insufficiente, un'insufficienza gonadica, una pancitopenia prolungata (cioè la conta ridotta di tutti gli elementi

cellulari del sangue) dovuta agli agenti immunosoppressori utilizzati per il trapianto, ed un aumentato rischio di neoplasie maligne.

Per tutti i pazienti che non possono sottoporsi a questa procedura la cura consiste nella terapia trasfusionale ad intervalli regolari, seguita da una terapia ferrochelante. Gli individui portatori (cioè che hanno tratti talassemici ma non hanno sintomi) in genere non hanno bisogno di trattamenti particolari.

I soggetti con le forme più gravi di talassemia devono sottoporsi regolarmente alle trasfusioni e alle terapie chelanti che, se correttamente eseguite, consentono oggi una sopravvivenza illimitata (cosiddetta prognosi aperta delle emoglobinopatie).

Generalmente la terapia trasfusionale viene avviata quando si ha conferma della diagnosi di talassemia (esami di laboratorio e molecolari) in presenza di un quadro di anemia severa (Hb inferiore a 7 g/dl) oppure con valori di emoglobina maggiori o uguali a 7 g/dl, in presenza di alterazioni facciali, ritardo nell'accrescimento, fratture ossee ed importante attività di ematopoiesi extra-midollare.

I regimi trasfusionali attualmente in uso prevedono di mantenere una Hb pre-trasfusionale compresa tra 9 e 10,5 g/dl ed una post-trasfusionale mai superiore a 14 g/dl; la frequenza nei pazienti che non hanno ipersplenismo, in genere, è di una trasfusione ogni 3-4 settimane. La quantità di sangue che deve essere trasfusa, la frequenza di tali trasfusioni e la loro durata sono tutti parametri che dipendono da numerosi fattori, variabili da paziente a paziente.

Come già detto più volte in precedenza, una delle più gravi conseguenze della terapia trasfusionale è il sovraccarico di ferro in vari organi ed i conseguenti effetti lesivi. Poiché l'uomo non possiede un meccanismo di rimozione del ferro in eccesso, è necessario prima di tutto ottenere una stima quantitativa attendibile del sovraccarico di ferro nei vari organi ed in seguito istituire una terapia opportuna per rimuovere tali eccessi e prevenire le situazioni patologiche che ne derivano.

2.3.1 La terapia chelante

La terapia chelante consiste nell'impiego di farmaci che siano in grado di legarsi con il ferro presente nell'organismo per formare quello che viene definito un chelato. Grazie a questo processo il metallo perde il suo effetto tossico o la sua attività fisiologica e viene eliminato più facilmente dall'organismo. In generale, questa terapia è riservata alle forme di sovraccarico del ferro nelle quali la flebotomia (ossia il prelievo di sangue da una vena) non è in grado di mobilizzare adeguatamente i depositi di ferro o non può essere tollerata a causa della presenza di anemia severa. Questa condizione si verifica in tutti i pazienti con talassemia major per i quali la terapia chelante è quindi una terapia salvavita. L'obiettivo principale di una terapia chelante è quello di legare il ferro e di

rimuoverlo dall'organismo ad un tasso che sia uguale (terapia di mantenimento) o superiore (terapia di riduzione) al tasso di ingresso del ferro attraverso le trasfusioni.

Questo presuppone una terapia che consenta quindi una flessibilità di dosaggio; grazie ai farmaci chelanti l'aspettativa di vita dei malati è notevolmente migliorata, ma purtroppo l'uso prolungato di farmaci chelanti comporta una serie di controindicazioni anche gravi. E' quindi necessario utilizzare metodiche che consentano di misurare efficacemente l'accumulo di ferro nei vari organi in modo da poter adattare la dose di chelante alle condizioni del paziente, limitando il più possibile le controindicazioni e gli effetti tossici dei farmaci ma garantendo allo stesso tempo l'efficacia della terapia.

2.4 Misurazione dei livelli di ferro.

Per valutare il carico di ferro corporeo sono disponibili diversi metodi. Poiché la maggior parte del ferro in eccesso si deposita nel fegato, le tecniche più diffuse misurano i livelli di ferro epatico (LIC, 'Liver Iron Concentration') e li interpretano come valori accurati della concentrazione in tutto l'organismo.

2.4.1 Monitoraggio della ferritina sierica

Un altro metodo consiste nella valutazione della ferritina sierica. La ferritina è una molecola che immagazzina ferro quando non deve essere utilizzato; in teoria, dunque, quando aumenta il ferro corporeo, aumenta anche la produzione di ferritina, e di conseguenza in condizioni normali la ferritina circolante (ematica) dovrebbe riflettere i livelli dei depositi di ferro organico.

In realtà, poiché la ferritina intracellulare non può essere misurata direttamente, si misura solo la ferritina ematica, attraverso una metodica non invasiva e di facile impiego (il kit è disponibile in commercio), che consente di monitorare i livelli con una certa frequenza. Tuttavia, i risultati possono essere influenzati da diversi fattori, il che consente di affermare che tale misura, soprattutto se isolata nel tempo, sia scarsamente correlata con il reale accumulo di ferro negli organi, specialmente a livello cardiaco.

2.4.2 Biopsia epatica

Storicamente il 'gold standard' di riferimento è rappresentato dalla biopsia epatica, cioè dal prelievo di una piccola quantità di fegato. Si tratta di una metodologia invasiva con rischio associato di sanguinamento e dolore, ma in genere fornisce misurazioni attendibili.

Tuttavia i limiti di questa metodica dipendono dalla bontà del campione prelevato, che deve essere quantitativamente adeguato e qualitativamente rappresentativo di

tutto l'organo. Il risultato diventa meno attendibile se il fegato non ha una distribuzione omogenea del ferro (es. fegato cirrotico o fibrotico) e se il campione prelevato è di dimensioni scarse.

2.4.3 Suscettometria biomagnetica tramite SQUID

Si tratta di un metodo sperimentale di misurazione dei livelli di ferro, ancora poco diffuso a causa dei suoi alti costi. Lo SQUID (ovvero 'Superconducting Quantum Interference Device', acronimo di 'dispositivo superconduttore ad interferenza quantistica') è uno strumento in grado di misurare variazioni molto piccole di flusso magnetico, come quelle provocate dal ferro immagazzinato sotto forma di ferritina nell'organismo. La sua elevatissima sensibilità e la non invasività ne fanno uno strumento molto promettente, anche se il limite principale è dato dalla ridotta disponibilità della strumentazione (1 solo in Italia, 4 in tutto il mondo) [9].

2.4.4 LPI/NTBI

Per arrivare ai diversi compartimenti di deposito e/o utilizzo il ferro circola legato ad un trasportatore specifico che si chiama transferrina; quando, in seguito a ripetute trasfusioni, vi è un'eccessiva presenza di ferro, anche il suo trasportatore fisiologico si satura e si forma una quota di ferro libero (NTBI e LPI), disponibile a partecipare alle reazioni di ossidoriduzione con formazione di radicali liberi altamente reattivi, responsabili del danno cellulare.

E' pertanto molto importante controllare i livelli di questo parametro e impostare una terapia ferrochelante in grado di proteggere dall'azione tossica del ferro libero circolante (NTBI) ed intracellulare (LPI). Per misurare questo ferro libero è sufficiente un prelievo di sangue come per il dosaggio della ferritinemia e di altri parametri ematici. Esistono poi alcune metodiche di laboratorio specifiche per dosare su questi campioni sia il ferro libero NTBI sia LPI. Il limite attuale è dato dalla scarsa disponibilità di laboratori in grado di eseguire tali determinazioni.

2.4.5 Risonanza magnetica per immagini (MRI)

L'imaging di risonanza magnetica è una tecnica non invasiva estremamente sensibile nel valutare la concentrazione e la distribuzione del ferro in tutto l'organismo, dunque non solo nel fegato ma anche in altri organi, in particolare il cuore. La biopsia epatica, come precedentemente menzionato, è stata considerata storicamente il 'gold standard' per la valutazione dell'accumulo di ferro nell'organismo, ma rappresenta una metodica invasiva, poco ripetibile e difficilmente estensibile al caso cardiaco; negli ultimi anni tale punto riferimento è stato insidiato e scalzato dalla MRI, che rappresenta ad oggi l'unica tecnica in grado di valutare quantitativamente e in modo non invasivo il carico di ferro

epatico, cardiaco e in altri distretti (ad esempio il pancreas).

La MRI-T2* permette a livello epatico la determinazione della LIC ('Liver Iron Concentration') sulla base dei valori di T2*/R2*; la figura 2.1 mostra le curve di calibrazione che consentono di ottenere il valore della concentrazione di ferro in base al valore di R2 (1/T2) e R2* (1/T2*). Le curve sono ottenute confrontando il valore di R2/R2* ottenuto in un paziente con il valore della LIC misurato nello stesso paziente tramite biopsia epatica. Curve simili possono essere ricavate per altri organi, anche se con maggiore difficoltà. E' comunque generalmente accettato che esista un correlazione lineare tra accumulo di ferro e R2*, per cui il valore di R2* può essere usato come misura dell'accumulo nei pazienti con emocromatosi.

La misura di R2*/T2* si effettua attraverso sequenza GRE- multi-echo, come illustrato in precedenza; riassumendo, tale metodica sfrutta il fatto che composti paramagnetici come il ferro provocano della variazioni nella suscettività magnetica, portando in ultima analisi ad una riduzione del tempo di rilassamento T2*. Tali misure possono essere effettuate sui singoli pixel di un'immagine oppure utilizzando un approccio segmentale e multislices (modello del cuore a 16 segmenti proposto dall' American Heart Association, AHA)

Ci concentreremo ora sulle modalità tipiche di acquisizione in risonanza magnetica cardiovascolare (CMR) e sulle procedure di analisi delle immagini utilizzate per la diagnosi clinica in pazienti con possibile accumulo di ferro miocardico ed in altri distretti.

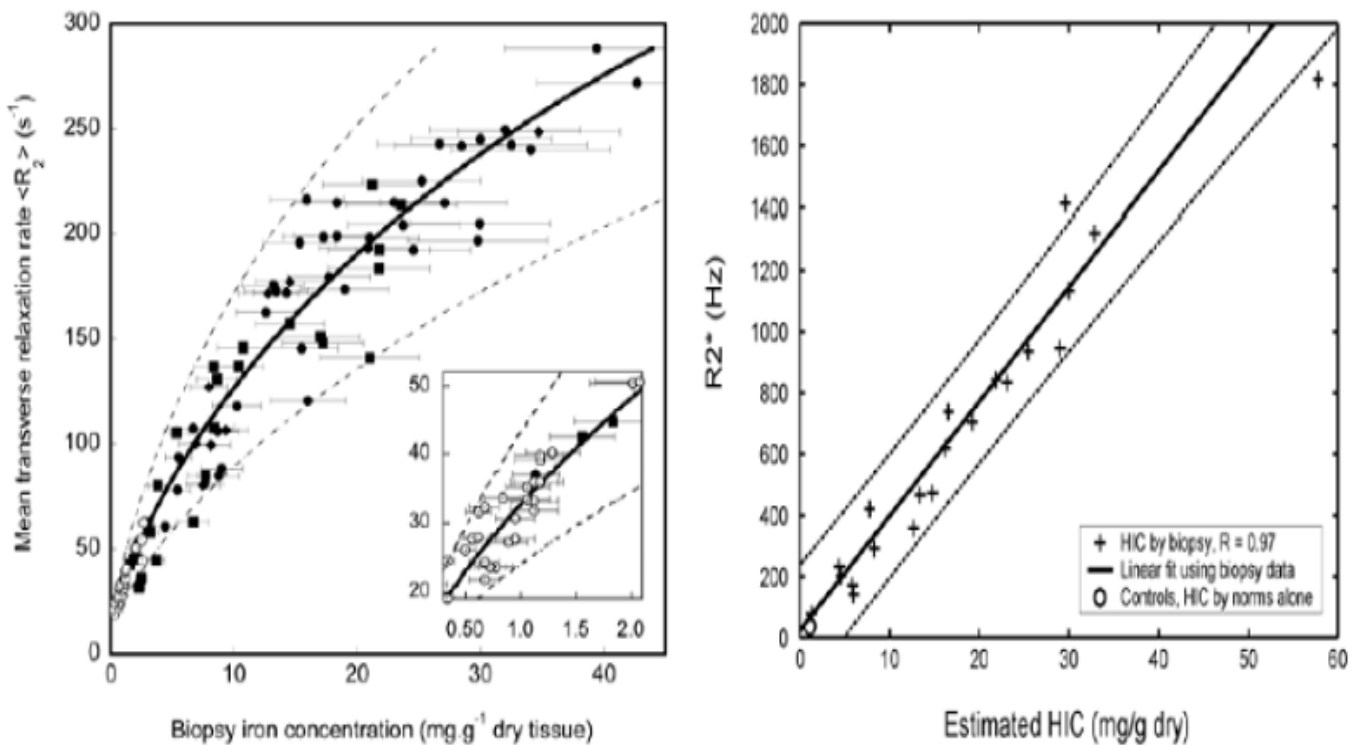


Fig 2.1 Esempi di curve di calibrazione R2-LIC (a sinistra) e R2*-HIC ('Heart Iron Concentration'), a destra

2.5 Protocollo per l'esecuzione di un esame di CMR

In questo paragrafo sarà descritta la procedura tipica di acquisizione in risonanza magnetica cardiovascolare (CMR) utilizzata in pazienti con possibile accumulo di ferro miocardico.

L'esame ha inizio con l'acquisizione di immagini triplanari di scout, che hanno lo scopo di permettere in seguito la localizzazione delle strutture anatomiche di interesse. Tale serie di immagini, dette Localizer (fig. 2.2) è centrata su un punto dato dalle coordinate del centro del tubo dello scanner MR (x_0 , y_0) e dalla coordinate del mirino laser settato dall'operatore sullo sterno del paziente (z_0). Nel sistema di coordinate del paziente utilizzato nello standard DICOM tale punto assume il valore $(0,0,0)$ e rappresenta dunque l'origine degli assi.

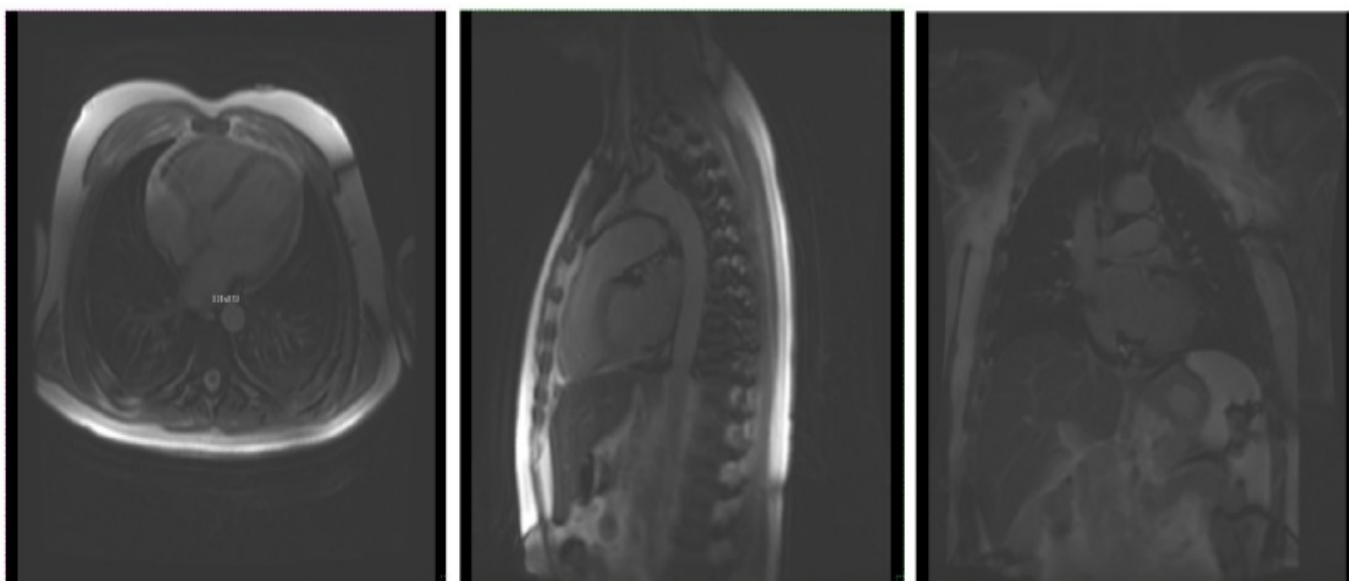


Fig 2.2 Immagini Localizer CMR

L'operatore a questo punto acquisisce un'immagine due camere (2C) in movimento tracciando il piano di interesse su un'immagine del localizer; nell'immagine risultante sono visibili il ventricolo sinistro e l'atrio sinistro, da cui il nome 2C (fig. 2.3). Tale immagine verrà usata in seguito per lo studio anatomico del cuore attraverso analisi visuale.

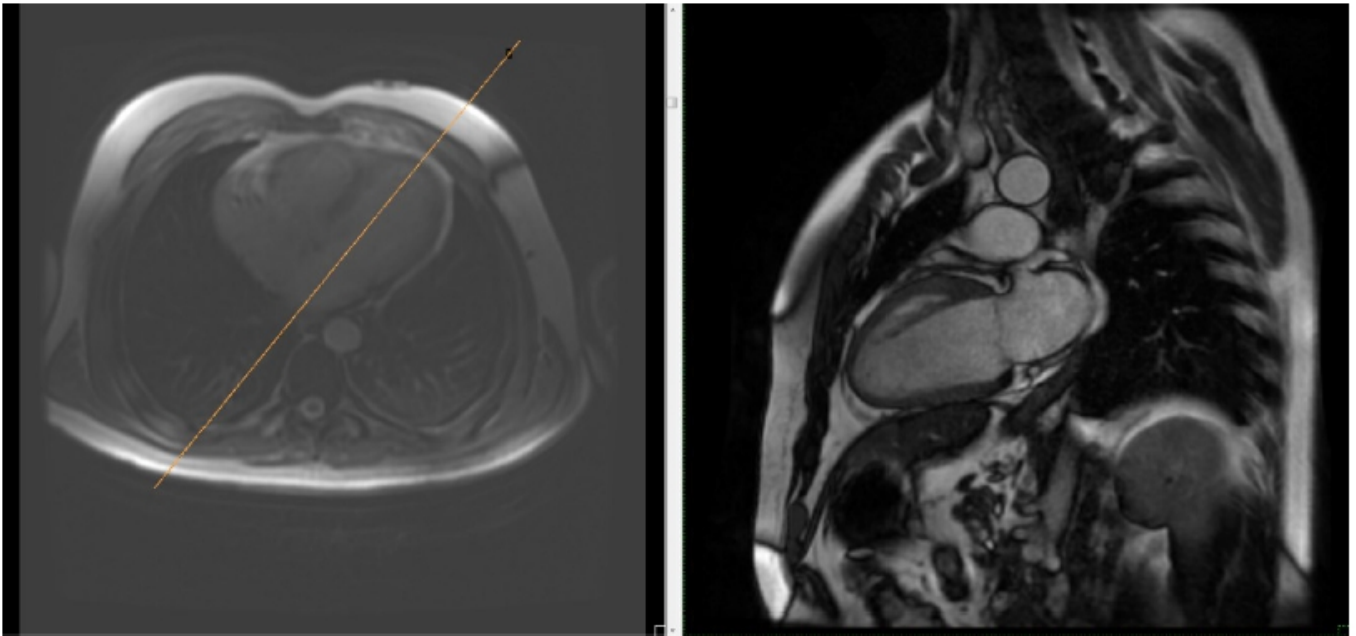


Fig 2.3 Acquisizione immagine 2C

Sulla base dell'immagine 2C si acquisisce una immagine in asse corto (SA,'Short Axis'), detta SA-Loc , la quale non rappresenta l'immagine SA che verrà usata in fase diagnostica, bensì un'immagine intermedia utile per la definizione dei vari piani. L'immagine SA-Loc serve come guida per l'acquisizione dell' immagine 4 camere (4C) che permette di visualizzare tutte le camere cardiache (fig.2.4). Le immagini acquisite fino ad ora (2C,4C,SA) rappresentano 3 piani perpendicolari sull'asse principale del cuore (asse lungo cardiaco), che è l'asse del ventricolo sinistro, mentre per asse corto cardiaco si intende l'asse perpendicolare all'asse lungo; la procedura di acquisizione permette quindi di identificare un sistema di riferimento che non è più quello del paziente ma è quello cardiaco.

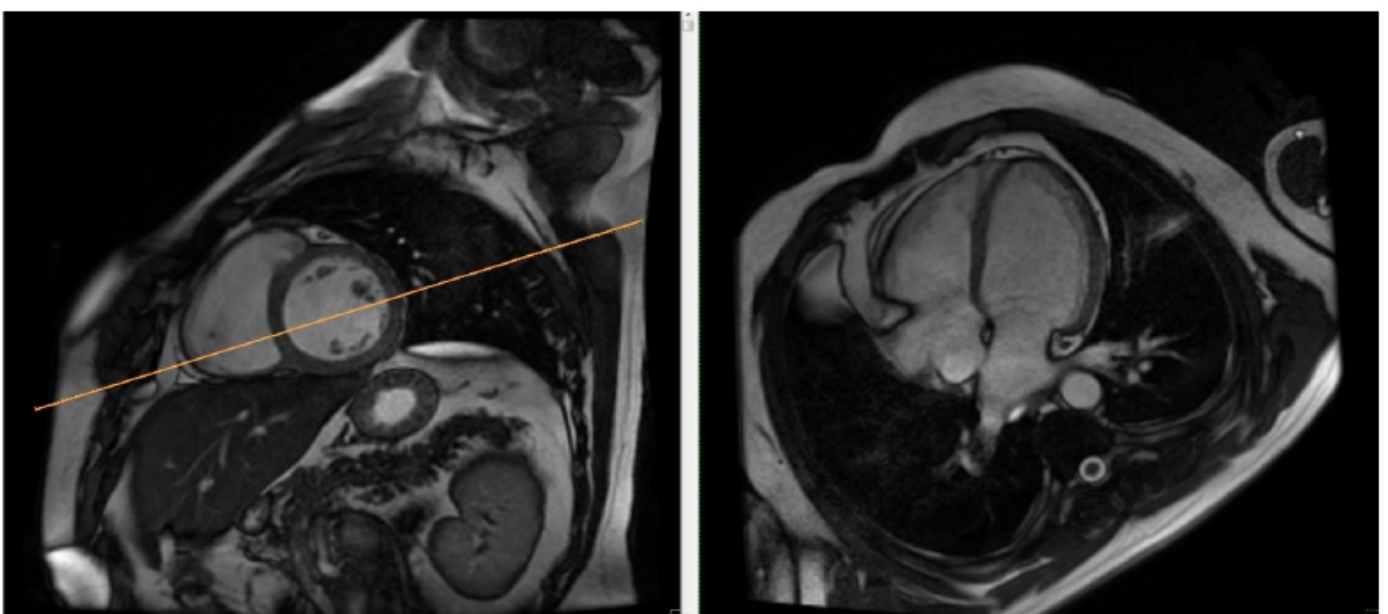


Fig 2.4 Acquisizione immagine 4C

Sempre sfruttando l'immagine SA-Loc come guida si definisce un piano trasversale al fegato e si acquisisce una serie di immagini GRE-T2* multiecho per la misura dell'accumulo di ferro nel fegato (fig 2.5); come spiegato in precedenza infatti, nei pazienti con emocromatosi è fondamentale valutare l'accumulo epatico, che risulta essere un precursore dell'accumulo di ferro negli altri organi.

Usando inoltre come riferimento un piano del Localizer si acquisiscono le immagini GRE-T2* multiecho per l'analisi dell'accumulo di ferro nel pancreas, tramite l'acquisizione di 7 piani paralleli, ognuno su 10 TE (fig. 2.6).

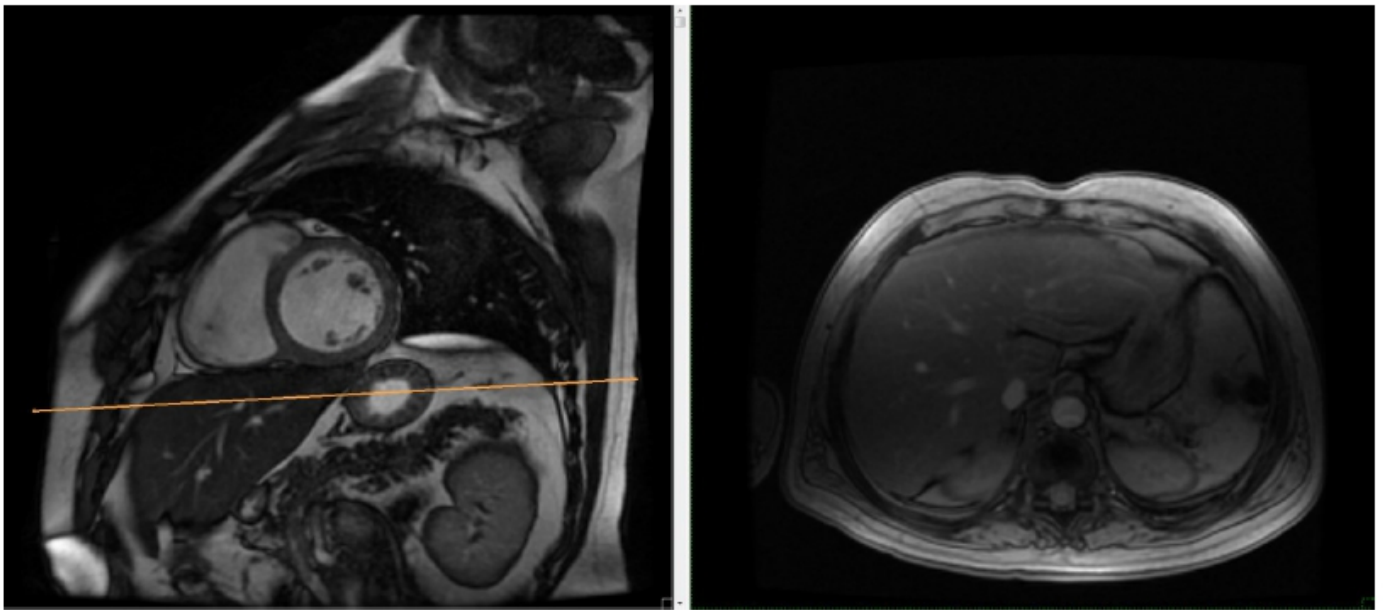


Fig 2.5 Acquisizione immagine T2 del fegato*

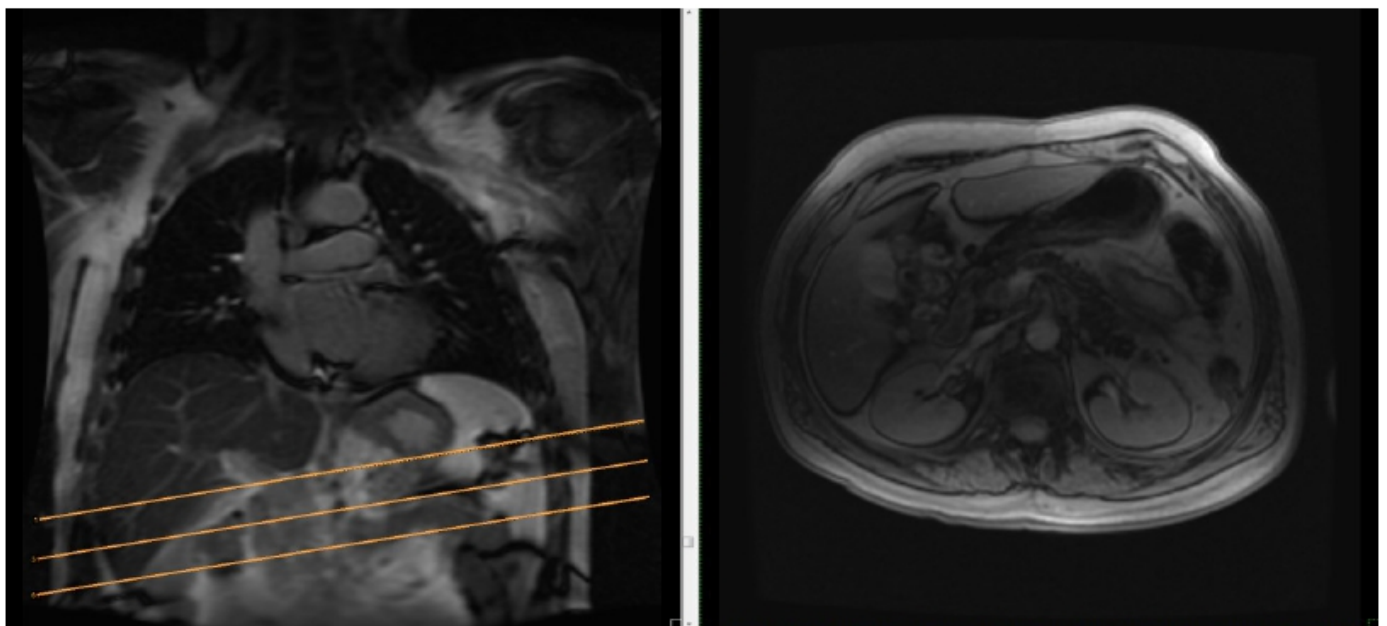


Fig 2.6 Acquisizione immagine T2 del pancreas*

Prendendo in seguito come guida la 4C si acquisiscono 3 piani cardiaci in asse corto (basale, medio, apicale) per la misura dell'accumulo di ferro nel cuore, sempre utilizzando sequenze GRE-T2* multiecho (fig 2.7)

Per completare la procedura di acquisizione a questo punto viene iniettato il mezzo di contrasto per la misura della fibrosi miocardica attraverso immagini LGE ('Late Gadolinium Enhancement'), che devono essere acquisite circa 15-20 minuti dopo la somministrazione del contrasto, nel momento in cui esso è stato in gran parte dilavato nel miocardio remoto (ovvero nel tessuto muscolare sano) mentre permane nelle zone fibrotiche. Il mezzo di contrasto viene iniettato in questo momento perché le immagini T2*, che sono sensibili al contrasto, sono già state acquisite.

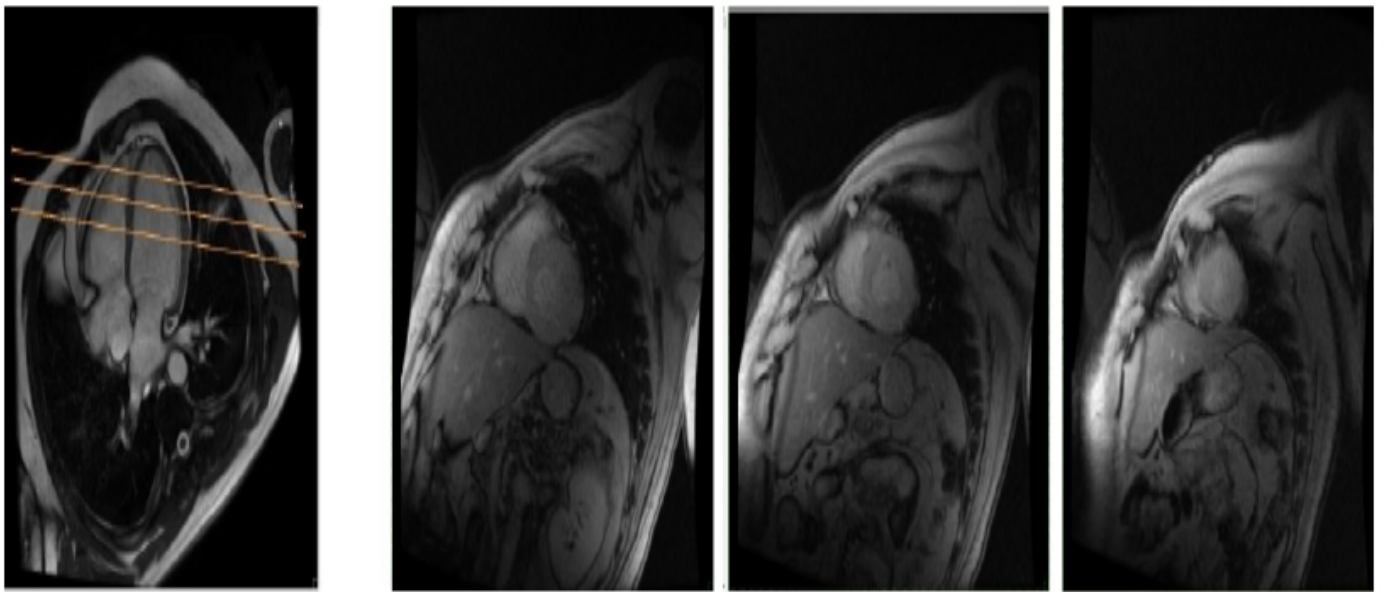


Fig 2.7 Acquisizione immagine T2 cardiache in asse corto*

Attendendo l'effetto del contrasto, si acquisiscono le immagini in asse corto per la valutazione della funzionalità cardiaca. Tali immagini SA vengono acquisite prendendo come riferimento le immagini 4C o 2C, e sono costituite da un numero di piani sufficiente a coprire tutto il ventricolo sinistro (nel caso di nostro interesse 15); per ogni piano vengono ricostruiti con gating retrospettico 30 frames (fig.28). Tale acquisizione prende il nome di 'Fast Cine'; le immagini ottenute vengono utilizzate per l'analisi visiva della motilità di parete e, in fase di post-processing, per la valutazione quantitativa della funzionalità cardiaca tramite la determinazione di opportuni indici/parametri.

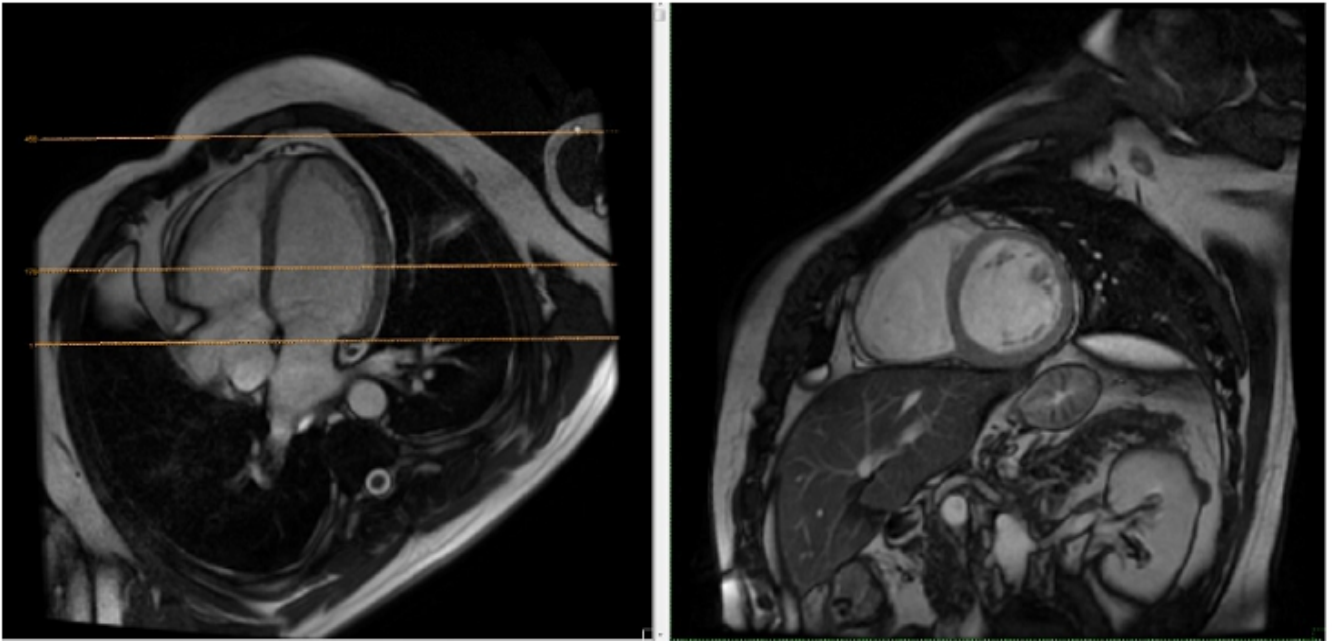


Fig 2.8 Acquisizione immagini SA per la valutazione della funzione cardiaca

Completata l'acquisizione delle immagini 'Fast Cine', ed essendo trascorso il tempo opportuno, vengono acquisite le immagini LGE sugli assi principali cardiaci, utilizzando gli stessi piani acquisiti in precedenza per le immagini anatomiche standard (fig 2.9). Nella pratica l'operatore ricopia la localizzazione delle immagini 2C,4C e SA e acquisisce con la medesima localizzazione immagini di tipo Inversion Recovery (T1-IR). Per completezza, ma senza entrare nel dettaglio della metodica, lo scopo principale di tale tecnica di imaging sta nella scelta del tempo di acquisizione ottimo dopo l'impulso di inversione, tale da massimizzare il CNR ('Contrast-Noise Ratio') tra il miocardio remoto e le regioni fibrotiche.

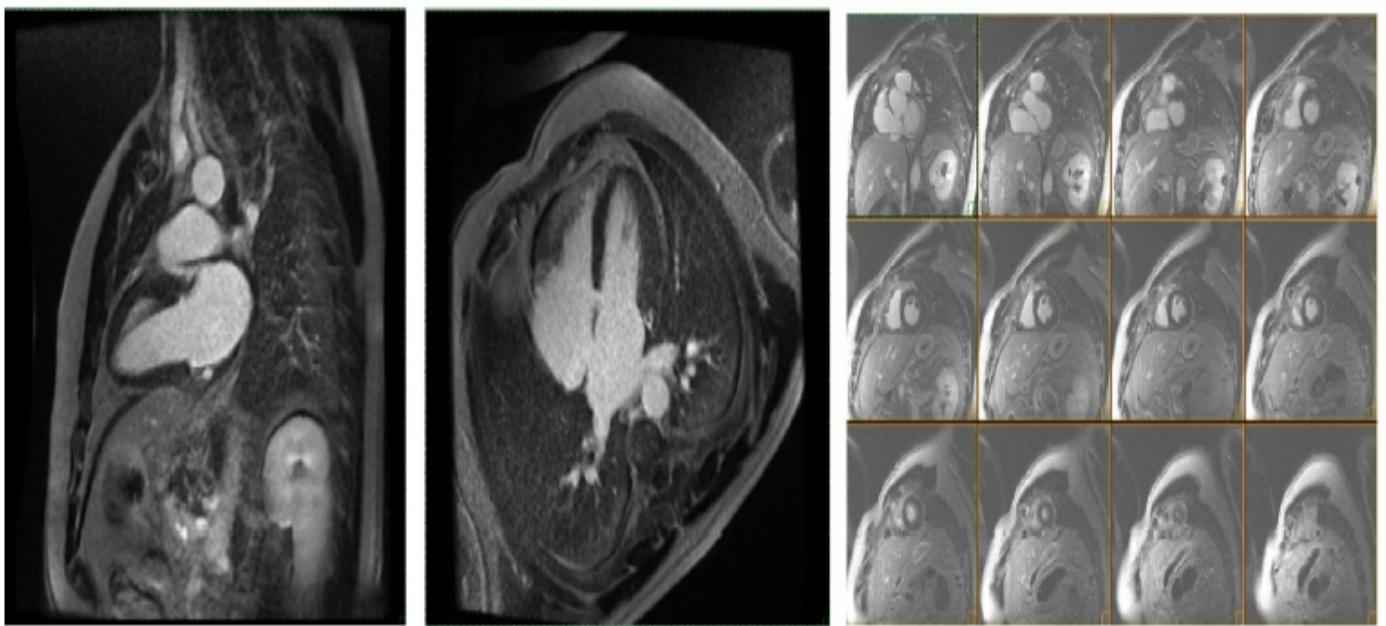


Fig 2.9 Immagini LGE (2C,4C,SA)

Nella figura 2.10 vengono riassunti i vari dataset acquisiti; ciò fornisce un'idea della grandezza del dataset complessivo e dell'ampia gamma di analisi a cui le immagini ottenute con tale procedura possono essere destinate.

SERIE	SCOPO	NUMERO IMMAGINI
Localizer	Localizzazione	60 (3 stack 3D di 20)
Due camere (2C)	Analisi anatomica visiva	30 (un piano, 30 Frames)
Asse corto (SA Loc)	Localizzazione	30 (un piano, 30 Frames)
Quattro camere (4C)	Analisi anatomica visiva	30 (un piano, 30 Frames)
T2* multiecho Fegato	Misura T2* in post-processing	10 (un piano, 10 TE)
T2* multiecho Cuore	Misura T2* in post-processing	30 (tre piani, 10 TE ciascuno)
T2* multiecho Pancreas	Misura T2* in post-processing	70 (7 piani, 10 TE ciascuno)
Serie di immagini SA	Funzione cardiaca (Visiva e Post-processing)	450 (15 piani 30 frames)
Immagini LGE	Fibrosi miocardica	15 + 2 (SA, 2C, 4C)

Fig 2.10 Tipologia, dimensioni e finalità clinica dei vari dataset acquisiti

Concentrandoci esclusivamente sulle immagini T2* cardiache, tale misura si effettua attraverso sequenze GRE T2*-multiecho. Tale metodica presenta delle peculiarità che vale la pena approfondire; alcune di esse sono intrinseche alla metodica stessa, altre sono dovute all'applicazione al distretto cardiaco, altre ancora sono invece dovute alla particolare applicazione clinica a cui tali immagini sono destinate.

Innanzitutto, il valore di T2* del miocardio può variare da frazioni di ms in pazienti con accumulo severo a 35-40 ms in soggetti senza accumulo; questo range di valori che occorre misurare è molto più alto rispetto a quanto avviene in altre applicazioni cliniche.

In funzione del valore di T2* (espresso in millisecondi) si possono identificare le seguenti categorie di rischio (dal più alto al più basso):

- $T2^* < 10$ ms : sovraccarico marziale cardiaco severo;
- $10\text{ms} \leq T2^* < 15\text{ms}$: sovraccarico marziale cardiaco moderato;
- $15\text{ms} \leq T2^* < 20$ ms : sovraccarico marziale cardiaco lieve.

Il valore $T2^*=20$ ms corrisponde al limite inferiore di normalità : maggiore è il valore di T2* oltre i 20 ms, minore è la presenza di ferro e quindi minore è il

rischio di sviluppare un evento cardiaco importante. Le categorie citate sono riportate anche in fig. 2.11.

Soglie dei parametri usati per la valutazione del sovraccarico di ferro

Parametro	Normale	Stato di sovraccarico di ferro		
		Lieve	Moderato	Severo
LIC (mg Fe/g peso secco)	< 1.2	3-7	> 7	> 15
Ferritina sierica (ng/ml)	< 300	> 1000	to < 2500	> 2500
T2* (ms)	> 20	15-20	10-15	< 10
LPI (i M)	0-0.4	> 0.4		

Aumentato rischio di complicanze
 Aumentato rischio di cardiopatie

Fig 2.11 Soglie dei parametri usati per la valutazione del sovraccarico di ferro in varie metodiche (tratto da [9])

Non essendo noto tuttavia a priori lo stato del paziente, a livello di acquisizione deve essere utilizzata sempre la stessa sequenza di acquisizione. Inoltre per motivi tecnici esistono delle limitazioni nei tempi di campionamento (TE) della curva di decadimento del segnale. Il primo TE dipende dal tempo di attivazione della sequenza dopo lo spegnimento dell'impulso RF e dalla sincronizzazione con l'ECG; questo valore è tipicamente compreso tra 1 e 2 ms.

Il numero di TE dipende dal tempo di acquisizione; per ottimizzare il tempo dell'esame e per effettuare acquisizioni senza artefatti di movimento, nella pratica clinica questo tempo è pari al tempo di respiro trattenuto ('Breath-Hold') sopportabile dal paziente (tipicamente qualche secondo).

Il valore dell'ultimo TE nelle acquisizioni cardiache è dato invece dal tempo in cui il cuore resta 'fermo' in fase telediastolica; infatti, per ottenere una curva di decadimento corretta, le immagini devono risultare allineate, e quindi l'acquisizione deve essere limitata ad una fase stabile del ciclo cardiaco. Questo porta ad un TE massimo utilizzabile di circa 20 ms.

La distanza tra gli echi sarà quindi intorno ai 2 ms. Come già detto infatti, essendo presente nelle immagini un'oscillazione del segnale con periodo 4.52 ms a causa del chemical-shift tra acqua e grasso, è opportuno avere un'intervallo di tempo tra TE consecutivi pari alla metà di questo periodo, quindi intorno a 2.26 ms.

Una tipica sequenza di TE sarà quindi:

[2, 4.2, 6.4, 8.6, 10.8, 13.0, 15.2, 17.4, 19.6, 21.8] ms

Abbiamo quindi il problema di dover effettuare il fitting della curva di decadimento del segnale acquisendo il segnale sempre agli stessi TE per un range alto di valori di $T2^*$. La fig. 2.12 mostra il problema in maniera evidente: possiamo avere curve di decadimento che 'spariscono' inglobate dal rumore di fondo per $T2^*$ piccoli (il segnale scende molto rapidamente) o curve il cui decadimento è molto lento rispetto ai campioni e quindi su questa scala hanno un andamento quasi rettilineo. La situazione è ancora peggiore se si considera il rumore sulla curva, come nel grafico di destra.

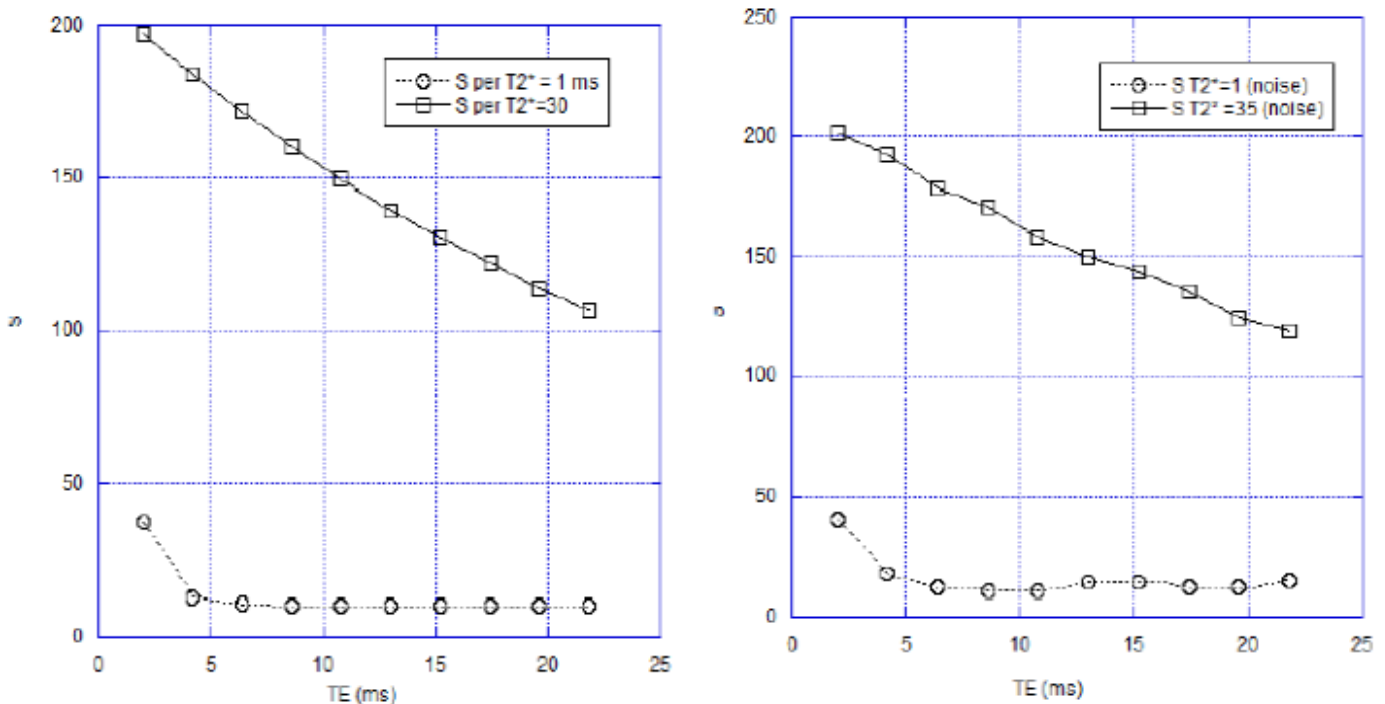


Fig 2.12 Simulazione di decadimento del segnale S in pazienti con e senza accumulo

Nella pratica clinica si adottano quindi alcune soluzioni per ottenere una misura più affidabile; innanzitutto invece di estrarre una mappa pixel a pixel si analizza il segnale da una ROI composta di un certo numero di pixel, riducendo in questo modo il rumore sulla curva. Si otterrà così una misura media dell'accumulo di ferro in una certa regione, che è sufficiente ai fini diagnostici. Inoltre è possibile semplificare il modello di fitting dell'equazione (paragrafo 1.2), eliminando il termine C , che tiene conto di tutti gli elementi di disturbo rispetto ad un modello dati ideale. Una semplificazione del modello si traduce in un fitting più robusto, cioè nella capacità dell'ottimizzatore di trovare più facilmente una soluzione ottima. Questo consente di ottimizzare la misura su pazienti con $T2^*$ alti, ma condurrebbe ad una stima sbagliata in pazienti con $T2^*$ bassi.

In questi una soluzione è eliminare manualmente gli ultimi echi, dove il segnale ha subito un notevole decadimento e dunque l'influenza del rumore è rilevante.

Concludiamo ora fornendo alcuni dettagli, tratti da [10], sui parametri di acquisizione delle immagini T2* cardiache acquisite all'interno del protocollo MIOT, ed analizzate mediante il software HIPPO-MIOT, che andremo a descrivere nel prossimo capitolo.

L'acquisizione MR è stata realizzata usando scanner a 1.5T (GE Signa CV/I; General Electric, Milwaukee, WI, USA); per il distretto cardiaco sono state ottenute 3 fette parallele in asse corto (basale, medio apicale) del ventricolo sinistro (LV). Ogni fetta è stata acquisita a 10 TE (2.2- 20.3 ms) con intervallo tra gli echi di 2.26ms, in un singolo 'breath-hold', per assicurare l'allineamento dei frames.

E' stato selezionato un tempo di ritardo pari a 10 ms dopo il picco R dell'ECG per ottenere immagini del miocardio in una fase stabile del ciclo cardiaco, indipendentemente dalla frequenza cardiaca; dopo tale ritardo sono state acquisite 10 linee del K-spazio (una per ciascun TE). Tale procedura è stata ripetuta 8-10 volte all'interno dello stesso ciclo cardiaco per acquisire un segmento del K-spazio, utilizzando dunque una finestra temporale di acquisizione variabile tra 160ms e 200ms. Il numero di intervalli R-R necessari all'acquisizione di una singola fetta è variato da 19 a 24, comportando solitamente 3 acquisizioni in respiro trattenuto da 10s a 18s ciascuna. La figura 2.13 illustra chiaramente il processo di acquisizione.

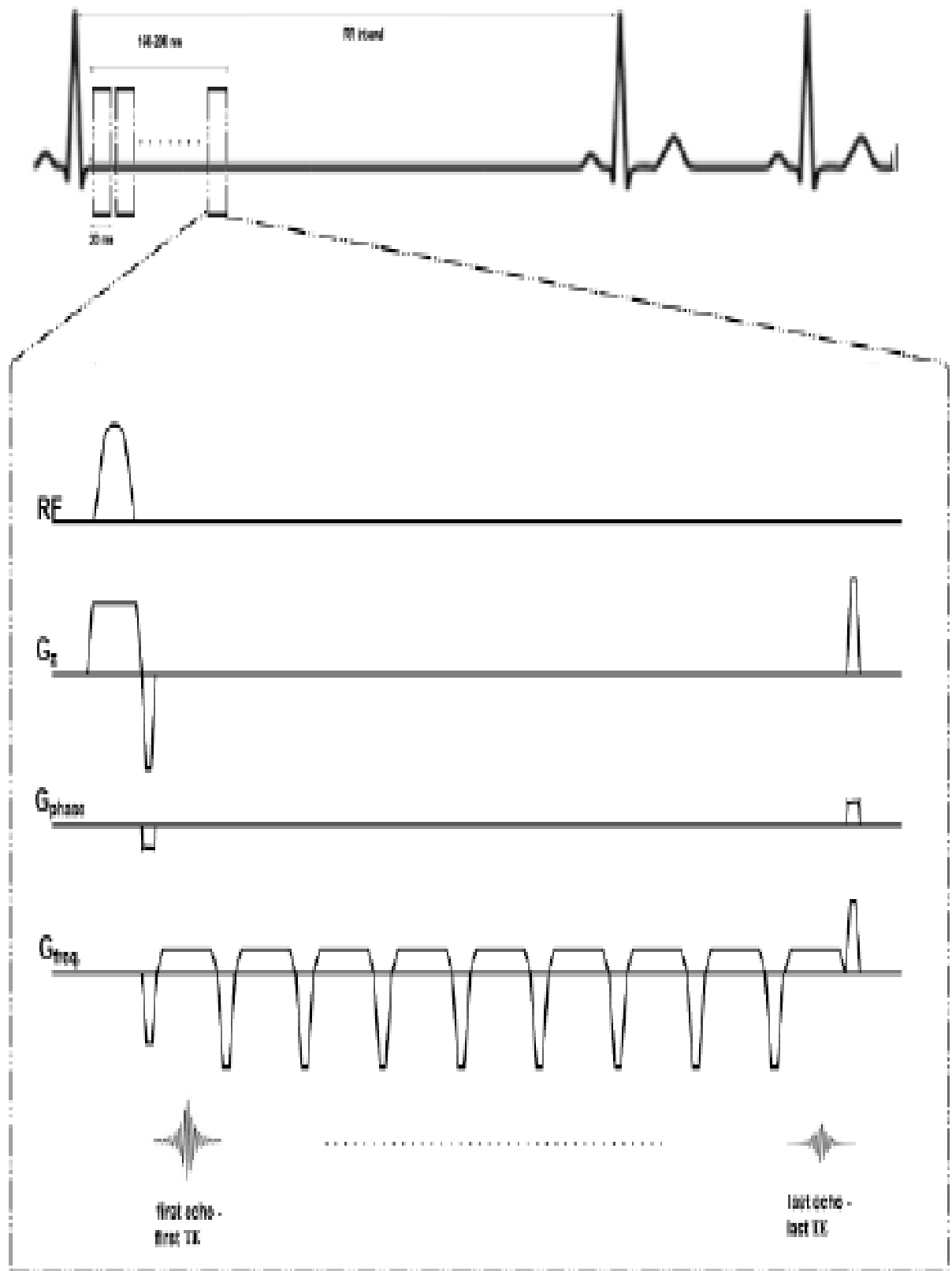


Fig 2.11 Sequenza GRE multi-echo con ECG triggering

CAPITOLO 3

Il network MIOT ed il software HIPPO-MIOT

3.1 Descrizione della rete MIOT

Nonostante i vari vantaggi precedentemente descritti, primo fra tutti il fatto di essere l'unica tecnica non invasiva in grado di ottenere misure quantitative affidabili dell'accumulo di ferro sia nel cuore che nel fegato, è stato messo in evidenza come l'imaging T2* dipenda da numerosi fattori, quali ad esempio lo scanner usato e la sequenza MRI impiegata.

D'altro canto, in paesi con un'elevato numero di pazienti talassemici (tra cui l'Italia), si è pensato alla creazione di una rete che unisca svariati centri MRI idonei a realizzare valutazioni del sovraccarico di ferro multiorgano facilmente ripetibili e sotto standard omogenei; i pazienti affetti da TM richiedono infatti un monitoraggio di tale accumulo per tutta la durata della loro vita per valutare l'efficacia delle terapie chelanti [11].

Di conseguenza, è altamente desiderabile che gli esami MRI siano realizzati in centri posti nelle vicinanze del paziente e che i pazienti possano spostarsi senza nessun problema tra vari centri [11]. Oltre a questo, la condivisione di dati clinici fra centri MRI consentirebbe la creazione di un database clinico in breve tempo, superando l'ostacolo di generare un'elevata mole di dati in un unico centro e per una singola patologia come la talassemia [11]. Tale DB potrebbe inoltre essere impiegato nello sviluppo di diagnosi, prognosi, trattamenti terapeutici basati sull'evidenza dei risultati ottenuti, e costituirebbe una risorsa molto importante nella ricerca scientifica [11].

La creazione di un network è stata già riconosciuta come un mezzo efficace per raggiungere gli obiettivi precedentemente citati, e già numerosi reti di collaborazione sono presenti per la cura della talassemia (TCRN, ITHANET, ENERCA); oltre a queste, le rete MIOT (acronimo di 'Myocardial Iron Overload in Talassemia') è sorta in Italia nel 2006 per permettere l'integrazione dei dati provenienti dall'imaging RM con i dati clinici ed anamnestici provenienti dai centri per la talassemia [11].

La rete MIOT ad oggi comprende 9 centri MRI e 70 centri per la talassemia distribuiti sul territorio; attualmente sono stati esaminati circa 2500 pazienti con talassemia major su un totale di circa 7000 pazienti in Italia.

La rete MIOT è stata progettata per raggiungere 3 obiettivi principali [11]:

- accrescere il numero di pazienti affetti da talassemia major (TM) che possono accedere a valutazioni del sovraccarico di ferro mediante MRI ;

- ridurre la distanza che i pazienti devono percorrere per eseguire l'esame nei centri prediposti, aumentando dunque il comfort;
- Condividere dati clinici tra centri MRI e centri per la talassemia.

Per raggiungere i primi 2 punti, la rete è stata aperta (su base volontaria) a qualsiasi centro ematologico o pediatrico specializzato nella cura della talassemia, mentre i centri MRI sono stati scelti sia in base a dati epidemiologici sulla prevalenza della talassemia sul territorio italiano, sia sul possesso degli strumenti e delle competenze necessarie, attraverso una procedura di validazione che assicurasse un'opportuna standardizzazione del protocollo di acquisizione ed analisi delle immagini. L'ultimo punto, ovvero la condivisione efficace inter-centro di dati clinici, è stata resa possibile mediante la creazione di un database clinico condiviso, facilmente accessibile tramite interfaccia web.

La 'flow-chart' di figura 3.1 seguente illustra chiaramente le procedure seguite dai vari centri MIOT e la loro collaborazione.

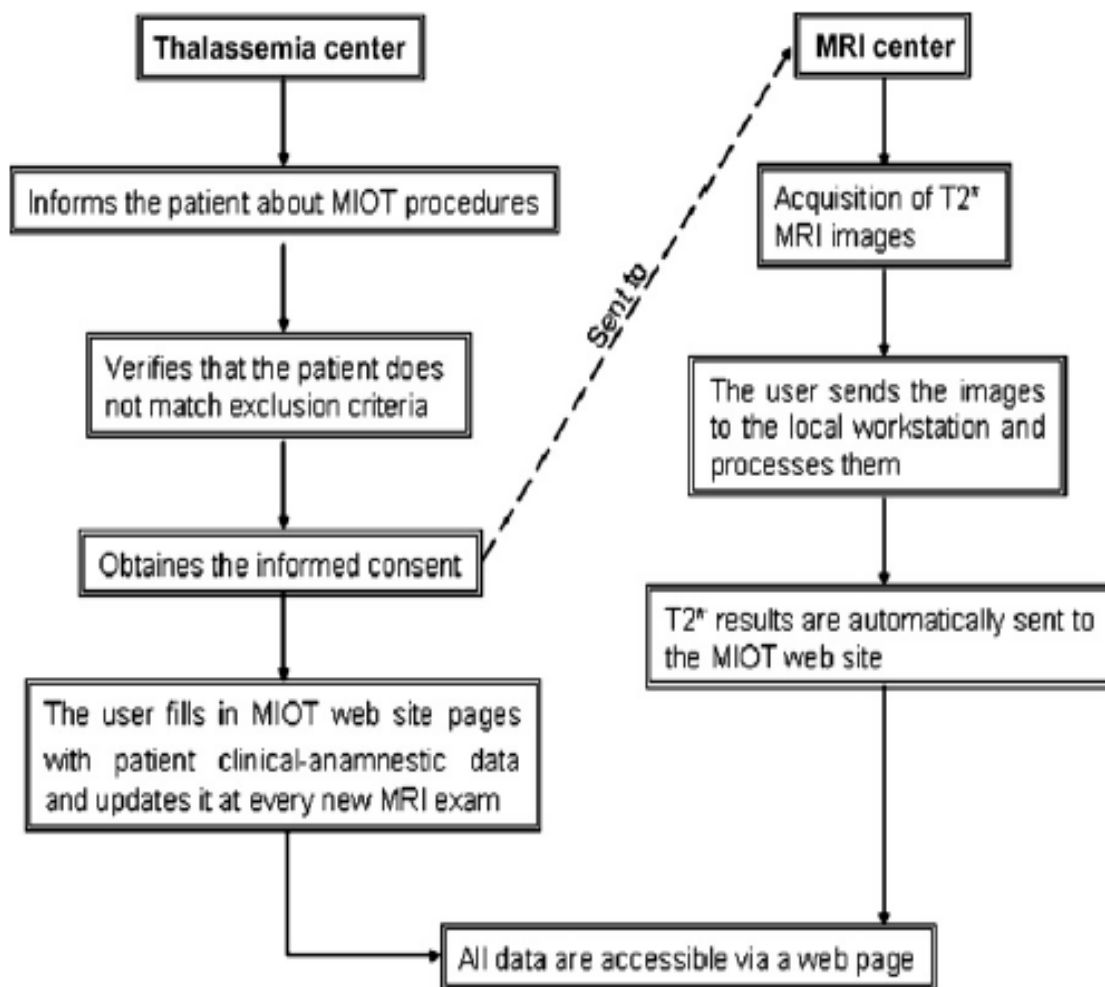


Fig. 2 – Flowchart representing the procedures followed by MIOT centers.

Fig 3.1 Procedure seguite dai centri MIOT ed interazioni tra i vari centri; tratto da [11]

Le immagini ottenute nei vari centri vengono trasferite dallo scanner alla workstation MIOT, munita di protocollo DICOM per gestire, immagazzinare, stampare e trasmettere le immagini RM.

Il post- processing su tali immagini viene eseguito da un software dedicato, appositamente creato e validato: il software HIPPO- MIOT, sviluppato presso l' IFC-CNR di Pisa e scritto in linguaggio IDL (Interactive Data Language, v. 6.0). Il software viene eseguito sfruttando la IDL Virtual Machine senza necessità di una licenza.

Le immagini RM dunque rappresentano unicamente un input da fornire al software per ottenere in uscita l'analisi corrispondente alla tipologia di immagini fornite.

3.2 Funzionalità del software per l'analisi T2* cardiaca

La figura 3.2 mostra la GUI principale del software HIPPO-MIOT:

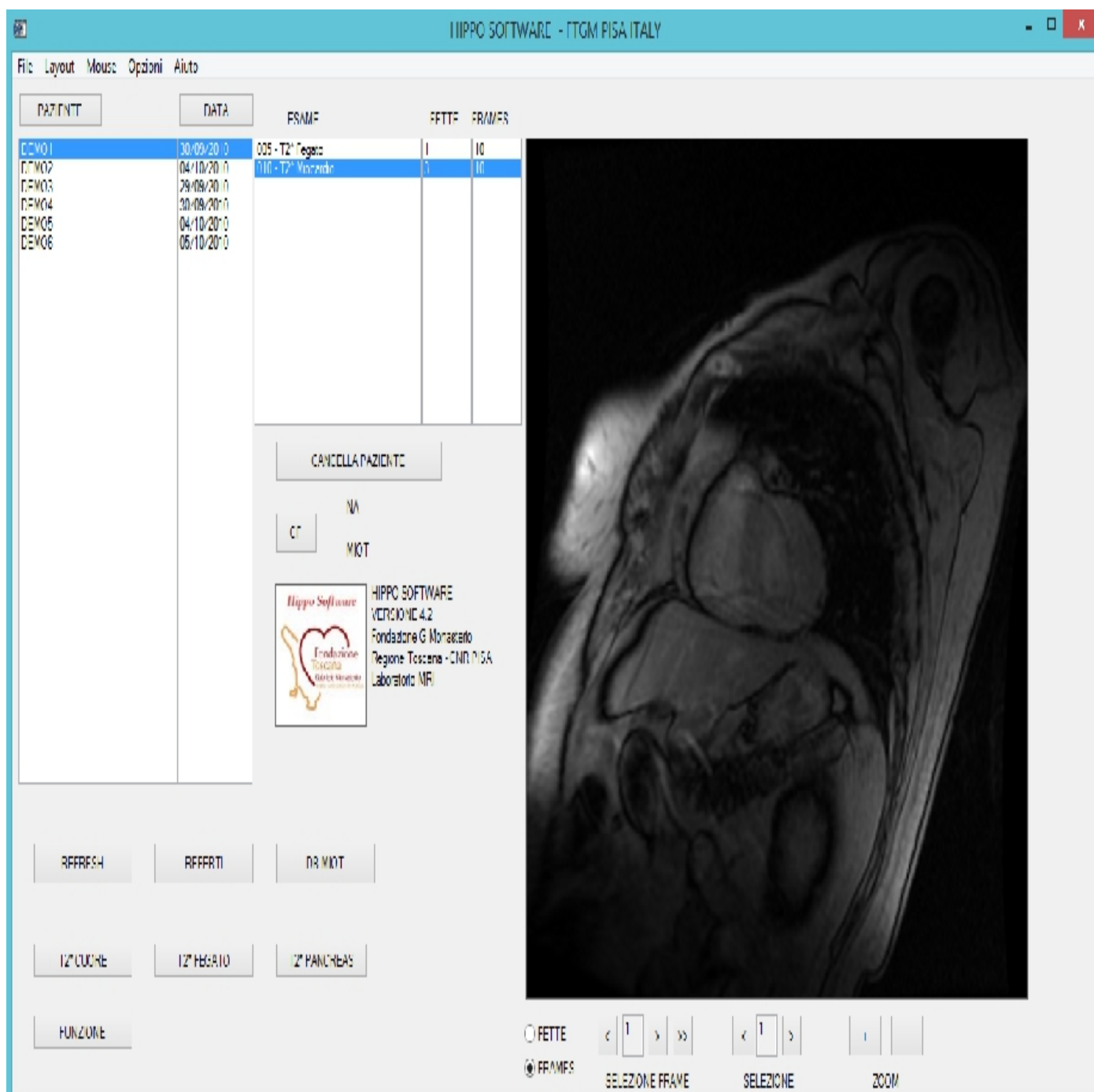


Fig 3.2 Interfaccia di lavoro principale del software MIOT

Nel caso visualizzato in figura le immagini fornite sono immagini 'demo', dove i dati anagrafici del paziente (nome, cognome e codice fiscale) non vengono ovviamente forniti per motivi di privacy.

In base alle immagini a disposizione, cliccando sui vari bottoni è possibile passare all'interfaccia relativa al tipo di analisi che si intende effettuare: prendiamo in esame l'analisi T2* del distretto cardiaco e tralasciamo le altre tipologie di

analisi messe a disposizione dal software. La figura 3.3 mostra l'interfaccia grafica per l'analisi T2* del cuore: descriviamone brevemente il funzionamento.

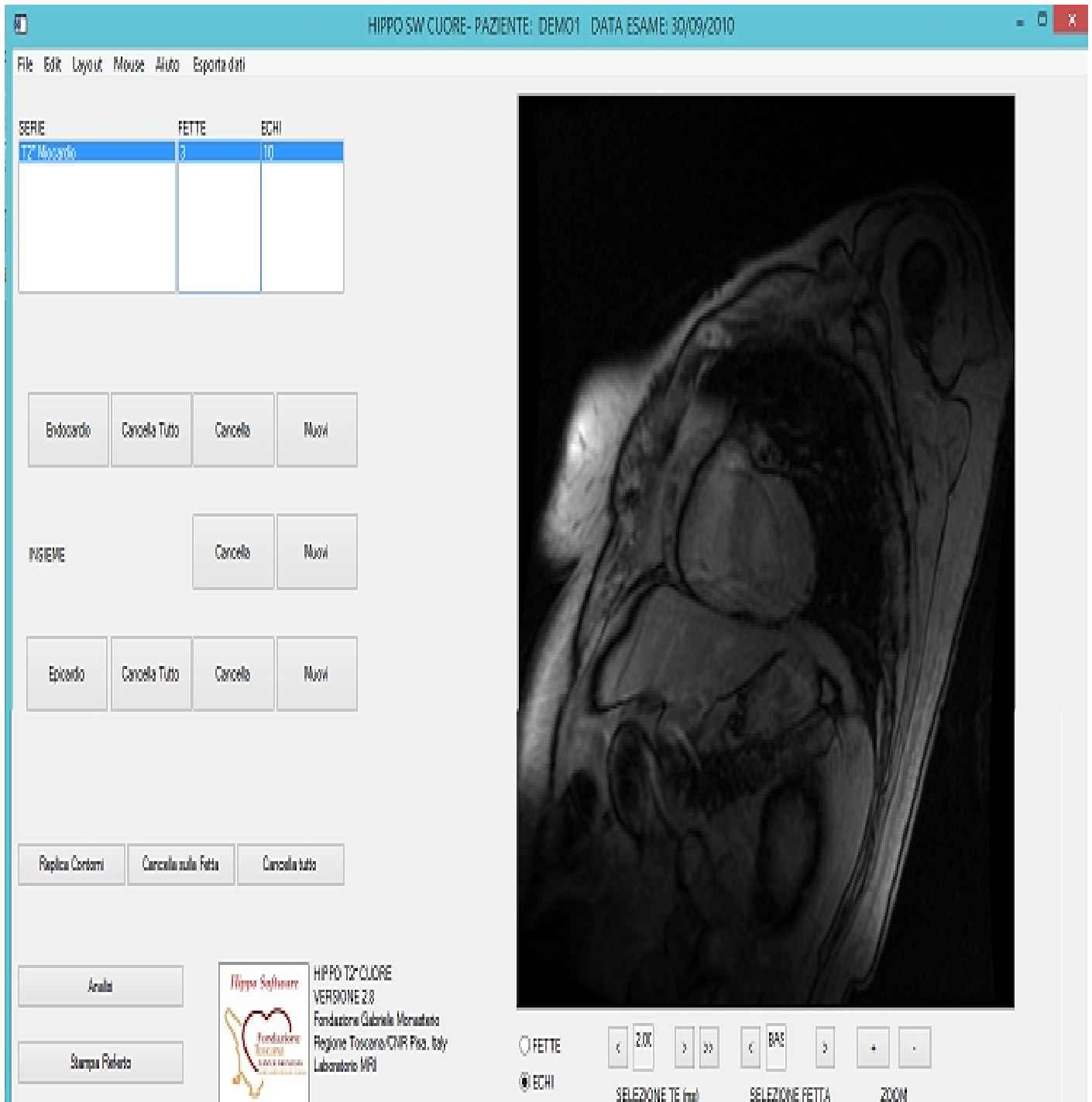


Fig 3.3 Interfaccia per l'analisi T2* cardiaca

Per ciascuna fetta in asse corto, il software consente un tracciamento manuale dei contorni dell'endocardio e dell'epicardio, tramite posizionamento del mouse su una qualsiasi immagine che l'operatore ritenga sufficientemente nitida per il riconoscimento visivo di tali contorni; la scelta ricade solitamente sull'immagine corrispondente al primo o al secondo TE, ma è comunque a totale discrezione dell'operatore.

L'ordine di tracciamento di endocardio ed epicardio non è significativo: una volta tracciati, tali contorni possono essere replicati su tutte le altre immagini relative a gli altri TE (si ricorda che le immagini risultano allineate poiché ottenute in respiro trattenuto e in una fase stabile del ciclo cardiaco, grazie al triggering con il segnale ECG). Una volta definiti i contorni per tutti i valori di TE relativi ad una fetta, per estrarre i valori del T2* in ogni segmento della fetta in esame l'operatore deve settare manualmente un marker, posizionandolo a livello della giunzione antero-settale; ciò è necessario per la corretta suddivisione della parete cardiaca in 16 segmenti secondo il modello proposto dall' American Heart Association (AHA, 6 segmenti basali, 6 medi e 4 apicali, fig. 3.4) e per il successivo calcolo dei valori T2* nei vari segmenti.

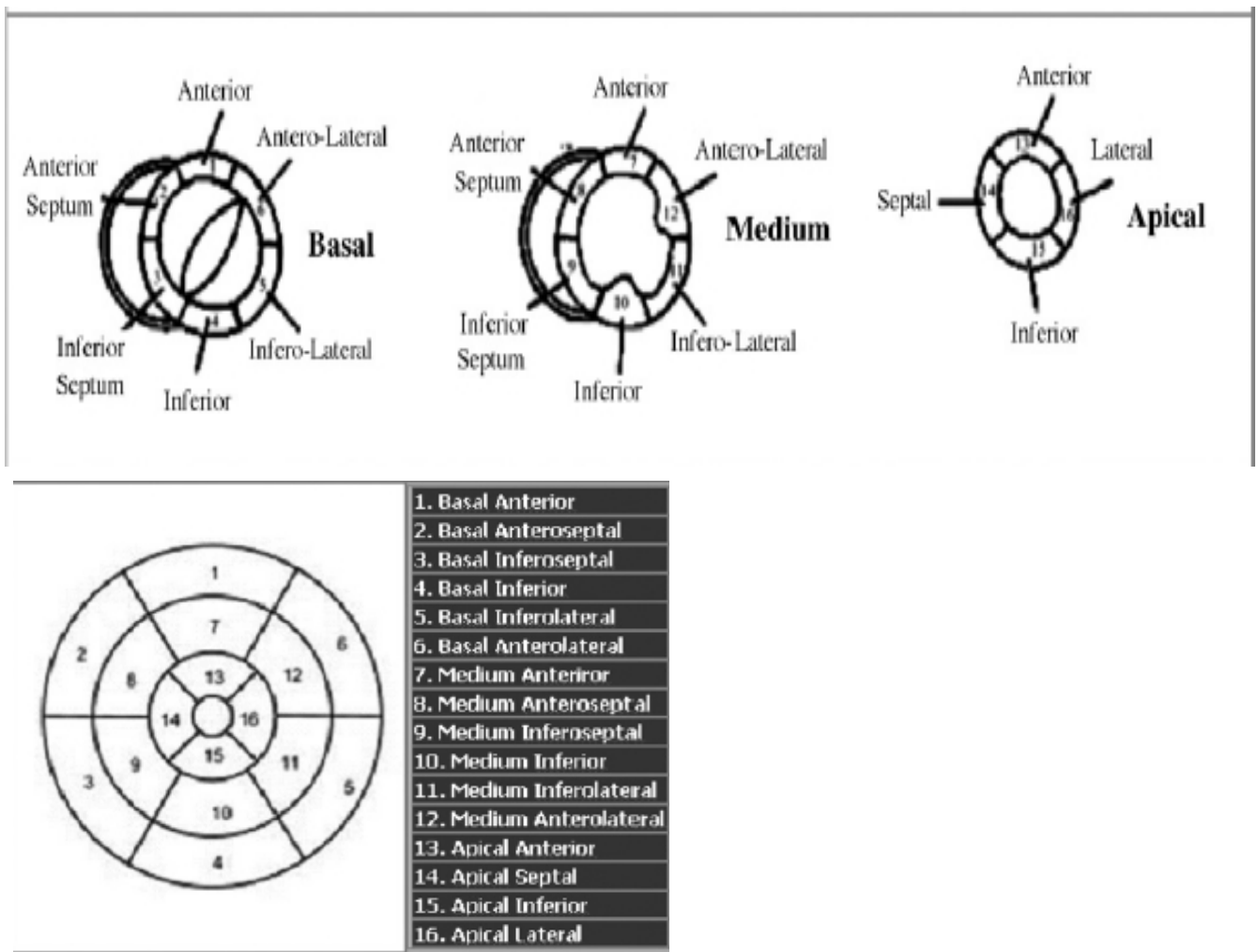


Fig 3.4 In alto: rappresentazione schematica dei segmenti cardiaci nelle fette basali, medie, apicali secondo il modello AHA a 16 segmenti. In basso: rappresentazione 'bull's-eye' di tutti e 16 i segmenti con i relativi nomi. Tratto da [11]

Per ciascun segmento, il software calcola il valore medio di intensità di segnale lungo tutti i TE; la curva di decadimento che ne deriva viene sottoposta ad un'operazione di fitting con un modello di decadimento esponenziale al fine di ottenere il valore di T2* di tale segmento.

Il valore del T2* globale viene in seguito calcolato come media su tutti i segmenti; quando i valori di T2* relativi a tutti i segmenti sono stati calcolati, essi vengono visualizzati mediante una rappresentazione di tipo 'bull's-eye'.

Il valore di T2* pari a 20ms è considerato come soglia inferiore di non accumulo di ferro; le zone del miocardio con T2* inferiore a tale soglia vengono visualizzate in un'altra immagine. Tali operazioni possono essere ripetute su tutte le 3 fette cardiache in asse corto, al fine di realizzare un referto completo per il paziente in esame: per un ulteriore approfondimento sul funzionamento dell'analisi T2* cardiaca (e per tutte le altre funzionalità presenti) si rimanda al manuale d'uso MIOT.

La figura 3.5 mostra la GUI risultante in seguito alle analisi finora descritte, realizzate su una fetta media in un paziente con assenza di accumulo significativo di ferro globale.

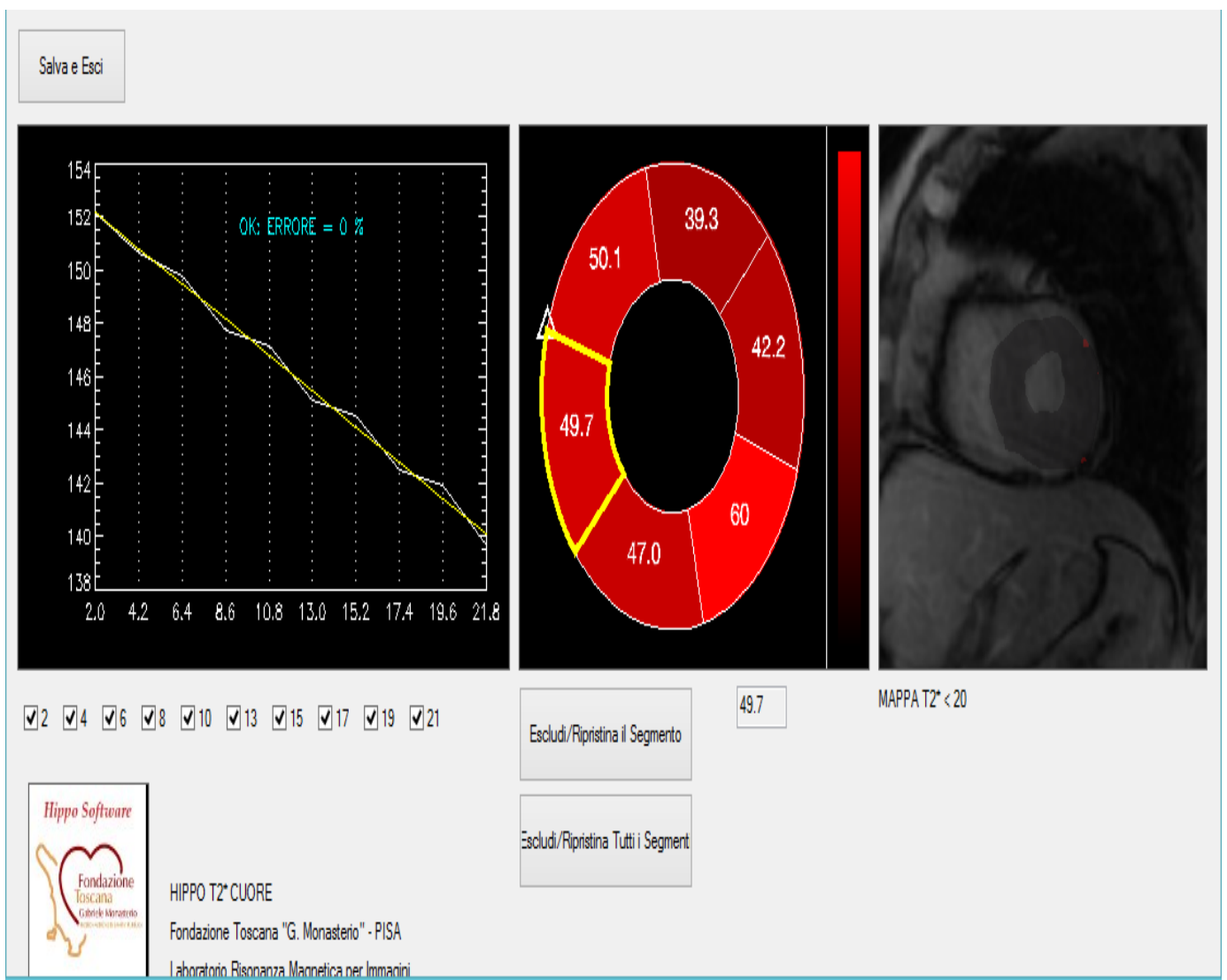


Fig 3.5 Interfaccia che mostra i risultati ottenuti in seguito all'analisi T2* cardiaca

3.3 Principali limitazioni e definizione del problema

Dalla descrizione del software HIPPO-MIOT si evince la varietà delle analisi che possono essere effettuate, in grado di coprire l'ampia gamma di tipologie di immagini RM che vengono acquisite nell'imaging cardiovascolare finalizzato alla valutazione del sovraccarico di ferro, ed i numerosi indici quantitativi che possono essere ricavati da tali metodi di analisi.

Per quanto riguarda l'analisi T2* del cuore, come illustrato in precedenza, i risultati di principale interesse sono costituiti dal fitting della curva di decadimento del segnale con un modello di decadimento esponenziale e dal conseguente calcolo dei valori di T2* per i vari segmenti cardiaci. Tali risultati sono tuttavia subordinati ad un'operazione di segmentazione della parete cardiaca e dalla replicazione dei contorni ottenuti su tutti i frames di una fetta relativi ai vari TE. L'operazione di tracciamento dei contorni endocardici ed epicardici è un'operazione effettuata manualmente dall'operatore, a da ciò si possono dedurre le principali limitazioni dell'intera metodica :

1. il tracciamento manuale di tali contorni rappresenta un 'gold standard' solo quando effettuato da un radiologo esperto; ciò comporta a sua volta una migliore accuratezza nel calcolo delle curve di decadimento e dei valori T2* segmentali. Non si può dire altrettanto nel caso di tracciamento dei contorni da parte di un operatore privo delle dovute conoscenze/competenze; l'errore da egli commesso si propaga inoltre con la replicazioni dei contorni originari su tutti i frames. Nonostante le tecniche di correzione degli errori messe a disposizione dal software (eliminazione degli echi in caso di curve non corrette, eliminazione dei segmenti con valore di T2* non calcolabile, correzione a posteriori dei contorni tracciati in base ai risultati ottenuti con l'analisi T2*), tutto ciò può condurre ad errate misurazioni del T2* e quindi ad una quantificazione non affidabile del sovraccarico di ferro;
2. un altro punto importante è la capacità della metodica di consentire l'estrazione di indici diagnostici (o l'effettuazione di una diagnosi corretta) in modo indipendente dall'operatore che effettua la misura. Poichè la procedura di segmentazione è manuale, essa possiede dunque una variabilità intra-osservatore ed inter-osservatore, rispettivamente la variabilità che si ha in una misura quando un operatore effettua tale misura 2 o più volte nelle stesse condizioni e quella che si ha quando 2 o più operatori diversi effettuano la stessa misura nelle stesse condizioni. L'introduzione di tali variabilità riduce la riproducibilità dell'intera metodica.

Per la metodologia in esame, tali variabilità sono state misurate al momento della validazione del software HIPPO-MIOT [12] e sono di seguito riportate nelle figure 3.6 e 3.7.

Table 2

Summary of the Coefficients of Variation (CoV) and Intraclass Correlation Coefficients (ICC) for Global Myocardium, Mid-ventricular Septum, and Liver T2* Values

	Global heart T2*		Mid-ventricular septum T2*		Liver T2*	
	CoV	ICC	CoV	ICC	CoV	ICC
Ancona	0.099	0.941	0.152	0.914	0.128	0.973
Campobasso	0.112	0.989	0.127	0.973	0.135	0.969
Catania	0.098	0.955	0.077	0.980	0.096	0.992
Palermo	0.077	0.980	0.071	0.986	0.179	0.660
Roma	0.042	0.996	0.222	0.914	0.103	0.948
All sites	0.089	0.967	0.140	0.941	0.140	0.971
All sites T2* < 20 ms	0.093	0.961	0.105	0.952	0.117	0.939
All sites T2* ≥ 20 ms	0.079	0.815	0.128	0.819	0.102	0.919

Fig 3.6 Coefficienti CoV e ICC per i valori di T2* cardiaci ed epatici misurati in vari centri MRI; tratto da [12]

Table 3

Summary of the Correlation Coefficients (r), Coefficients of Variation (CoV), and Intraclass Correlation Coefficients (ICC) for Patients' T2* Values of the 16 Myocardial Segments

Myocardial segments		r	CoV	ICC
Basal	1 Anterior	0.906	0.191	0.897
	2 Anteroseptal	0.923	0.154	0.923
	3 Inferoseptal	0.963	0.103	0.962
	4 Inferior	0.916	0.205	0.898
	5 Inferolateral	0.802	0.225	0.793
	6 Anterolateral	0.861	0.197	0.861
Mid-ventricular	7 Anterior	0.896	0.209	0.890
	8 Anteroseptal	0.854	0.251	0.849
	9 Inferoseptal	0.959	0.115	0.953
	10 Inferior	0.832	0.241	0.832
	11 Inferolateral	0.924	0.152	0.923
Apical	12 Anterolateral	0.929	0.162	0.924
	13 Anterior	0.805	0.279	0.799
	14 Septal	0.857	0.236	0.851
	15 Inferior	0.826	0.274	0.815
	16 Lateral	0.911	0.172	0.910
All segments		0.885	0.198	0.88

Fig 3.7 Coefficienti correlazione (r), CoV e ICC per i valori di T2* cardiaci su tutti e 16 i segmenti; tratto da [12]

Partendo dalle limitazioni finora elencate, l'obiettivo di questo lavoro è stato quello di ricercare un algoritmo di segmentazione automatica applicabile ad un dataset di immagini multidimensionali (nel nostro caso immagini RM multiecho) che non comporti alcun intervento esterno da parte dell'operatore, annullando dunque le fonti di variabilità intra ed inter-osservatore, e che garantisca allo stesso tempo una qualità della procedura di segmentazione paragonabile con la metodica proposta all'interno del software HIPPO-MIOT.

Come punto di partenza per tale lavoro, è stata effettuata una consistente ricerca bibliografica sugli algoritmi di segmentazione correntemente applicati su dataset multidimensionali di immagini di risonanza magnetica (e non solo) e sulle applicazioni cliniche all'interno delle quali tali algoritmi vengono impiegati.

L'obiettivo di tale ricerca è stato quello di trovare un algoritmo (con le sue possibili varianti) che possieda già un'ampia diffusione ed utilizzo in svariati ambiti clinici, all'interno dei quali la sua utilità ed affidabilità sia stata già dimostrata, ma che non sia stato ancora testato su immagini RM multiecho; una volta trovato un algoritmo che soddisfi i requisiti necessari, il passo successivo sarà quello di implementarlo in codice utilizzando come linguaggio di programmazione IDL (Interactive Data Language), poiché il software HIPPO-MIOT stesso è stato scritto usando tale linguaggio.

Una volta ottenuta un'implementazione dell'algoritmo in codice IDL, le performance di tale algoritmo saranno testate su immagini 'phantom' (fantoccio), che rappresentano cioè un modello ideale delle immagini RM cardiache reali.

Tale immagini saranno 'sporcate' inserendo diverse fonti di disturbo, come il rumore di misura e l'effetto volume parziale(PVE), per avvicinarle alla complessità delle immagini reali.

L'algoritmo sarà dunque caratterizzato valutando l'andamento di opportuni indici di performance al variare di diversi parametri, che verranno successivamente descritti nel dettaglio; solo in caso di riscontri positivi si procederà infine all'applicazione e alla validazione dell'algoritmo scelto su immagini reali.

3.4 Stato dell'arte

Con il termine segmentazione di un'immagine biomedica si intende generalmente un processo che consente di associare ad un certo numero di strutture anatomiche che ci interessa individuare una lista di pixels/voxels afferenti a dette strutture.

Secondo la letteratura esistente e riguardante gli algoritmi di segmentazione di immagini RM, tali metodi possono essere suddivisi in maniera grossolana in due categorie principali [13] :

1. metodi 'single image', ovvero metodi che utilizzano come input i valori dei livelli di grigio dei pixels (e quindi l'istogramma) di una singola immagine, sia essa 2D o 3D ;
2. metodi 'multi-spectral' (ossia multispettrali), dove con il termine multispettrale si intende un dataset di immagini acquisito con una sequenza multiecho oppure con sequenze RM differenti.

Nel secondo caso del punto 2, tale modalità di imaging RM viene definita multimodale o multiparametrica, e può fornire ulteriori potenzialità per migliorare la segmentazione stessa; tale modalità infatti permette di sfruttare diverse sequenze RM, come ad esempio sequenze T1/T2*-pesate, imaging di perfusione e diffusione (rispettivamente PWI e DWI), nelle quali il valore di un dato pixel appartenente ad un dato tessuto dipende dalla metodica stessa di acquisizione, e fornisce quindi ulteriori informazioni per identificare e classificare il pixel stesso.

In generale, per quanto riguarda gli algoritmi multispettrali, quando si hanno a disposizione immagini diverse, esse possono essere semplicemente inserite in un 'feature space' (spazio delle caratteristiche) multidimensionale [12].

Queste due sotto-categorie finora descritte si dividono a loro volta in altre categorie, riportate di seguito in fig. 3.8.

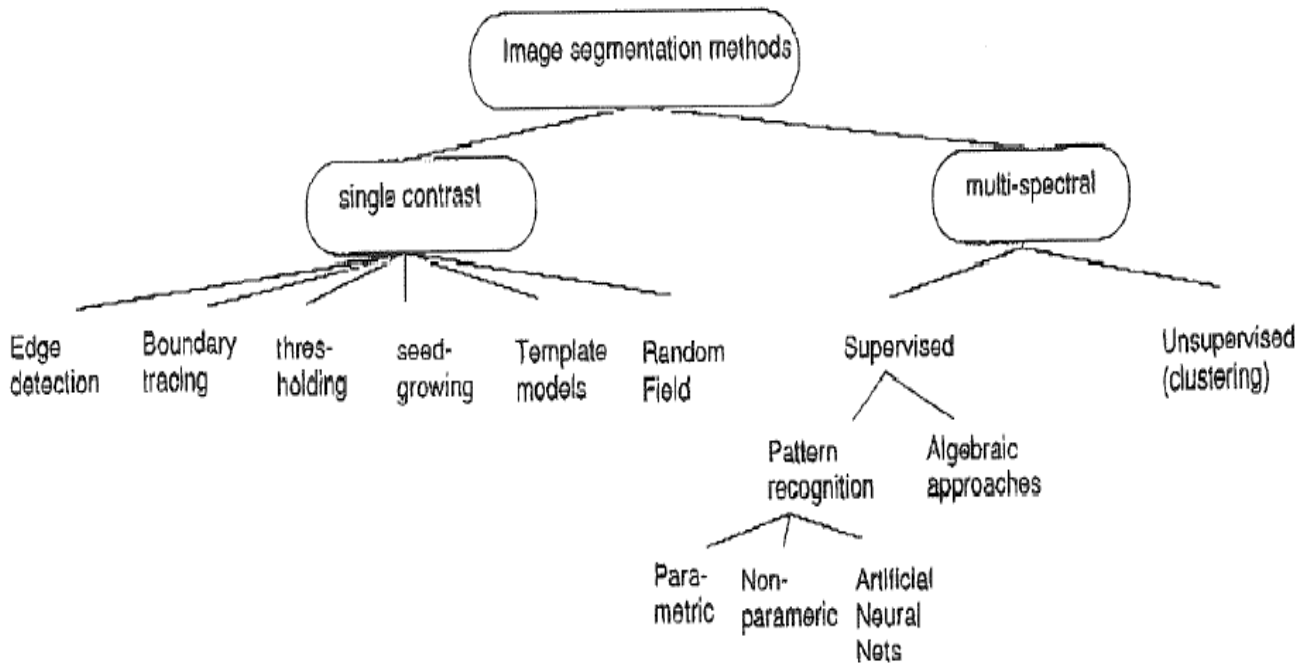


Fig. 2. A classification of segmentation methods in literature.

Fig 3.8 Classificazione dei metodi di segmentazione fornita dalla letteratura scientifica: tratto da [12]

Senza addentrarsi nella descrizione di ciascuna metodica (per ulteriori approfondimenti si consulti [12]) risulta chiaro che, avendo a che fare con immagini RM-T2* multiecho, il nostro campo di ricerca vada ristretto ai metodi multispettrali.

L'approccio più comune di tali metodi è rappresentato dal cosiddetto 'pattern recognition' (riconoscimento di pattern), ovvero nell'identificazione e nell'analisi, all'interno di insiemi di dati grezzi, di strutture/modelli che si ripetono con una certa regolarità e permettono dunque la classificazione dei dati stessi; tali tecniche sono state applicate con successo negli anni in particolare per immagini RM cerebrali, nonostante vi sia ancora molto lavoro da effettuare nell'ambito della validazione [12].

La differenza tra gli algoritmi di tipo 'supervised' ed 'unsupervised' (letteralmente 'supervisionati' e 'non supervisionati') è ampiamente descritta e messa in evidenza nella letteratura, poiché tale distinzione non è univoca per tutti i possibili approcci multispettrali [12].

I metodi parametrici, ad esempio, si basano sull'assunzione di alcune ipotesi di partenza sulla struttura e sulle caratteristiche dei dati da esaminare[12]. Il metodo 'maximum likelihood' (ML, 'massima verosimiglianza') ipotizza ad esempio per i dati distribuzioni gaussiane multivariate; la media e la matrice di covarianza di ciascun tessuto vengono di solito calcolate manualmente dall'operatore utilizzando un cosiddetto 'training set' di pixels, che si ricava solitamente tracciando una ROI

sulle immagini analizzate[12]. I pixels rimanenti vengono in seguito classificati calcolando la 'likelihood' di ciascun tessuto e scegliendo poi il tessuto con la probabilità più elevata[12]. I metodi parametrici sono quindi utili quando le distribuzioni dei dati nelle diverse classi sono ben note a priori, ma ciò non risulta essere spesso il caso delle immagini RM.

I metodi non parametrici, tra cui uno dei più diffusi è il metodo kNN, ('k-Nearest Neighbours') non fanno nessuna ipotesi sulla distribuzione dei dati a priori, ma si affidano solo alla distribuzione dei dati scelti come campioni di 'training'; essi quindi necessitano in egual misura di un intervento esterno dell'operatore, e l'accuratezza e la riproducibilità dei risultati ottenuti risulta dipendente dalla stima iniziale dei 'training sets' [12].

Cercando dunque una corretta generalizzazione, i metodi di segmentazione 'supervised' richiedono un input da parte dell'operatore, che può essere di diversa natura, per poter iniziare la segmentazione, mentre i metodi di tipo 'unsupervised' sono automatici nel senso che un intervento dell'operatore potrebbe essere necessario per completare la segmentazione, mentre il risultato deve essere operatore-indipendente [12].

Considerando dunque la nostra volontà di ricercare un algoritmo di segmentazione automatico, abbiamo potuto restringere ulteriormente il campo di ricerca ad algoritmi di segmentazione multispettrali 'unsupervised', che vengono anche comunemente definiti algoritmi di clustering.

Con il termine cluster si intende, da un punto di vista matematico, un'area ad alta densità all'interno di un 'feature space'; gli algoritmi di clustering riescono dunque a trovare automaticamente le strutture/pattern all'interno del dataset in esame, selezionando e raggruppando dati omogenei in classi distinte.

I metodi 'unsupervised' più frequentemente applicati alle immagini RM includono gli algoritmi K-means e Fuzzy C-means (FCM).

L'algoritmo K-means è un algoritmo di segmentazione a soglia, che associa quindi ogni pixel ad un tipo di tessuto mediante la sua intensità di segnale. La segmentazione a soglia corrisponde a scegliere una o più soglie sull'istogramma dell'immagine e a classificare i pixels mediante tale informazione. In tale algoritmo la scelta della/e soglia/e non viene effettuata manualmente sull'istogramma dell'immagine, ma attraverso procedure opportune che minimizzano l'errore di segmentazione; esso è inoltre un algoritmo di clustering esclusivo, cioè nel quale un singolo dato può appartenere solamente ad un unico cluster.

La procedura richiede la definizione iniziale di un numero di cluster k in cui dividere i dati; si definiscono poi k centroidi, uno per ogni cluster da trovare. La definizione dei centri può essere del tutto casuale, tuttavia è utile adottare alcune accortezze per migliorare la convergenza dell'algoritmo.

A questo punto per ogni dato si calcola la distanza dai centroidi e si associa il dato

al centroide più vicino. Si calcolano in seguito k nuovi centroidi, ottenuti come centro di massa dei cluster ottenuti al passo precedente; a questo punto è possibile ricalcolare la distanza di tutti i dati dai nuovi centroidi e creare così dei nuovi cluster. Iterando il procedimento, si arriverà ad un punto in cui i centroidi si stabilizzano senza cambiare più di posizione. Saremo quindi in una situazione di convergenza dell'algoritmo che fornisce il clustering desiderato.

In modo formale, possiamo definire una funzione obiettivo da minimizzare. Questa funzione è:

$$J = \sum_{j \in \Omega} \sum_{k=1}^C \|y_{jk} - v_k\|^2$$

dove $\|y_{jk} - v_k\|$ è la distanza tra un dato y_j e un centroide v_k . (vengono contate solo le distanze rispetto al centroide più vicino).

Questa funzione obiettivo è un indicatore globale della distanza di tutti i dati dai centri dei rispettivi cluster di appartenenza. La distanza utilizzata può essere una qualsiasi metrica; quando applicato alla segmentazione di bioimmagini, la metrica utilizzata è tipicamente la differenza assoluta o la media quadratica delle differenze dei livelli di grigio.

È possibile dimostrare che l'algoritmo K-means converge sempre, ma non è detto che la configurazione di convergenza sia sempre quella corrispondente ad un minimo assoluto della funzione obiettivo. Poiché lo stato di convergenza dell'algoritmo dipende dalla definizione iniziale dei centroidi, che è casuale, è possibile ripetere il procedimento più volte e prendere tra le varie configurazioni stabili quella dove la funzione obiettivo è minima.

L'algoritmo presenta quindi alcune difficoltà e limitazioni:

- è necessario un algoritmo per inizializzare i centroidi; il metodo più semplice è far coincidere i k centroidi con k campioni scelti a caso dai dati, anche se una scelta migliore è attribuire ad essi i valori tipici per i tessuti attesi nelle immagini da segmentare, se possibile;
- il risultato finale dipende dalle stime iniziali. Questo può essere sfruttato facendo girare più volte l'algoritmo in dipendenza da condizioni iniziali diverse;
- può accadere che un dato cluster si svuoti, e per questo non potrà essere più aggiornato;

- il risultato dipende dalla metrica;
- il risultato dipende dal numero (k) di cluster, che rappresenta l'unico input che viene fornito all'algoritmo dall'operatore.

In generale non esiste un metodo per la stima del numero ottimo di cluster; si può utilizzare un modello (ad esempio nella segmentazione di immagini possiamo conoscere a priori quanti tessuti vogliamo segmentare), oppure si fanno diversi tentativi con k diversi e si cerca di stimare la soluzione migliore.

L'algoritmo Fuzzy C-means (FCM) è invece un algoritmo di clustering non esclusivo (spesso definito anche 'fuzzy clustering'), nel quale cioè un dato può appartenere a più cluster con diversi livelli di appartenenza. La somma dei livelli di appartenenza su tutti i possibili cluster per un dato dovrà essere uguale ad 1.

L'algoritmo Fuzzy C-means quindi generalizza l'algoritmo K-means, consentendo una segmentazione più graduale basata sulla teoria dei set di regole fuzzy.

La teoria degli insiemi fuzzy costituisce un'estensione della teoria classica degli insiemi, poiché per essa non valgono i principi aristotelici di non contraddizione e del terzo escluso. Senza entrare nel dettaglio, la modifica introdotta dalla logica fuzzy è la seguente: quando essa parla di grado di verità o valore di appartenenza intende affermare che una proprietà può assumere, oltre che i valori vera (1) o falsa (0) come nella logica classica, anche valori intermedi. È importante notare che il concetto di appartenenza fuzzy non ha nulla a che vedere con il concetto di probabilità; nella probabilità un'affermazione è vera o è falsa con una certa probabilità, mentre nella logica fuzzy è insieme vera e falsa.

L'algoritmo FCM ha la particolarità dunque di consentire ad un dato di appartenere a più cluster contemporaneamente; tale metodo è basato sulla minimizzazione della seguente funzione obiettivo:

$$J_{FCM} = \sum_{j \in \Omega} \sum_{k=1}^c u_{jk}^m \|y_j - v_k\|^2$$

dove u_{jk} è il grado di appartenenza del dato y_j rispetto al cluster v_k , mentre m è un parametro detto 'fuzzyness' dell'algoritmo, di solito posto pari a 2.

Il partizionamento fuzzy è ottenuto attraverso un'ottimizzazione iterativa della funzione obiettivo, attraverso l'aggiornamento della funzione di appartenenza u_{jk} e dei centri dei cluster; il processo iterativo si ferma quando la differenza tra il valore corrente di u ed il valore precedente è più piccola di una data soglia. La procedura descritta converge dunque ad un minimo locale della funzione obiettivo

J_{FCM} . L'algoritmo FCM presenta gli stessi problemi associati all'algoritmo K-means, con la possibile eccezione dello svuotamento dei cluster che è meno probabile per la natura continua (non più discreta come nel K-means) del processo di ottimizzazione.

L'approccio FCM è di interesse nella segmentazione delle immagini biomediche in quanto consente di tenere conto dell'effetto volume parziale (PVE).

In un'immagine biomedica infatti il segnale di alcuni pixels/voxels sarà dato da 2 o più tessuti che si compenetrano nella stessa regione elementare di spazio nella quale viene misurato il segnale. L'approccio FCM consente di assegnare a tali pixels/voxels un valore di appartenenza distribuito tra i tessuti presenti.

Gli algoritmi K-means e FCM, pur essendo di tipo 'unsupervised', richiedono comunque come input da parte dell'operatore il numero esatto di cluster in cui partizionare i dati, e ciò richiede dunque una conoscenza a priori del numero esatto di tessuti che si intende classificare all'interno delle immagini.

Se tale conoscenza non è esatta oppure non disponibile, si va incontro alle problematiche elencate in precedenza, ottenendo un risultato fortemente dipendente dal numero di cluster scelti, oltre che una segmentazione alle volte non significativa. L'unica soluzione, in assenza di modelli delle immagini da segmentare, è mandare in esecuzione più volte l'algoritmo con un numero di cluster diverso ogni volta, scegliendo poi il valore che porta ad una migliore convergenza, in termini di minimizzazione della OF ('Objective Function')

La conoscenza del numero esatto di tessuti da segmentare è un caso non comune per quanto riguarda le immagini RM, ed in particolare le immagini T2*-multiecho utilizzate nell'ambito di questo lavoro. Nel caso specifico, allo scarso contrasto intrinseco della metodica si aggiunge la variabilità del decadimento T2* dei vari tessuti, che dipende sia dai diversi valori tipici di T2* per i tessuti considerati sia dal fatto che tali decadimenti si velocizzano in caso di accumulo di ferro a livello cardiaco ed epatico (T2* inferiore a 20ms, fino a frazioni di ms), mentre rimangono più lenti nel caso di accumulo non consistente (T2* maggiore di 20ms in un ampio range di valori). Ciò comporta spesso immagini in cui risulta impossibile, o comunque molto difficile, individuare a priori il numero esatto dei tessuti ed inizializzare correttamente il valore dei rispettivi centroidi.

Da tutto ciò si può comprendere come l'algoritmo K-means o quello FCM possano considerarsi come un punto di partenza per la ricerca di algoritmi di segmentazione con caratteristiche simili, ma che non possano assolutamente costituire una soluzione corretta ed esaustiva per la segmentazione automatica delle immagini RM T2*-multiecho in esame.

3.4.1 Principali campi di applicazione clinica

Dalla ricerca bibliografica effettuata, i principali campi di applicazione clinica in cui vengono impiegati algoritmi di segmentazione di dataset MRI multispettrali che soddisfano i requisiti fino ad ora descritti sono i seguenti :

1. identificazione e caratterizzazione dei tumori maligni della mammella, con differenziazione delle lesioni maligne da quelle benigne e dai tessuti sani, superando le limitazioni di altri metodi comunemente usati, come la mammografia e gli US;
2. misurazione dei livelli di atrofia cerebrale globale in pazienti affetti da Alzheimer, mediante misurazione dei volumi assoluti e frazionari di materia bianca, materia grigia e fluido cerebrospinale;
3. Identificazione e caratterizzazione delle lesioni cerebrali in seguito ad ictus, in maniera indipendente dal tempo e con la stessa precisione delle metodiche di imaging considerate il 'gold standard' per ciascuna fase post-ictus, da quella acuta fino a quella cronica.

Tali studi sono stati finalizzati a generare una scala di gradazioni del danno cerebrale in tutte le varie fasi temporali successive all'ictus, oltre a mostrare una eterogeneità delle lesioni ischemiche, che può agire come guida per valutare vitalità e potenziale di recupero dei tessuti danneggiati, in grado di fornire un aiuto determinante nella selezione di pazienti da poter sottoporre con successo alle opportune terapie acute post-ictus.

Molte di queste metodiche sono state validate sugli animali (nello specifico sui ratti) dopo un confronto con le metodiche di imaging da sempre considerate il 'gold standard' per le varie fasi post-ictus ed un confronto con le evidenze istopatologiche, mentre altre metodiche sono state applicate con successo su pazienti umani, anche se in questi casi ancora molto lavoro resta da fare nell'ambito della validazione.

Le caratteristiche comuni a tutti questi ambiti clinici sono quelle di usare come dati di input per la segmentazione immagini RM multispettrali e di utilizzare frequentemente come algoritmo di segmentazione un algoritmo (con le dovute varianti e modifiche ad-hoc) che prende il nome di ISODATA , acronimo di 'Iterative Self-Organizing Data Analysis Technique', che verrà descritto esaurientemente nel prossimo capitolo.

Per quanto riguarda il punto n°1, molti regimi di trattamento sono attualmente impiegati con efficacia nella cura del cancro al seno quando la sua diagnosi è precoce, basti pensare alla mastectomia o alla chemio-prevenzione [14]; la diagnosi

precoce è dunque un punto chiave nella cura di questi tumori, ed uno degli strumenti comunemente usati per lo screening e la diagnosi precoce è la mammografia. Nonostante l'elevata sensibilità (70-90%, [15-17]), la mammografia possiede una specificità limitata (32-64%) e spesso non è in grado di distinguere le lesioni maligne da quelle benigne; inoltre circa il 10% dei tumori della mammella non viene rilevato mediante mammografia [18-20], spesso a causa del denso tessuto fibrogliandolare che può oscurare la visualizzazione delle masse tumorali. Un'altra tecnica molto usata è l'imaging US, impiegato in combinazione con la valutazione diagnostica delle masse palpabili per la differenziazione fra cisti e masse solide. L'imaging US è tuttavia soggetto ad un'elevata variabilità intra ed inter-osservatore, e la diagnosi risultante è molto dipendente dall'interpretazione personale delle ecografie [21].

L'imaging RM si è dimostrato promettente nella rilevazione e classificazione dei tumori al seno; i primi studi, i quali utilizzavano solo immagini T1W e T2*W, avevano raggiunto risultati insufficienti, ma l'acquisizione di immagini dopo la somministrazione di mezzo di contrasto (gadolinio) ha migliorato gli esiti di tale metodica, portando la sensibilità dell'imaging RM fino al 100% ma mantenendo una specificità variabile [14]. Per il tessuto mammario, ad esempio, il grado di 'enhancement' dei fibroadenomi ottenuto tramite immagini LGE può sovrapporsi con quello delle lesioni maligne [22-24].

Al fine di accrescere la specificità dell'imaging RM, alcuni studi hanno cominciato ad utilizzare anche modalità di imaging in perfusione e in diffusione (PWI, DWI), in grado di rilevare alterazioni microscopiche del contenuto d'acqua nei tessuti molli [25-27].

Ad ogni modo, è possibile affermare che una singola immagine RM (o meglio un singolo parametro RM) non è in grado di caratterizzare la complessità del tessuto mammario; di conseguenza, sono stati in seguito adottati approcci multiparametrici in grado di fornire un dataset esaustivo e con una maggiore potenzialità nella diagnosi del cancro al seno rispetto ad una singola misurazione. Uno studio recente ([14]) ha utilizzato un dataset RM multiparametrico, costituito da immagini T1W, T2W, T1-IR pre e post-somministrazione di gadolinio, per ottenere una segmentazione del tessuto mammario impiegando l'algoritmo ISODATA. Sono state poi impiegate immagini ²³Na-MR e MRS per risolvere casi equivoci nella diagnosi delle lesioni mammarie sui risultati ottenuti dalla segmentazione.

Tale studio ha coinvolto 59 pazienti di sesso femminile, con età compresa tra 18 e 80 anni, sottoposti a valutazione MRI dopo diagnosi di tumore realizzata mediante mammografia, US e valutazione clinica delle masse palpabili.

L'algoritmo ISODATA si è dimostrato in grado di differenziare i tessuti sani da quelli abnormali, ed ha inoltre differenziato il tessuto adiposo da quello

ghiandolare.

Altri tentativi di migliorare la specificità dell'imaging RM nella diagnosi del cancro al seno usando tecniche 'computer-aided' (CAD) sono stati effettuati e sono riportati in letteratura, ed includono misure statistiche basate su segmentazioni semi-automatiche [28-29], analisi delle curve di assorbimento dei materiali di contrasto[30-32] e analisi di reti neurali [33].

Un ulteriore studio ([34]) ha utilizzato anch'esso un approccio multiparametrico (da qui in seguito abbreviato per comodità con MP), utilizzando il medesimo dataset di immagini impiegato nello studio precedentemente descritto.

L'idea alla base di tale studio è stata la stessa, e cioè ipotizzare che misure quantitative di diverse intensità di segnale RM tra loro combinate possano fornire una differenziazione automatica dei diversi tessuti (ghiandolare, adiposo, lesione benigna e maligna). Ogni singola tipologia di immagine è in grado infatti di evidenziare caratteristiche specifiche; ad esempio l'imaging T1W fornisce una chiara separazione visuale fra grasso ed il tessuto ghiandolare, l'imaging T2W permette di identificare strutture riempite di fluido come le cisti, mentre il dataset 3D-LGE aiuta nella rivelazione delle lesioni maligne.

Se assumiamo che ogni tessuto possieda un'intensità di segnale caratteristica su ciascun tipo di immagine, ogni tessuto formerà un cluster nello spazio delle 'features', il cui asse delle ascisse rappresenterà l'intensità del segnale di tale tessuto su quella tipologia di immagine RM. Il centroide di ogni cluster può essere quindi descritto da un vettore, detto 'tissue signature vector', calcolato come intensità media del segnale di tutti i pixels che sono identificati come appartenenti ad un dato tessuto su ogni singola immagine. Il centroide di ciascun cluster sarà dunque descritto da un vettore:

$$S = [S_1, S_2, \dots, S_k]$$

dove S_k è l'intensità media del tessuto in esame sull'immagine k-esima del dataset MP.

Lo studio descritto in [34] ha coinvolto 36 pazienti; il dataset MP è stato anche in questo caso analizzato utilizzando l'algoritmo ISODATA, mentre l'imaging è stato seguito da biopsia o mastectomia per l'analisi istopatologica.

Anche in questo caso tale segmentazione ha permesso di identificare con successo le lesioni maligne, distinguendole da quelle benigne e dai tessuti sani, per tutti i pazienti coinvolti nello studio, riconoscendo correttamente 18 tumori benigni e 18 maligni. Un esempio grafico della segmentazione realizzata in tali studi viene fornito in fig. 3.9

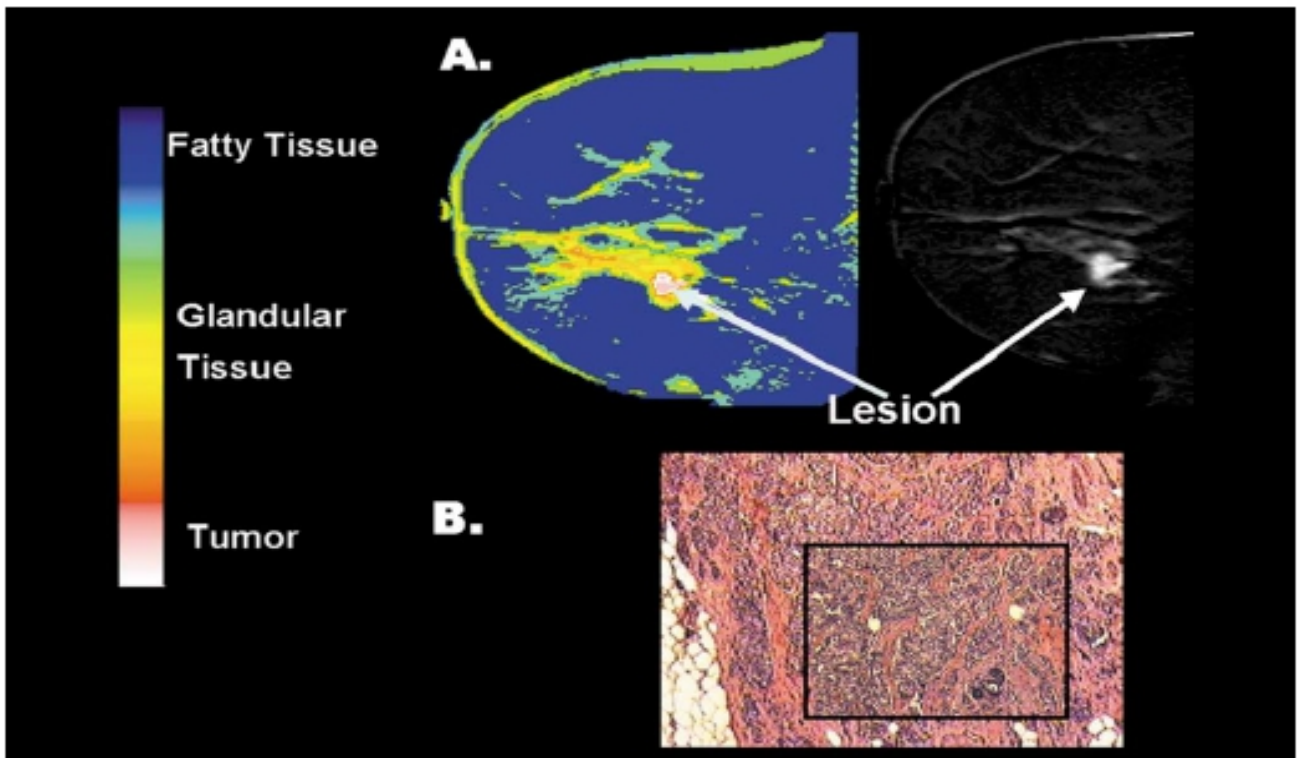


Fig 3.9 A- Esempio di segmentazione realizzata con ISODATA e confronto con immagine T1W sagittale per una paziente con carcinoma duttale infiltrante confermato da analisi istologica; B-microfotogramma ingrandito della regione mammaria identificata come carcinoma (regioni bianche e rosa in A). Tratto da [14]

Per quanto riguarda il punto n° 2, alcuni studi condotti sull'Alzheimer sono stati indirizzati a ricercare una correlazione tra il grado di severità della malattia (ed il relativo deficit cognitivo) con i volumi di materia grigia (GM, 'Gray Matter'), materia bianca (WM, 'White Matter') e di fluido cerebrospinale (CSF).

Come infatti risaputo l'Alzheimer è la causa più frequente di demenza, associata con una progressiva atrofia cerebrale, che viene valutata soggettivamente da neuroradiologi con test cognitivi e tramite un'analisi visuale delle immagini RM [35]. Tuttavia, una valutazione visuale del grado di atrofia cerebrale è difficilmente standardizzabile e fortemente dipendente dall'esperienza dell'osservatore; ciò comporta dunque elevate variabilità intra ed inter-osservatore [35]. Per ovviare a tali problematiche è dunque conveniente adottare dei metodi per una valutazione quantitativa del livello di atrofia cerebrale in grado di rispecchiare correttamente lo stato mentale del paziente [35].

In uno di questi studi ([35]) 16 pazienti affetti da tale malattia (secondo i criteri NINDS-ADRDA , per ulteriori approfondimenti si consulti [36]), con età compresa tra 56 e 78 anni, sono stati sottoposti ad uno studio per la valutazione dei volumi assoluti e frazionari di WM, GM e CSF utilizzando un dataset MRI-MP costituito da immagini T1W, T2W (acquisite con sequenze spin-echo) e da

immagini PDW ('Proton Density Weighted').

Tali misurazioni sono state poi confrontate con i risultati ottenuti tramite una valutazione cognitiva effettuata da neuroradiologi, secondo le seguenti scale di punteggio :

1. BSD, 'Blessed Dementia Scale' [37];
2. MMSES, 'Mini-Mental Status Examination Scale' [38];
3. GDS, 'Global Deterioration Scale' [39];
4. HDS , 'Hamilton Depression Scale' [40].

Lo scopo di tutto ciò è stato dunque ricercare eventuali evidenze messe a nudo tramite l'imaging RM, cercando in seguito una correlazione tra tali evidenze e le valutazioni cognitive effettuate.

Per il calcolo dei volumi precedentemente citati, il dataset di immagini è stato sottoposto ad una segmentazione di tipo 'unsupervised' applicata a dati multispettrali. Confrontate con soggetti normali, i compartimenti cerebrali analizzati nei pazienti hanno mostrato frazioni medie ridotte di GM ($-6,84 \pm 1,58\%$) e WM ($-9,79 \pm 2,47\%$) e frazioni aumentate di CSF ($+58,80 \pm 10,37\%$), con variazioni più evidenti nei pazienti più giovani [35].

La valutazione quantitativa di atrofia cerebrale ottenuta tramite tali misure di volume si è rivelata altamente correlata con i punteggi attribuiti ai vari test cognitivi per tutti i pazienti sotto esame. Le immagini sottostanti mostrano rispettivamente:

- 1) i risultati ottenuti per ciascun paziente, sia in termini di misure volumetriche ottenute tramite segmentazione che in termini di 'scores' attribuiti ai test cognitivi secondo le diverse scale (fig. 3.10);
- 2) La correlazione tra differenze volumetriche ed i valori di punteggio, ottenuta tramite analisi di regressione lineare (fig. 3.11). Si noti che i valori di controllo (ovvero quelli per soggetti non malati) sono stati ricavati tramite analisi di regressione lineare su una popolazione di 55 soggetti sani.

Table 1
Clinical Data, Segmentation Data, Linear Measurements, and Cognitive Test Scores in the 16 AD Patients*

Age (yr)	Sex	ICV	GMf	WMf	CSFf	EI	MMSE	GDS	BDS	HDS	Years
56	M	1188.5	0.451	0.298	0.251	0.300	4.0	6.0	20.0	4.0	5.5
56	F	1191.4	0.415	0.301	0.284	0.300	4.0	6.0	19.5	6.0	4.5
57	M	1168.1	0.482	0.307	0.211	0.260	23.0	4.0	13.5	3.0	3.5
59	M	1315.5	0.428	0.337	0.235	0.330	11.0	5.0	13.5	3.0	7.0
60	M	1358.3	0.404	0.362	0.234	0.310	13.0	5.0	10.5	4.0	4.5
61	F	1148.5	0.437	0.357	0.207	0.270	20.0	4.0	7.0	5.0	1.5
62	M	1269.4	0.454	0.315	0.231	0.310	18.0	3.0	7.0	3.0	1.5
64	F	1426.5	0.382	0.325	0.293	0.310	11.0	5.0	15.0	4.0	2.5
64	M	1323.4	0.451	0.404	0.145	0.280	20.0	4.0	7.0	10.0	4.0
64	F	981.8	0.424	0.419	0.157	0.270	18.0	5.0	9.0	4.0	1.0
73	M	1296.5	0.453	0.352	0.195	0.210	23.0	4.0	9.0	6.0	4.0
73	M	1462.2	0.459	0.342	0.199	0.260	18.0	4.0	5.5	4.0	2.0
74	F	1079.2	0.444	0.405	0.151	0.250	23.0	4.0	5.5	2.0	5.0
76	M	1434.6	0.430	0.391	0.179	0.300	12.0	5.0	14.0	4.0	4.0
78	F	1203.3	0.470	0.351	0.178	0.270	19.0	4.0	4.0	0.0	1.0
78	M	1365.9	0.395	0.367	0.238	0.270	22.0	3.0	7.0	2.0	3.5

*ICV = intracranial volume, GMf = gray matter fraction (GM/ICV), WMf = white matter fraction (WM/ICV), CSFf = cerebrospinal fluid fraction (CSF/ICV), EI = Evans index (frontal horns/inner skull diameter linear ratio), MMSE = Mini-Mental State Examination, GDS = Global Deterioration Scale, BDS = Blessed Dementia Scale, HDS = Hamilton Depression Scale, Years = duration of the disease (interval between clinical onset and MRI scan).

Fig 3.10 Dati clinici, dati ottenuti con la segmentazione e punteggi ottenuti nei vari test cognitivi per i pazienti esaminati; tratto da [35]

Table 2
Linear Regression Analysis of MR-Derived Measurements vs. Cognitive Test Scores*

	CSFf	Δ CSFf	GMf	Δ GMf	WMf	EI	Δ EI
MMSE							
P	0.008	0.004	0.150	0.035	0.068	0.002	0.001
R	0.637	0.673	0.377	0.529	0.467	0.715	0.734
GDS							
P	0.111	0.060	0.274	0.078	0.312	0.110	0.071
R	0.414	0.480	0.291	0.454	0.270	0.415	0.463
BDS							
P	0.007	0.002	0.301	0.062	0.026	0.059	0.031
R	0.649	0.709	0.276	0.477	0.553	0.481	0.540
HDS							
P	0.742	0.993	0.847	0.525	0.603	0.851	0.968
R	0.089	0.002	0.523	0.172	0.141	0.051	0.011

*CSFf = cerebrospinal fluid fraction (CSF/ICV), Δ CSFf = observed CSFf – expected CSFf in a normal subject of corresponding age, according to the regression analysis in the normal population, GMf = gray matter fraction (GM/ICV), Δ GMf = observed GMf – expected GMf in a normal subject of corresponding age, according to the regression analysis in the normal population, WMf = white matter fraction (WM/ICV), EI = Evans Index, Δ EI = observed EI – expected EI in a normal subject of corresponding age, according to the regression analysis in the normal population, MMSE = Mini-Mental State Examination, GDS = Global Deterioration Scale, BDS = Blessed Dementia Scale, HDS = Hamilton Depression Scale.

Fig 3.11 Misure di correlazione tra dati derivanti dalla segmentazione e scores cognitivi; tratto da [35]

Da tali tabelle si nota chiaramente la stretta dipendenza delle variazioni nei volumi di WM,GM e CSF rispetto ai pazienti normali con il grado di severità della patologia, in particolare rispetto alle scale MMSE e BSD.

La figura 3.12 mostra invece da un punto di vista visivo l'evidenza nelle differenze volumetriche tra un soggetto normale ed uno affetto da Alzheimer; in tale immagine i tessuti identificati dalla segmentazione sono indicati con i colori blu (CSF), grigio (GM) e bianco (WM), mentre i pixel di colore verde rappresentano frazioni di GM con alto contenuto di minerali.

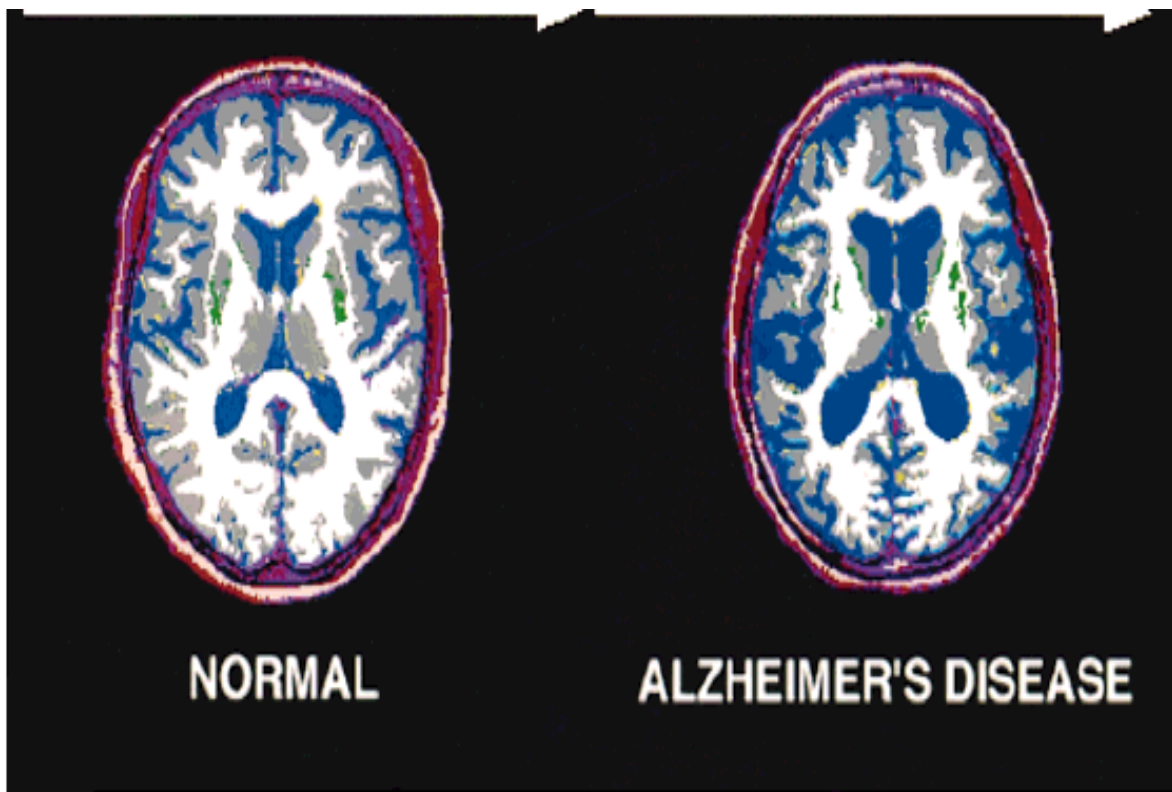


Fig 3.13 Confronto della segmentazione effettuata su un paziente sano ed uno affetto da Alzheimer; tratto da [35]

In fig. 3.14 si riportano infine gli scatterplots e la retta di regressione lineare per ciascuno dei volumi misurati sui 16 pazienti in esame e sul gruppo di controllo.

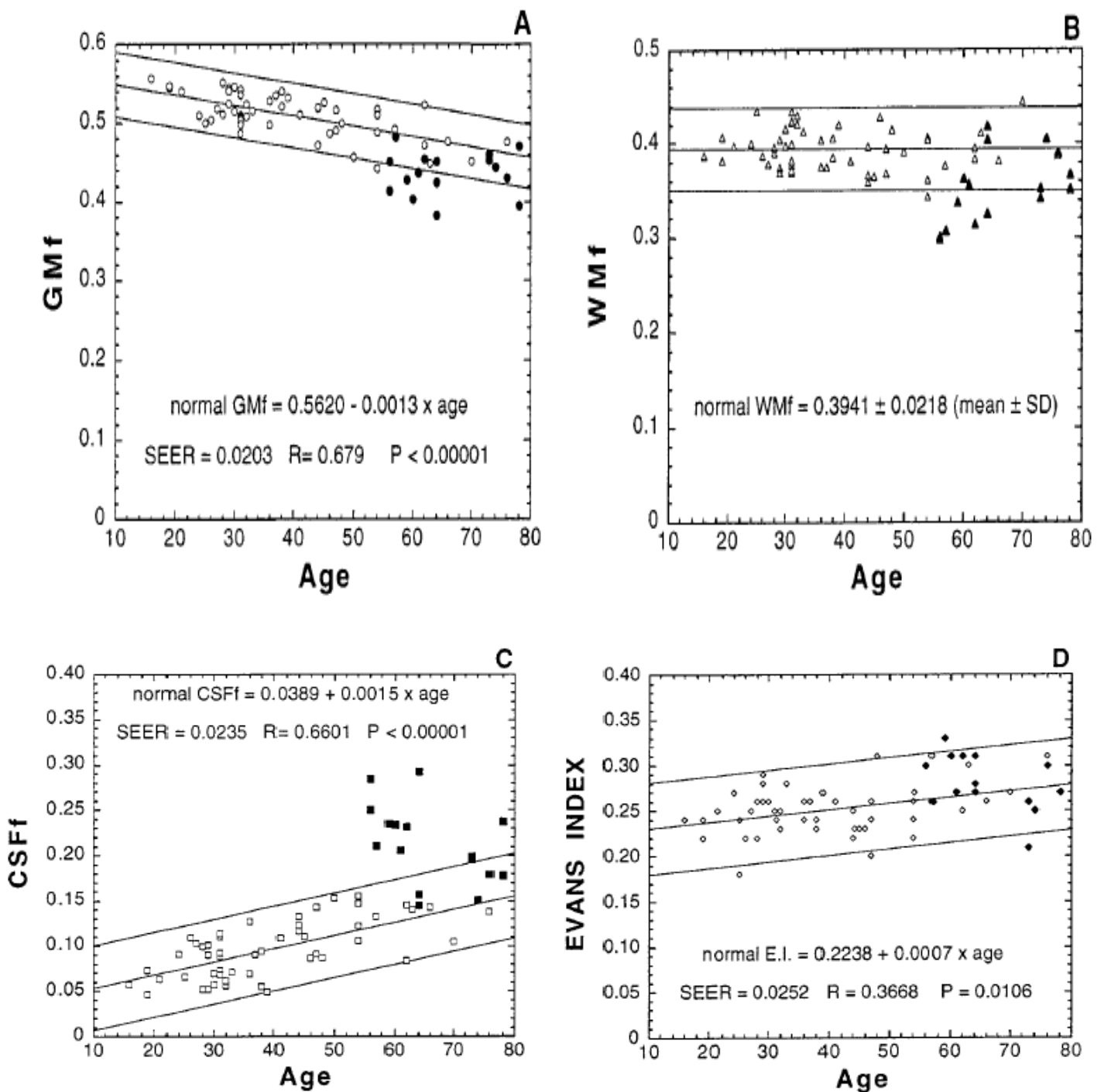


Figure 2. Scatterplots of GMf (A), WMf (B), CSFf (C), and EI (D) in AD patients and in 55 normal subjects vs. age. Empty symbols represent normal controls, and full symbols represent AD patients. For normal controls, regression line and limits including ± 2 standard errors of the regression line (SEER) are shown for GMf, CSFf, and EI (regression equations with R and P values are also reported). Since no significant correlation with age was demonstrated for normal WMf, mean value and limits including ± 2 SD are shown for this parameter. For AD patients, the scatterplots show 7/16 GMf and WMf values below the normal range and 11/16 CSFf values above the normal range. EI was abnormally high only in one case.

Fig 3.14: Scatterplots dei valori di GM, WM e CSF nei pazienti malati e nel gruppo di controllo, rispetto all'età; tratto da [35]

Il punto n° 3 rappresenta l'ambito clinico in cui è probabilmente disponibile la maggiore letteratura; esso riguarda l'applicazione di algoritmi di segmentazione a diversi dataset MRI-MP per l'identificazione delle lesioni cerebrali in seguito ad ictus. Esso si è dimostrato anche l'ambito di maggior applicazione dell'algoritmo di segmentazione ISODATA.

Ad oggi sono presenti numerose pubblicazioni in letteratura che descrivono la natura multispettrale dei dati MRI e il loro legame con l'identificazione dei vari tessuti cerebrali, ed altrettante pubblicazioni prendono in esame i numerosi algoritmi di segmentazione applicati.

Ad esempio, è noto che il coefficiente di diffusione apparente dell'acqua (ADC, 'Apparent Diffusion Coefficient') estratto da immagini di diffusione (DWI) sia molto utile nella diagnosi precoce dell'ictus e sia in grado di identificare il danno ischemico a livello cellulare; esso tuttavia richiede una finestra temporale di impiego molto ristretta e un'esatta conoscenza dello stato di progressione dell'ictus[41]. Le immagini T1 e T2 pesate invece esibiscono differenti profili temporali rispetto all' ADC; i valori di T2 forniscono informazioni legate al contenuto di acqua intra ed extra-cellulare, alla presenza di sangue ossigenato e di edemi vasogenici nel tessuto cerebrale, mentre i valori di T1 invece crescono all'aumentare della distruzione cellulare ed in caso di edema ed infiammazione [41]. Inoltre, mentre i valori di T2 e T1 esibiscono una crescita ritardata in seguito all'ictus, i valori di ADC possono pseudonormalizzarsi con l'avanzare dalla fase acuta a quella cronica [41].

Partendo dagli studi effettuati e validati sugli animali (in particolari i ratti), alcuni di essi hanno cercato di identificare e caratterizzare le lesioni ischemiche rispetto ai tessuti cerebrali non danneggiati nelle varie fasi successive all'ictus.

Dopo l'ictus infatti, i tessuti cerebrali sono soggetti ad alterazioni patologiche eterogenee e tempo-dipendenti; tali tessuti possiedono caratteristiche nell'imaging RM le quali permettono una differenziazione fra tessuti ischemici e non ischemici [42]. Oltre a ciò, la segmentazione di immagini RM è in grado di mostrare zone diverse all'interno dell'area ischemica, le quali riflettono l'eterogeneità del danno tissutale [42]

Utilizzando un dataset MP-MRI, algoritmi di segmentazione come il k-means e il fuzzy c-means potrebbero sembrare in prima analisi adatti ad effettuare il clustering dei tessuti in esame (materia bianca, grigia, fluido cerebrospinale e tessuto ischemico); tuttavia tali metodi presuppongono una conoscenza a priori del numero esatto di tessuti da identificare, cosa che normalmente non può essere nota durante l'evoluzione temporale dell'ischemia, la quale è eterogenea e strettamente dipendente dal tempo [42].

Risulta quindi necessario un algoritmo in grado di aggiustare automaticamente il numero di clusters desiderati, come si è dimostrato appunto l'algoritmo ISODATA.

Ipotizzando, come nei casi descritti in precedenza, che ogni tessuto cerebrale esibisca intensità di segnale RM distinte in ciascuna tipologia di immagine acquisita, sono stati sviluppati modelli di 'tissue signature' in grado di distinguere i vari tessuti tramite l'uso dei già citati vettori ('pixels vectors'), ossia vettori che contengono il valore del pixel in esame in tutte le immagini che formano il dataset. In uno di questi studi ([42]) in 20 ratti di razza Wistar di sesso maschile è stato indotto un ictus tramite occlusione dell'arteria media cerebrale (MCA); tali animali sono stati in seguito classificati in base al tempo trascorso dalla comparsa dell'ictus alla loro uccisione :

- fase acuta : dalle 4 alle 8 ore;
- fase subacuta : dalle 16 alle 24 ore;
- fase cronica : dalle 48 alle 168 ore.

L'uccisione degli animali è stata necessaria per la validazione dei risultati ottenuti con la segmentazione tramite il confronto con i corrispondenti campioni istologici. Gli animali sono stati sottoposti ad imaging RM, utilizzando un magnete superconduttore a 7T, e il dataset acquisito è stato formato da 2 T2WI, 1 T1WI e 2 DWI, risultando dunque in un 'features space' 5-D.

L'algoritmo ISODATA è stato capace di rilevare una gradazione del danno tissutale ad ogni istante temporale analizzato e con un elevato grado di correlazione con le misure istologiche; ciò è stato possibile solo usando il dataset MP indicato, mentre una scarsa correlazione o un'assenza di correlazione è stata dimostrata usando immagini singole o dataset di dimensioni ridotte.

La fig 3.15 e 3.16 mostrano un confronto tra le lesioni individuate tramite il processo di segmentazione e le corrispondenti sezioni istologiche, per 2 animali rispettivamente in fase acuta e cronica(4-8 h vs 48-168h); vale la pena notare che i tessuti sani sono contenuti nelle regioni controlaterali (denotate con C1,C2 e C3) mentre il danno ischemico si trova nelle regioni laterali (L1,L2,L3).

Si riportano inoltre ingrandimenti ottenuti al microscopio ottico delle varie regioni, che evidenziano la presenza/assenza del danno cellulare nelle regioni stesse.

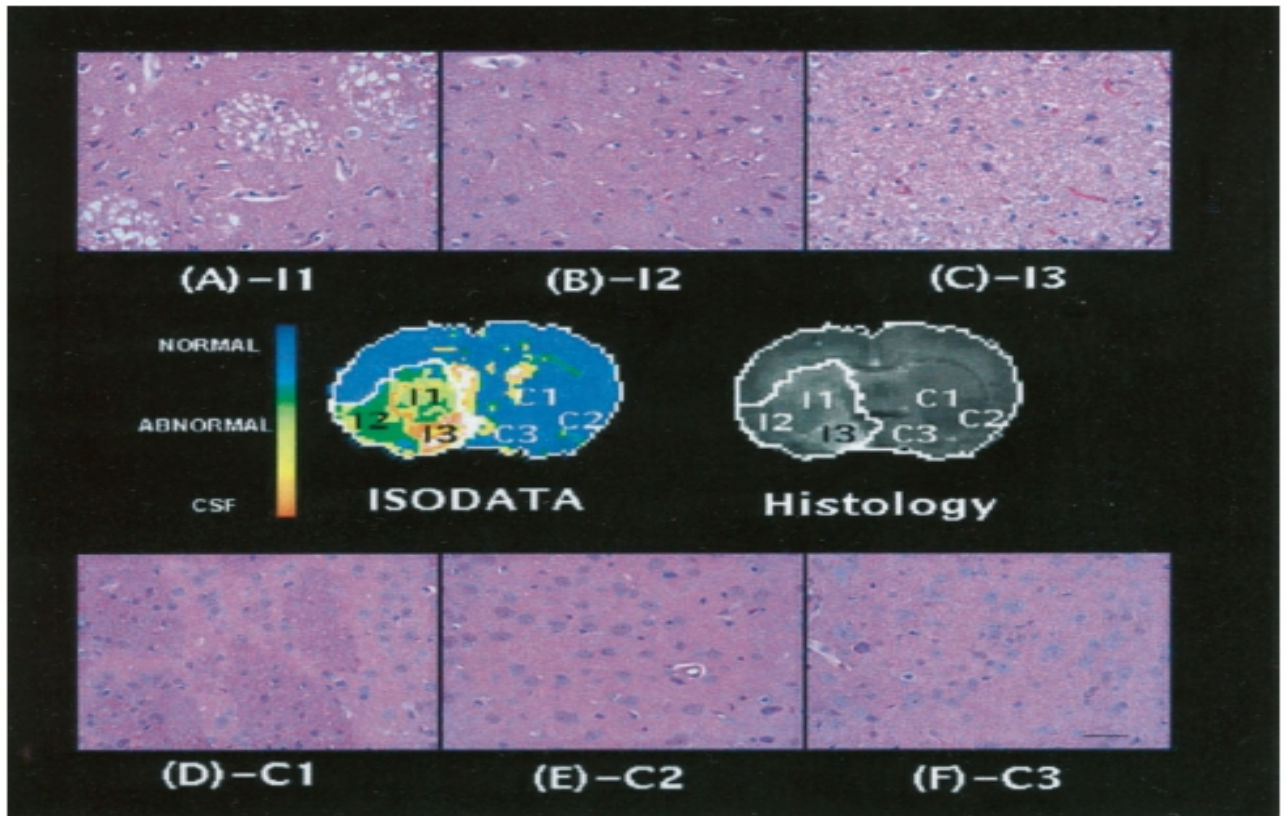


Fig 3.15 Confronto tra risultati della segmentazione ISODATA con le evidenze istopatologiche per un paziente in fase acuta ; si riportano anche ingrandimenti al microscopio delle varie regioni cerebrali. Tratto da [42]

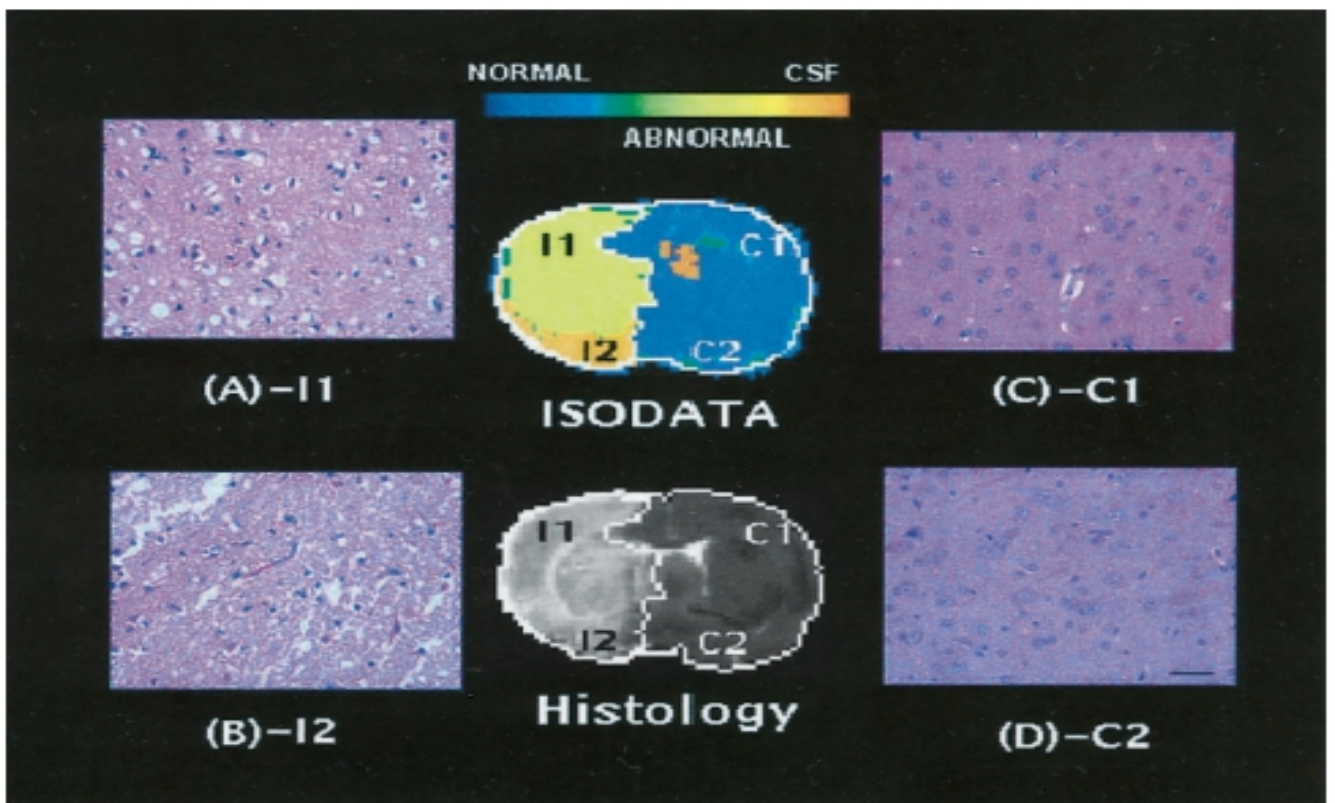


Fig 3.16 Confronto tra risultati della segmentazione ISODATA con le evidenze istopatologiche per un paziente in fase cronica; si riportano anche ingrandimenti al microscopio delle varie regioni cerebrali. Tratto da [42]

Altri studi, nel tentativo di aumentare l'obiettività e di automatizzare ulteriormente l'algoritmo ISODATA, hanno utilizzato come dati di input per tale segmentazione le mappe parametriche (mappe T1, T2 e ADC) ricavate dalle varie immagini RM invece che le immagini stesse.

In uno di tali studi ([41]), in 35 ratti Wistar è stato indotto ictus embolico ; successivamente tali animali sono stati suddivisi in 5 gruppi ; i primi 3 erano gruppi di controllo, trattati con soluzione salina ed uccisi rispettivamente 6, 24 e 48 ore dopo l'insorgenza dell'ictus. Il 4° gruppo è stato trattato con rtPA ('recombinant tissue plasminogen activator', attivatore tissutale ricombinante del plasminogeno) ed ucciso 24h post-ictus, mentre il 5° ed ultimo gruppo è stato trattato con rtPA in combinazione con 7E3(ab')₂, un anticorpo che blocca la glicoproteina GP IIb/IIIa e che viene usato per la sua azione trombolitica.

Il dataset MP-MRI utilizzato è stato formato dalle mappe parametriche ricavate da 2 DWI, 2 T2WI ed una T1WI; tali mappe sono state state utilizzate come input per la segmentazione tramite algoritmo ISODATA. I risultati ottenuti usando come input le mappe parametriche hanno dimostrato ancora una volta l'elevata correlazione tra i risultati della segmentazione e le misure effettuate sui campioni istologici corrispondenti, sia in termini di area e dislocazione delle lesioni che di severità delle stesse, e la capacità di riconoscere tali lesioni in maniera indipendente dal tempo.

I risultati hanno inoltre dimostrato come l'utilizzo della terapia combinata rtPA e 7E3(ab')₂ abbia diminuito notevolmente le dimensioni del tessuto infartuato rispetto agli animali appartenenti ai gruppi di controllo; è stata quindi testata la capacità dell'algoritmo ISODATA di identificare il danno ischemico in presenza o meno di eventuali trattamenti terapeutici.

La fig. 3.17 mostra i risultati della segmentazione ottenuti sui vari gruppi e il relativo confronto con la corrispondente sezione istologica; in queste immagini il CSF viene rappresentato in bianco, la materia grigia in nero, i tessuti con elevato danno ischemico con colori dal giallo al rosa mentre quelli con danno lieve con colori da blu al verde.

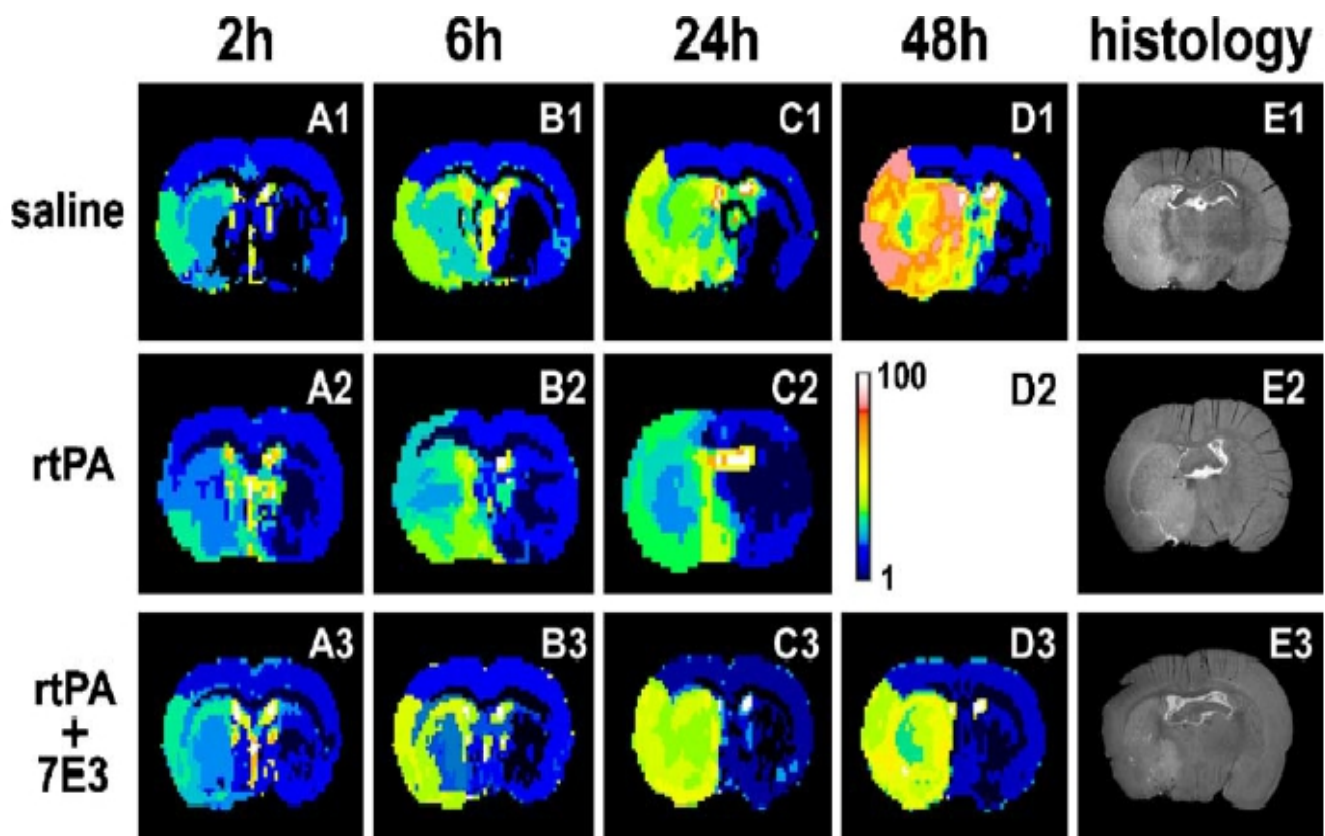


Fig 3.17 Confronto dei risultati della segmentazione per i vari gruppi e per i vari intervalli di tempo post-ictus, e confronto con le corrispondenti sezioni istologiche. Tratto da [41]

La fig 3.18 mostra invece la correlazione, ottenuta tramite analisi di regressione lineare, tra le misure ottenute con ISODATA e la conta delle cellule danneggiate effettuata sui campioni istologici.

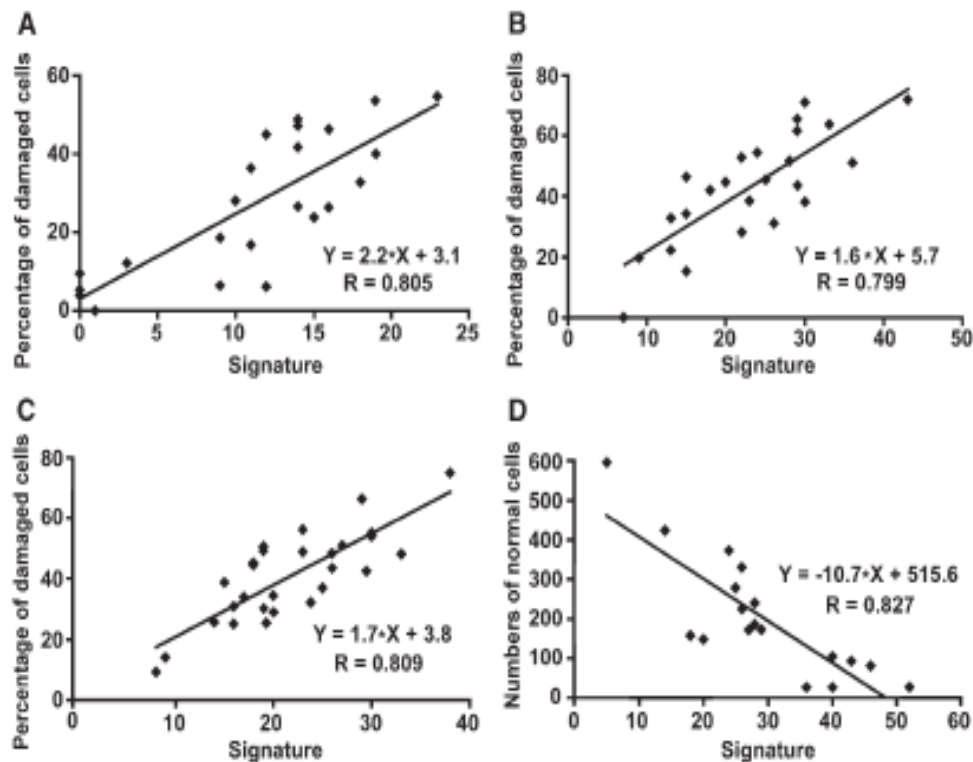


Fig. 1 – Correlation between the signatures of map ISODATA and the counting of damaged cell on histological sections (H&E) obtained at 6 h after onset of stroke for saline-treated animals (A). The linear correlation coefficient is $R = 0.805$ ($P < 0.0001$). For animals sacrificed at 24 h post-embolism, the correlation coefficients are $R = 0.799$ ($P < 0.0001$) and $R = 0.809$ ($P < 0.0001$) for saline-treated (B) and rtPA-alone-treated (C) animals, respectively. With an alternative cell counting (MAP₂), panel D presents the results of direct count of normal neurons at 48 h after onset of embolic stroke for both control animals and combination-treated animals with rtPA and 7E3 F(ab')₂. The correlation coefficient is $R = 0.827$ ($P < 0.0001$) between the numbers of normal neurons and the ISODATA signatures.

Fig 3.18 Correlazione fra le misure ottenute con la segmentazione ISODATA e la conta delle cellule danneggiate ottenuta sui corrispondenti campioni istologici. Tratto da [41]

Altri studi ancora hanno deciso di confrontare direttamente i risultati ottenuti tra una segmentazione effettuata impiegando mappe parametriche ed una effettuata con immagini di vario tipo; tali risultati sono stati poi a loro volta confrontati con i campioni istopatologici.

In uno di questi studi ([43]), in 18 ratti Wistar è stato indotto un ictus embolico, e tali ratti sono stati suddivisi in 2 soli gruppi di eguali dimensioni; gruppo di controllo e gruppo trattato con rtPA. I dataset utilizzati come input per la segmentazione mediante algoritmo ISODATA sono stati in questo caso 2 :

1. 2 DWI , 2 T2WI, 1 T1WI (5 immagini in totale) ;
2. 3 mappe parametriche ; T1, T2 e ADC_w (la 'w' a pedice sta per 'water')

I risultati ottenuti sono stati del tutto coerenti con gli studi precedentemente menzionati, ma in questo caso sono stati condotti test 't- paired' (a coppie) tra i

risultati della segmentazione ottenuti su ciascun campione usando mappe e immagini, per valutare l'eventuale presenza di una differenza significativa tra le 2 tipologie di misura. Sono stati inoltre calcolati, per lo stesso scopo, i Bland-Altman plots; tali grafici hanno mostrato che entrambe le metodiche possiedono una differenza rispetto al riferimento fornito dalla misura istologica, ma che le misure ottenute usando le mappe parametriche possiedono una differenza minore e un minor coefficiente di ripetibilità (CR).

La fig 3.19 mostra i risultati dei Bland-Altman plots appena citati .

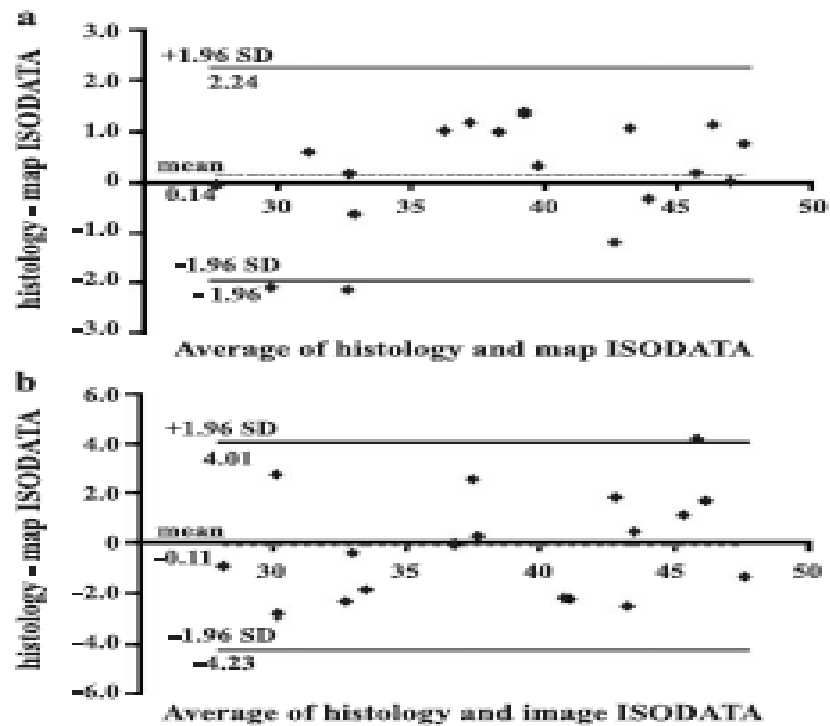


Fig. 3. The Bland-Altman plots of histological measurement versus map ISODATA method (a), and histological measurement versus image ISODATA method (b) on measuring ischemic lesion size. The plots show that both biases of map and image ISODATA methods are small (0.14 and -0.11), and map ISODATA has smaller coefficient of repeatability (CR), 2.10, than image ISODATA, 4.12. This result suggests that map ISODATA be more repeatable than image ISODATA.

Fig 3.19 Bland-Altman plot delle misure istologiche rispetto alle misure ottenute tramite ISODATA, usando rispettivamente immagini RM e mappe parametriche. Tratto da [43]

La figura 3.20 mostra invece un esempio di immagini e mappe RM usate (rispettivamente prima e seconda riga), con le relative segmentazioni e il confronto con la sezione istologica (ultima riga).

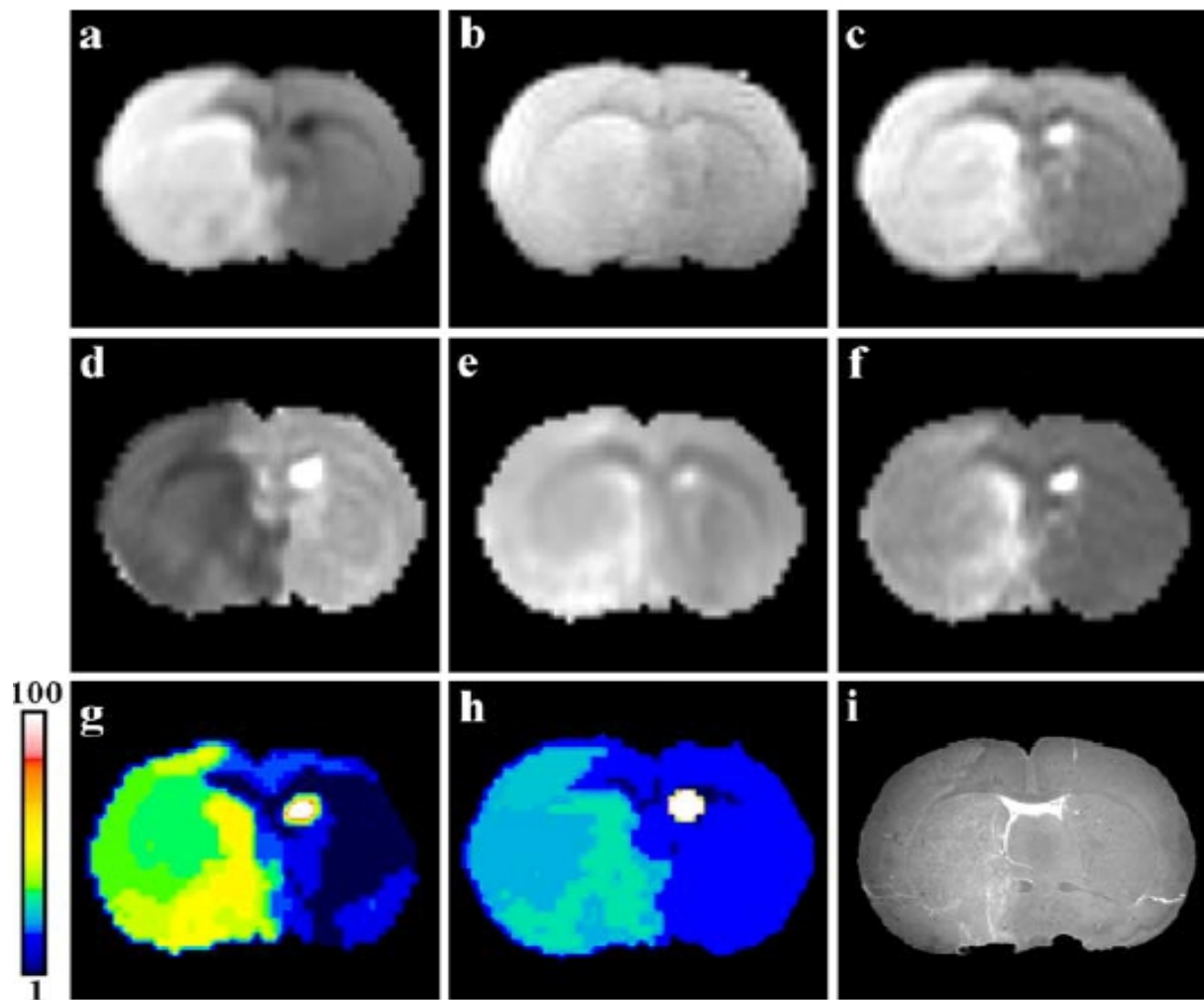


Fig 3.20 Dall'alto verso il basso; immagini RM ottenute con sequenze DWI, T1W, T2W (a,b,c); relative mappe parametriche (d,e,f); risultati della segmentazione ISODATA (g,h) e confronto con sezione istologica (i). Tratto da [43]

In conclusione, tutti i risultati ottenuti hanno portato a sostenere che l'utilizzo di mappe parametriche per la segmentazione mediante ISODATA fornisca una soluzione più obiettiva ed affidabile nella corretta valutazione delle lesioni ischemiche (dislocazione spaziale e dimensione) in qualsiasi fase successiva all'ictus, ed in presenza o meno di eventuali terapie.

Passiamo ora all'analisi di altri studi che hanno avuto anch'essi l'obiettivo di identificare e caratterizzare le lesioni cerebrali in seguito ad ictus, ma che sono stati condotti stavolta sull'uomo.

I primi studi hanno cercato di replicare le scoperte effettuate nell'ambito della sperimentazione sugli animali, ovvero la possibilità di poter riconoscere le lesioni ischemiche e di discriminarle dai tessuti cerebrali sani analizzando dataset RM multiparametrici. Le varie tipologie di immagini scelte hanno dovuto quindi fornire un'insieme di 'features' in grado di aiutare nell'identificazione e caratterizzazione dei vari tessuti a livello cerebrale, attraverso l'applicazione di algoritmi di

segmentazione opportuni.

In [44] sono stati presi in esame 10 pazienti affetti da ictus, suddivisi in base alla fase della malattia: acuta (< 12 h dall'insorgenza), sub-acuta (da 72 a 168h) e cronica (< 3 mesi). Il dataset impiegato è stato costituito da T2WI, T1W1 e DWI, mentre la segmentazione è stata realizzata usando nuovamente l'algoritmo ISODATA.

I risultati ottenuti hanno mostrato un'elevata correlazione tra i volumi dei tessuti ischemici misurati grazie alla segmentazione ISODATA ed i volumi misurati rispettivamente sulle singole immagini; in particolare sono state scelte per il confronto immagini DW per la fase acuta ed immagini T2W per quella cronica, in accordo a precedenti evidenze scientifiche. E' infatti ormai generalmente accettato che le immagini in perfusione (PWI) siano in grado di rilevare aree di ipoperfusione dopo pochi minuti dal manifestarsi dell'ictus, mentre le immagini in diffusione (DWI) riescono nello stesso intervallo di tempo ad evidenziare il danno a livello neuronale; tali metodiche sono molto correlate con il deficit neurologico e con le dimensioni finali del danno ischemico del soggetto, e sono dunque considerate il 'gold standard' per l'identificazione delle lesioni in fase acuta [45].

Per quanto riguarda intervalli temporali più lunghi, la metodica di imaging RM considerata migliore nell'identificazione delle lesioni è il T2WI, la quale rappresenta il principale marker per l'edema vasogenico; essa è dunque considerata il 'gold standard' per la fase cronica [46-49].

I volumi misurati mediante ISODATA si sono inoltre mostrati sempre molto correlati con lo status neurologico dei soggetti, valutato secondo la scala di punteggi NIHSS('National Institute of Health Stroke Scale'), una scala convenzionalmente usata per valutare semi-quantitativamente la gravità dell'ictus.

Altri studi sono stati invece condotti per dimostrare che i risultati della segmentazione applicata ad immagini RM multiparametriche siano in grado di identificare le lesioni ischemiche in maniera indipendente dal tempo ed in maniera migliore (o almeno uguale) delle tecniche MRI storicamente considerate migliori in ciascuna fase post-ictus appena citate.

In uno di questi studi ([50]) sono stati analizzati 11 pazienti colpiti da ictus; è stato impiegato un dataset multiparametrico costituito da tutte le tipologie di immagini appena citate, e tali immagini sono state usate per la segmentazione tramite algoritmo ISODATA.

L'area delle lesioni individuate come output di ISODATA è stata in seguito confrontata con la medesima area calcolata sulle singole immagini RM corrispondenti, sia per la fase acuta che per quella cronica; tali valori sono stati inoltre confrontati con il deficit neurologico dei soggetti, valutato tramite la scala di punteggi NIHSS, per cercare anche in tal caso il grado di correlazione. La scoperta principale di tale studio è stata quella che le dimensioni delle lesioni

identificate tramite ISODATA sono altamente correlate con quelle ottenute tramite le tecniche RM monoparametriche considerate in letteratura il 'gold standard' per ciascuna fase post-ictus (DWI e PWI per la fase acuta, T2WI per la fase cronica), ed allo stesso tempo sono sempre altamente correlate con il punteggio NIHSS, e dunque con la situazione clinica del soggetto in esame.

La fig. 3.21 mostra un confronto tra i risultati della segmentazione ISODATA e le immagini 'gold standard' per la fase acuta post-ictus, mentre la fig. 3.22 mostra i valori del coefficiente di correlazione di Pearson tra i punteggi NIHSS e le misure MRI ottenute rispettivamente in fase acuta e cronica.

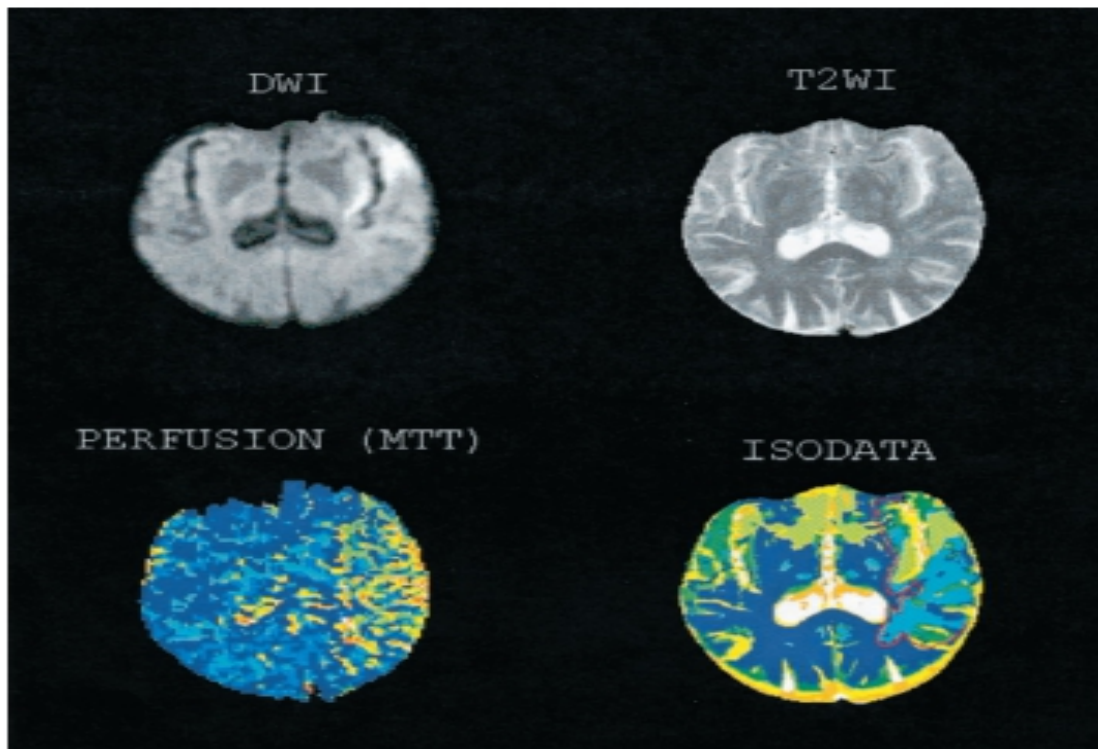


Figure 1. DWI, T2WI, PWI (relative MTT), and ISODATA lesion in a patient who was studied 10 hours after stroke onset. Outline of the ISODATA lesion also demonstrates the close correlation of ISODATA with PWI lesion. ISODATA lesion is inhomogeneous.

Fig 3.21 Confronto tra le immagini RM considerate 'gold standard' per la fase acuta post-ictus e i risultati della segmentazione ISODATA. Tratto da [50]

TABLE 3. Pearson Correlation Coefficients, *P* Value, and 95% CIs Between NIHSS and MRI Measurements in the Outcome Phase of Stroke

	ISODATA	DWI	T2WI
Correlation coefficient	0.78	-0.07	0.85
<i>P</i> value	0.004	0.82	0.0009
CI	0.34 to 0.94	-0.64 to 0.58	0.54 to 0.96

*Based on the transformed data; n=11.

Fig 3.22 Correlazione fra punteggi NIHSS e misure ISODATA per le fasi acuta e cronica post-ictus
Tratto da [50]

Alcuni studi hanno in seguito concentrato i propri sforzi nella valutazione della vitalità e del potenziale di recupero dei tessuti ischemici; le lesioni ischemiche, come infatti appurato in più circostanze, sono eterogenee ed evolvono verso la necrosi oppure verso il ritorno alla normalità con velocità differenti.

Uno di questi studi ([51]) ha preso in esame 48 pazienti colpiti da ictus, i quali erano stati sottoposti ad esami MRI multiparametrici completi sia nella fase acuta (< 24h) che in quella cronica (detta anche di 'outcome', < 3mesi) post-ictus; il grado di severità della loro malattia era stato valutato precedentemente tramite un punteggio sempre sulla scala NIHSS. I pazienti in esame sono stati poi suddivisi in 2 gruppi, quelli trattati in fase acuta con rtPA e quelli non trattati.

Il dataset multiparametrico impiegato consisteva in T1WI, multi spin-echo T2WI e DWI ; l'algoritmo di segmentazione impiegato è stato ancora una volta ISODATA, il quale ha permesso prima di tutto di identificare le lesioni ed in seguito di suddividerle in cluster, assegnando a ciascun cluster un numero (e quindi un dato colore nella maschera risultante). I numeri impiegati (i cosiddetti 'tissue signature vectors') sono stati usati in seguito come indicatori del potere predittivo della segmentazione di classificare le lesioni in base alla gravità e all'eventuale tasso di recupero.

Il tasso di recupero delle lesioni ischemiche è stato definito in questo caso come una riduzione di almeno il 20% della dimensione della lesione stessa, valutato come differenza tra l'area della lesione identificata tramite la segmentazione in fase acuta e quella identificata sulle immagini T2W in fase di 'outcome'.

E' stato infine cercato un modello multiparametrico che potesse possedere un'elevato potere predittivo sulle capacità di recupero delle lesioni ischemiche. Utilizzando tutti i parametri disponibili , e cioè T1, T2 ADC_w (assoluto e relativo) oltre ai 'tissue signature vectors' prima citati, è stato dimostrato che il modello con

il più elevato potere predittivo comprendeva il parametro ADC_w ed i risultati della segmentazione tramite ISODATA, in combinazione con la presenza del trattamento terapeutico con rtPA. In particolare, valori di ADC_w maggiori della media e bassi valori di 'tissue signature vectors' attribuiti alle lesioni si sono dimostrati essere indicatori di un più probabile recupero dei tessuti cerebrali danneggiati.

In conclusione, l'imaging MP-RM nella fase acuta dell'ictus e la relativa segmentazione sono stati in grado di mostrare chiaramente delle disomogeneità e una differente vitalità nelle lesioni ischemiche; il valore assunto da alcuni parametri tra quelli a disposizione si è dimostrato un valore molto utile per riconoscere o meno una maggiore possibilità di recupero di tali lesioni, anche se l'effetto di tali fattori è risultato dipendente dalla presenza del trattamento iniziale con rtPA. Tali risultati rappresentano ad ogni modo uno strumento molto prezioso per la selezione di pazienti in fase acuta da poter sopporre con maggior successo ad opportune terapie in un'ampia finestra temporale.

La fig. 3.23 mostra i risultati della segmentazione; è possibile riconoscere un'area ischemica nell'emisfero destro visualizzata con colori da giallo a verde chiaro. L'immagine inoltre esemplifica la procedura per la valutazione del tasso di recupero della lesione identificata.

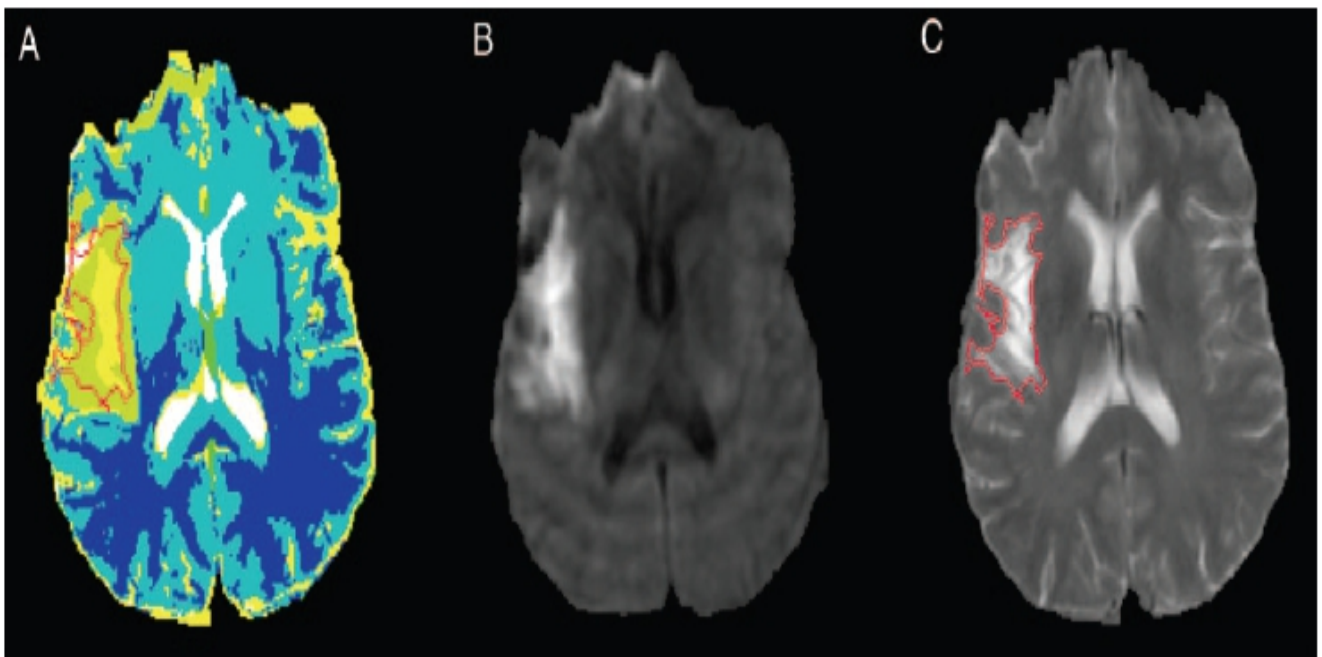


FIG 2. Calculation of tissue recovery based on acute phase ISODATA image and outcome-phase T2-weighted image.

A, Acute phase ISODATA image.

B, Acute phase diffusion-weighted image.

C, Outcome (3-month) phase T2-weighted image.

Fig 3.23 Calcolo del potenziale di recupero del tessuto cerebrale sulla base delle lesioni identificate tramite ISODATA. Tratto da [51]

La descrizione della bibliografia fino ad ora riportata, che rappresenta solo una parte di quella attualmente disponibile, dimostra che l'impiego di dataset RM multispettrali (in particolare dataset multiparametrici N-dimensionali) come input per un processo di segmentazione è in grado di fornire una serie di caratteristiche che permettono una migliore identificazione dei cluster (e quindi dei tessuti) in esame. La segmentazione viene effettuata mediante algoritmi di tipo 'unsupervised', e particolari successi sono stati mostrati mediante l'utilizzo dell'algoritmo ISODATA.

I notevoli risultati ottenuti nelle varie applicazioni cliniche hanno spinto verso la scelta di ISODATA come algoritmo da impiegare in questo lavoro, oltre al fatto che tale algoritmo possiede le caratteristiche adatte per essere applicato sui dati sperimentali a disposizione (approccio 'unsupervised' e possibilità di applicazione a dataset multidimensionali).

Vi sono tuttavia delle differenze che è molto importante sottolineare:

- nessuna delle applicazioni cliniche analizzate fa uso di immagini di risonanza magnetica cardiaca;
- tutti i dataset RM sono multiparametrici, mentre non vi è riferimento a dataset di immagini RM ottenute con sequenze multiecho.

L'algoritmo ISODATA, che sarà descritto nel dettaglio nel capitolo successivo, sarà dunque impiegato all'interno di questo lavoro come mezzo per effettuare la segmentazione della parete cardiaca su immagini GRE T2*-multiecho, ottenute in pazienti con possibile accumulo di ferro miocardico di diversa entità; sarà quindi un tentativo di valutare le performance di tale algoritmo in un campo di applicazione clinica dove non è presente alcuna linea guida al riguardo.

CAPITOLO 4

L'algoritmo ISODATA

4.1 Descrizione dell'algoritmo

L' algoritmo ISODATA, acronimo di ' *Iterative Self-Organizing Data Analysis Technique* ', è un algoritmo di segmentazione di tipo 'unsupervised' applicabile a dati multidimensionali.

Tale algoritmo è molto simile all'algoritmo K-means; esso è infatti un algoritmo iterativo, che inizializza i valori dei vari centroidi e successivamente assegna i dati ai centroidi più vicini secondo la metrica scelta, classificando dunque i dati in vari clusters. Le iterazioni si protraggono fino a che le variazioni tra 2 iterazioni successive non sono sufficientemente piccole; tali variazioni possono essere misurate in modi diversi, ma di solito si riassumono in una funzione obiettivo che deve essere minimizzata per garantire la convergenza dell'algoritmo.

A differenza del K-means, l'algoritmo ISODATA possiede degli steps ulteriori che comportano l'abilità di tale algoritmo di aggiustare in maniera automatica il numero di cluster individuati; tali steps sono conosciuti solitamente con i termini 'splitting' e 'merging' (letteralmente suddivisione e fusione).

Il vantaggio principale di tale algoritmo sta dunque nel fatto di non necessitare né di nessuna procedura di training prima della segmentazione né di alcuna conoscenza a priori del numero esatto di cluster in cui suddividere i dati.

La prima implementazione e descrizione di questo algoritmo è apparsa nel 1965 ad opera di Geoffrey H. Ball e David J. Hall in [52], i quali presentarono tale algoritmo (come riportato letteralmente nel titolo e nell'introduzione) come '*A novel method of data analysis and pattern classification*' , e lo descrissero in termini verbali, matematici e grafici, riportando i primi risultati derivanti dall'applicazione su dati bidimensionali di varia natura (dati meteorologici, sociologici, alfanumerici e gaussiani).

L'algoritmo ISODATA permette di raggruppare in clusters dati multi-variabile, raggruppandoli attorno a punti specifici, detti centri o centroidi, e così facendo fornisce un' utile descrizione dei dati stessi. L'algoritmo ISODATA è nato con l'idea di rapportarsi con problemi che sono intrinsecamente multidimensionali, dove ciascuna dimensione corrisponde ad una variabile del problema, ed è per questo che l'ambito di ricerca in qui esso si è sviluppato è quello del 'pattern recognition', un problema da sempre considerato intrinsecamente multidimensionale [52].

Nel riconoscimento e nella classificazione di pattern uno dei problemi principali è quello di ottenere una descrizione corretta ed esaustiva dei pattern stessi, che sia allo stesso tempo semplice e di facile comprensione. A causa della natura complessa dei dati presi in esame dal mondo reale, la loro descrizione spesso non è

vincolata rigidamente alla definizione a priori del numero di pattern da riconoscere; per tale motivo l'algoritmo ISODATA ha come caratteristica principale quella di descrivere i dati attraverso i dati stessi, senza alcuna ipotesi fatta a priori, ma auto-aggiustando il numero di pattern desiderati [52].

ISODATA, come l'acronimo suggerisce, è un' insieme di tecniche e di steps che si susseguono in maniera iterativa; tale algoritmo non cerca né di riassumere ogni sottile sfumatura estraibile dai dati in esame né di concentrarsi unicamente sulle caratteristiche e le strutture principali dei dati, ma rappresenta una sorta di compromesso tra il tentativo di immagazzinare ed analizzare ogni aspetto e dettaglio dei dati ed un approccio che cerchi potenzialmente di mediare tutti i dati tra loro [52].

A causa della non praticità nel dover confrontare ciascun pattern con tutti gli altri (specialmente al crescere del loro numero), questa procedura confronta i pattern con un insieme di cluster costruiti a partire da sottoinsiemi dei pattern stessi, e raggruppa insieme tali pattern sulla base di questo confronto. Il confronto viene effettuato stabilendo una certa misura di distanza e raggruppando tra loro pattern che giacciono vicini secondo la distanza adottata.

Il numero di cluster utilizzati varia sia a seconda delle caratteristiche dei dati stessi sia in base a un certo set di parametri usati come input all'algoritmo e che possono essere controllati dall'esterno [52].

Quando utilizzato su dati per i quali non sono disponibili informazioni a priori utili per la loro classificazione, ISODATA dunque cerca una buona approssimazione della struttura naturale dei dati, piuttosto che provare a imporre assunzioni sulla struttura dei dati stessi (si consideri ad esempio il clustering probabilistico) [52].

Nella sua versione originale, l'algoritmo ISODATA è costituito da ben 14 steps, che saranno di seguito elencati e descritti. .

La descrizione completa dell'algoritmo ISODATA è stata inoltre riportata da Jacobs et al in [53] nell'appendice di tale articolo, e ricalca abbastanza fedelmente la descrizione originale dell'algoritmo, con alcune sottili differenze che saranno di seguito evidenziate.

Come si evince da tutta la letteratura analizzata nel paragrafo 3.4.1, [53] rappresenta il riferimento citato nella maggior parte degli articoli per una descrizione dettagliata ed esaustiva di ISODATA, e sarà dunque usato come guida nella descrizione di tale algoritmo. La descrizione riportata in [53] risulta allo stesso tempo affidabile rispetto alla pubblicazione originale, ma di migliore comprensione per quanto riguarda la specifica applicazione per la segmentazione di bioimmagini (rispetto alle prime applicazioni su dati di diversa natura, ad esempio i dati di altezza e peso di giocatori di basket o rugby riportati in [52], oppure le risposte date ad un questionario di sociologia da scienziati ed ingegneri dell'Air Force, come preso in esame in [54]).

Gli steps dell'algoritmo ISODATA sono i seguenti :

1. Definizione dei parametri da passare come input all'algoritmo; i 6 parametri utilizzati sono i seguenti:

K = numero di cluster desiderati; è importante notare che tale valore potrà essere modificato dall'algoritmo stesso qualora esso determini che il numero scelto è inadeguato;

θ_N = soglia di dimensione minima di un cluster ;

θ_S = parametro di splitting, soglia massima di deviazione standard per un cluster;

θ_C = parametro di lumping, soglia minima di distanza euclidea tra una coppia di centroidi ;

L = numero massimo di coppie di clusters che possono essere raggruppate insieme in una singola iterazione;

I = massimo numero di iterazioni.

2. Distribuzione dei '*pixel vectors*' tra i vari centroidi, attribuendo ciascun vettore al centroide (Z_j) a distanza euclidea minima. Si ricorda che come '*pixel vector*' si intende il vettore contenente il valore di un dato pixel (i,j) in ognuna delle immagini che formano il dataset multidimensionale. Si ricorda inoltre che la scelta della distanza euclidea come metrica per valutare la vicinanza di un dato ad un centroide è una scelta molto ricorrente ma non l'unica possibile.
3. I cluster con numero di elementi inferiore a θ_N vengono scartati, riducendo così il numero dei cluster correnti (N_c).
4. Gli elementi dei cluster scartati perchè troppo piccoli vengono riassegnati con lo stesso criterio di minima distanza ai centroidi dei cluster rimanenti.
5. Si calcola la distanza euclidea intra-set media tra ciascun elemento di un dato cluster e il rispettivo centroide (IAD_j , '*Intra-set Euclidean Distance*') secondo la seguente formula :

$$IAD_j = \frac{1}{N_j} \sum_{t=1}^{N_j} \|Z_j^t - Z_j\|$$

dove N_j è il numero di elementi del cluster j-esimo e Z_j^i è l' i-esimo dato del cluster j-esimo.

6. Si calcola poi la distanza euclidea intra-set media di tutti i cluster rispetto ai rispettivi centroidi (IAD), secondo la formula :

$$IAD = \frac{1}{N} \sum_{t=1}^{N_c} N_j * IAD_j$$

Si va dunque a pesare ciascuna IAD_j per la dimensione del rispettivo cluster, dividendo infine per N , numero totale dei dati.

7. Si effettua una delle seguenti operazioni, scorrendo le varie possibilità nell'esatto ordine in cui sono qui riportate :

- se siamo all'ultima iterazione, si pone $\theta_c = 0$ (parametro di lumping) e si salta allo step n° 11;
- se il numero di cluster correnti è minore o uguale al numero di cluster desiderati ($N_c \leq 0.5K$) si va allo step successivo (n°8);
- se l'iterazione è pari oppure il numero di cluster correnti è maggiore o uguale al numero di cluster desiderati ($N_c \geq 2K$), si salta allo step n°11;
- in tutte le altre condizioni possibili si procede allo step successivo (n°8).

8. Si calcola la deviazione standard per ciascun pixel vectors appartenente ad un dato cluster; il risultato conterrà i valori di deviazione standard di ciascun pixel appartenente al vettore all'interno del cluster in esame. La deviazione standard viene calcolata usando la deviazione standard campionaria.

9. Una volta calcolata la deviazione standard di ciascun cluster su tutte le dimensioni (cioè su ogni immagine), per ogni cluster si trova il valore massimo per ciascun vettore di deviazioni standard e lo si denota con θ_{jmax} .

10. Si effettua un processo di 'splitting', ovvero di divisione di un dato cluster in 2 nuovi clusters, se le seguenti condizioni sono verificate :

- $\theta_{jmax} > \theta_s$ ed inoltre **almeno una** delle 2 seguenti condizioni deve risultare verificata :

- $IAD_j > IAD$ e $N_j > 1.1(\theta_N + 1)$ **oppure**

- $N_C \leq 0.5K$.

Se tale combinazione logica di condizioni risulta verificata, si creano 2 nuovi centroidi Z_j^+ e Z_j^- a partire dal centroide originario Z_j , e si incrementa di uno il numero di cluster correnti. Il centroide Z_j^+ si forma aggiungendo una determinata quantità γ_j alla componente di Z_j che presenta la massima deviazione standard. In maniera simile, il centroide Z_j^- si crea sottraendo a tale componente la medesima quantità γ_j .

In altre parole, se ad esempio per il cluster j-esimo la deviazione standard massima si ha per la k-esima misura (immagine), la quantità γ_j che dovrà essere aggiunta/sottratta per generare i 2 nuovi centroidi conterrà tale valore alla k-esima posizione (gli altri saranno nulli), in modo che i 2 nuovi centroidi varino rispetto a quello originale soggetto a splitting solo lungo la direzione (immagine) in cui quel cluster presenta la maggiore variabilità. A scopo di completezza vale la pena notare che la quantità γ_j può essere variabile a scelta dall'utente, ma che nella versione originale di ISODATA era stata posta ad 1 in quanto tale quantità risultava sufficiente a generare differenze significative tra 2 nuovi cluster, senza però influire in maniera altrettanto significativa sui cluster rimanenti. Nella versione originale inoltre la soglia di dimensione per lo splitting era $2(\theta_N + 2)$ e non $1.1(\theta_N + 1)$.

La quantità γ_j viene inoltre pre-moltiplicata per un valore costante k_2 , che può essere scelto dall'utente in una range compreso tra 0 e 1 ($0 < k_2 \leq 1$), e che quindi permette di pesare diversamente l'entità della variazione causata dallo splitting.

Tutte le condizioni sopra citate vengono verificate per tutti i cluster identificati all'iterazione corrente, ed ognuno di essi viene suddiviso se le suddette condizioni risultano verificate.

11. Si calcola la distanza euclidea inter-set (IED, 'IntEr-set Euclidean Distance') tra i vari centroidi, secondo la formula seguente, e si ordinano in maniera crescente tali distanze.

$$IED_{ij} = \|Z_i - Z_j\|$$

12. Si trovano le coppie di cluster aventi valore di IED_{ij} inferiore a θ_c (parametro di lumping), e tra quelle che soddisfano tale vincolo si scelgono le L coppie con IED_{ij} più bassa, se esistenti. Si ricorda che L rappresenta il massimo numero di coppie di cluster che possono essere raggruppate insieme in una singola iterazione, un parametro di input da fornire all'algoritmo ISODATA.
13. Partendo dalla coppia con valore di IED_{ij} minimo, si effettua una 'fusione' (merging) a coppie di cluster, se le condizioni precedenti risultano soddisfatte. Come prima cosa si verifica che nessuno dei cluster appartenenti alla coppia in esame sia già stato raggruppato nella stessa iterazione; in caso positivo si uniscono i 2 cluster e si calcola il centroide del nuovo cluster risultante, ottenuto come media dei centroidi di partenza, altrimenti si procede con l'analisi della coppia successiva.
Quando tutte le L coppie sono state prese in esame, si procede con il passo successivo (n°14).
14. Se siamo all'ultima iterazione l'algoritmo termina, altrimenti si torna allo step n°2 per procedere con l'iterazione successiva. Nel proseguire, si utilizza come input il nuovo set aggiornato di centroidi ottenuto in seguito agli step di splitting/merging e si vanno a ripetere le stesse operazioni finora descritte.

Nella versione originale dell'algoritmo ISODATA, tale tecnica terminava una volta raggiunto il numero massimo impostato di iterazioni, oppure interrompendo l'algoritmo quando si riteneva che i dati avessero raggiunto un raggruppamento qualitativamente coerente con la realtà, ispezionando visivamente la collocazione spaziale dei dati, come riportato in [52].

Sono state introdotte in seguito ulteriori soluzioni per andare a verificare la convergenza dell'algoritmo stesso; tale convergenza viene spesso valutata tramite il calcolo di una funzione obiettivo (OF) da minimizzare, il cui valore viene valutato

al termine degli steps di splitting o di merging.

Tale funzione viene calcolata mediante la seguente formula:

$$OF = \sum_{i=1}^{\text{\# clusters}} \sum_{j=1}^{\text{\#pixels in cluster}} \sum_{k=0}^{\text{\# images}} (P_{ijk} - \bar{x}_{ik})^2$$

Dove P_{ijk} non è altro che il valore del pixel i -esimo appartenente al cluster j -esimo nell'immagine k -esima del dataset, mentre \bar{x}_{ik} rappresenta il valore del rispettivo centroide nell'immagine k -esima.

Questa implementazione non rappresenta altro che un'estensione della funzione obiettivo usata nell'algoritmo K-means al caso di segmentazione di dati multidimensionali.

La convergenza viene raggiunta se :

$$\frac{||OF[\text{iteration} - 1] - OF[\text{iteration}]||}{OF[\text{iteration}]} \leq 0.00001$$

E' importante notare che la minimizzazione di tale funzione obiettivo rappresenta solo uno dei possibili modi con cui valutare la convergenza dell'algoritmo, riportata in [53]; studi precedenti riportati in letteratura ad esempio fanno terminare l'algoritmo una volta minimizzata la varianza intra o inter-cluster.

Anche il valore di soglia non è univoco; nella formula precedente viene riportato il valore usato in [53], ma tale valore può essere modificato in risposta alle proprie esigenze e ai valori delle misure analizzate.

Dopo che l'algoritmo ha raggiunto la convergenza oppure ha raggiunto il massimo numero di iterazioni consentite, i risultati dell'algoritmo possono essere riportati in una cosiddetta '**theme map**' ('mappa a tema'), un'immagine composta a falsi colori dove ad ogni cluster è associato un numero ('tissue signature') a cui corrisponde poi un dato colore sulla mappa stessa; tale immagine riflette la segmentazione dei vari tessuti effettuata mediante ISODATA.

Si noti che tutte le immagini a falsi colori riportate in precedenza nel paragrafo 3.4.1 come esempi di risultati della segmentazione ottenuti mediante algoritmo ISODATA per le varie applicazioni analizzate, non sono altro che delle 'theme map'. Le figure 4.1 e 4.2 riportano 2 diagrammi di flusso che aiutano da un punto di vista visivo a comprendere la sequenza ed il funzionamento dell'algoritmo.

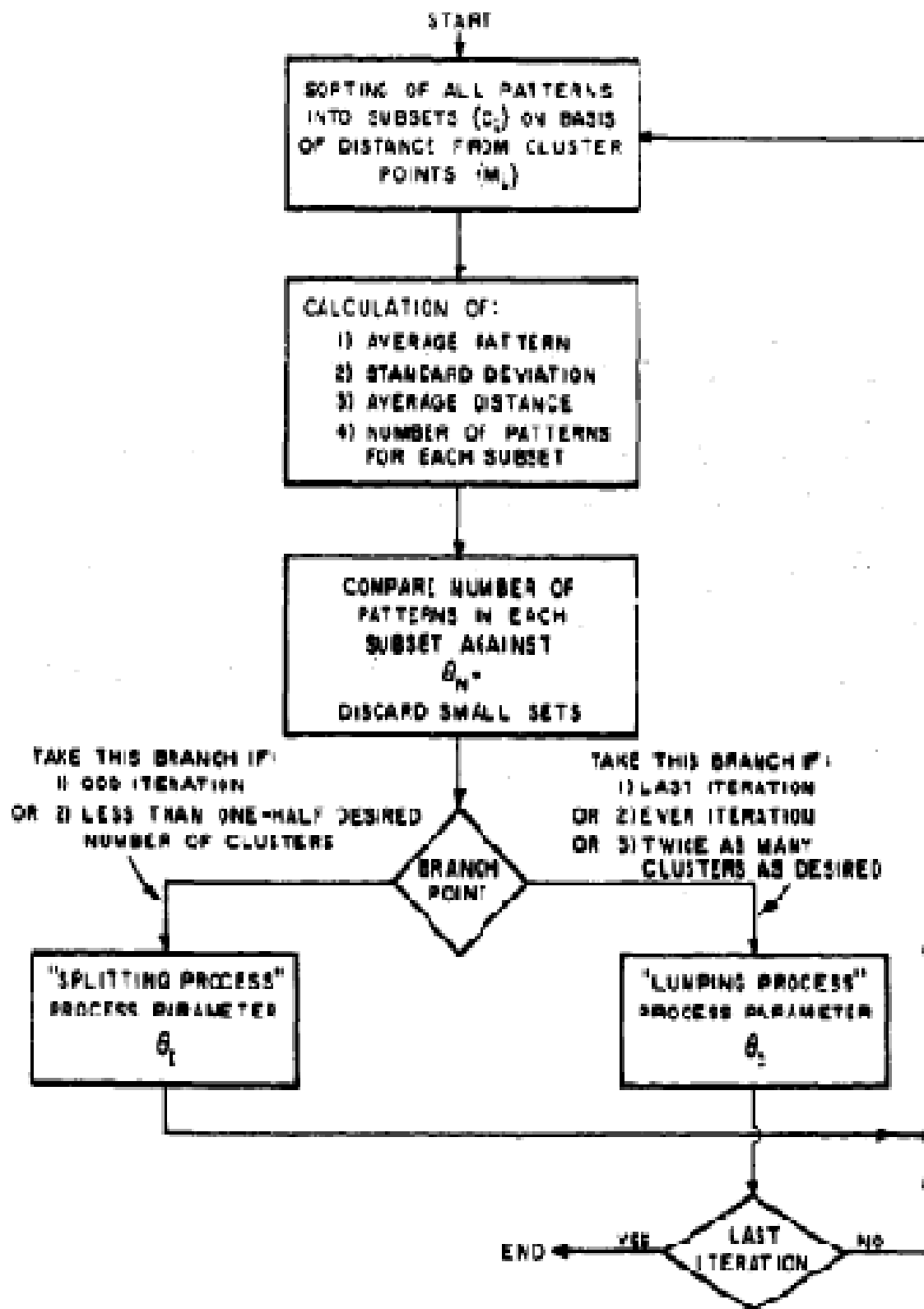


FIG. 20 A FLOW DIAGRAM SHOWING THE COMPUTATIONAL CYCLE OF ISODATA-POINTS

Fig 4.1 Diagramma di flusso che illustra il funzionamento dell'algoritmo ISODATA. Tratto da [52]

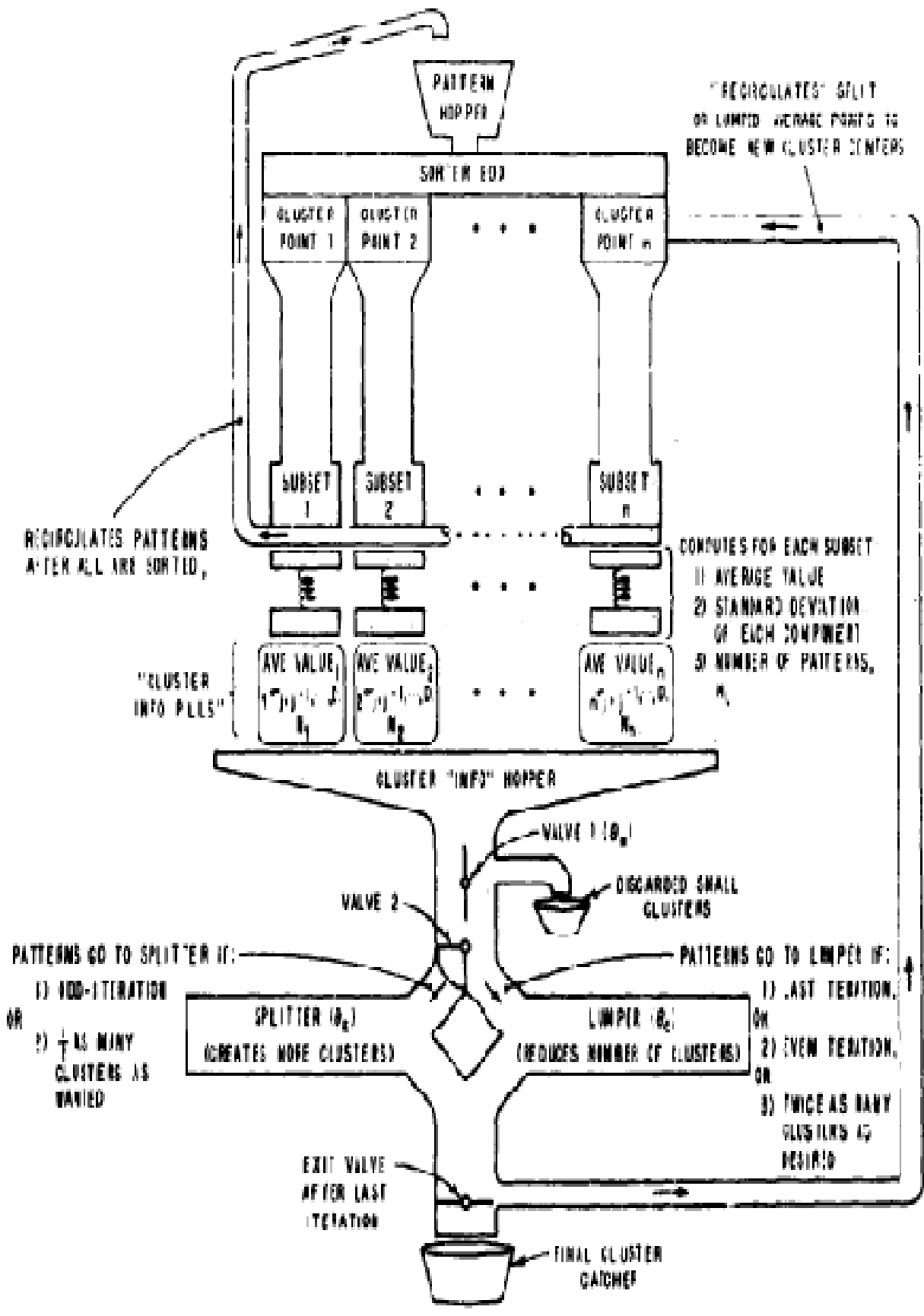


FIG. 1 A PICTORIAL DESCRIPTION OF ISODATA-POINTS

Fig 4.1 Descrizione 'pittorica' del funzionamento dell'algoritmo ISODATA. Tratto da [52]

Si noti che, mentre la descrizione fornita dal primo diagramma è molto più accurata e formale, nel secondo diagramma il funzionamento dell'algoritmo è paragonato al funzionamento di una serie di tubi e valvole.

In figura 4.2 vari pattern vengono inseriti nel 'Sorter Box', uno alla volta, mediante un 'Pattern Hopper'; i pattern vengono poi suddivisi in cluster sulla base della distanza tra gli elementi appartenenti ai vari cluster e una serie di centroidi, indicati in figura dai 'cluster points' n°1,2,3 etc.

Dopo che i cluster sono stati formati, viene calcolata la deviazione standard per ciascuno di tali cluster, che viene passata insieme ai cluster stessi al 'Cluster Information Hopper'. I cluster con numero di elementi inferiore alla soglia θ_N vengono scartati alla 'Valve 1', mentre il posizionamento della 'Valve 2' dipende sia dal numero corrente di cluster che dal numero dell'iterazione.

Sulla base di tali valori viene scelto dunque se effettuare uno step di splitting o di lumping, i quali vengono a loro volta eseguiti solo se le condizioni descritte in precedenza risultano soddisfatte.

Dopo il verificarsi di uno di questi 2 possibili step, il nuovo set modificato di centroidi e le nuove definizioni dei cluster sono inserite nel 'Sorter Box' e utilizzate per l'iterazione successiva. L'algoritmo infine termina una volta raggiunto il numero massimo di iterazioni specificate come parametro.

4.2 Implementazione dell'algoritmo in linguaggio IDL

4.2.1 Cenni alla programmazione IDL

IDL ('Interactive Data Language') è un linguaggio che fornisce librerie per l'accesso, l'analisi e la visualizzazione di dati scientifici all'interno di un ambiente interattivo. IDL è un linguaggio interpretato e dinamicamente tipizzato, in grado di creare rapidamente piccole applicazioni 'ad hoc'; la presenza di un debugger integrato permette di eseguire un semplice stepping attraverso le righe di codice, mentre la sua sintassi 'array-based' consente di ottenere notazioni chiare e di facile comprensione nell'analisi dei dati.

IDL è distribuito insieme ad un'estesa libreria 'built-in' che comprende sistemi grafici, un'interfaccia più complicata ad OpenGL, routine di accesso a file di dati scientifici di vario formato, algoritmi di signal/image processing ed altre routine di analisi comunemente impiegate; altre routine sono inoltre disponibili nella user community. IDL può inoltre interfacciarsi con altri linguaggi di programmazione, quando necessario, per estendere le proprie funzionalità.

I principali ambiti di applicazione di tale linguaggio sono l'astronomia, le scienze della terra, applicazioni militari di difesa/intelligence e l'imaging biomedico, dove esso risulta maggiormente specifico rispetto ad altri linguaggi quali ad esempio il Matlab.

Linguaggi staticamente tipizzati come C o C++ non hanno niente di simile all'ambiente di programmazione IDL il quale impiega variabili tipizzate dinamicamente. IDL mette a disposizione diverse tecniche di programmazione (ad esempio quelle basate sull'uso dei puntatori) ed inoltre permette, come avviene ad esempio anche in Java, una programmazione OO ('Object-Oriented'), mettendo a disposizione numerose procedure che agiscono sugli oggetti.

IDL inoltre, a differenza di molti linguaggi, mette a disposizione le comuni tecniche di looping sugli elementi di un array ma con minor efficienza, mentre le tecniche 'vectorized', ossia che agiscono simultaneamente su tutti gli elementi di un array, presentano una maggiore velocità di esecuzione ed efficienza.

Il linguaggio Python probabilmente fornisce l'ambiente più simile ad IDL, grazie alla possibilità di interagire sia a livello della command line sia a livello di scripts; rispetto a Python, IDL difetta nell'uso dei namespaces e di importanti strutture dati quali liste e dizionari(le liste sono state introdotte a partire dalla versione 8.0 di IDL, ma non presentano l'ampia gamma di funzionalità messa invece a disposizione da Python). Altri punti di contatto tra questi 2 linguaggi sono la facilità nell'impiego di una programmazione OO e la tipizzazione dinamica delle variabili (il cosiddetto 'duck typing').

E' importante notare come, a differenza di linguaggi come C o Matlab, IDL scambia la notazione con cui si riferisce alle dimensioni di un array, riferendosi dunque con

il primo indice alla colonna e non più alla riga; ciò significa che la memoria in IDL è contigua variando la prima dimensione, ovvero che in IDL le righe di un'array sono immagazzinate in locazioni di memoria contigue. Tale differenza risulta molto importante nella programmazione da parte di utenti da sempre abituati ad indicizzare array con una notazione del tutto opposta.

IDL presenta un ambiente di sviluppo integrato (IDE), la IDL Workbench, basato sul framework Eclipse, e quindi molto simile all'ambiente che si ritrova nella programmazione Android; questa potenzialità rende questo linguaggio fortemente 'project-oriented', garantendo la possibilità di creare rapidamente numerosi progetti all'interno dei quali includere svariate risorse, che potranno poi essere analizzate tramite l'impiego di numerose prospettive, ciascuna con la propria funzione (debug, breakpoint, profiler, command history ect.).

IDL possiede due sistemi di grafica completi e tra loro del tutto indipendenti : la 'direct graphics' e la 'object graphics'. Nonostante la grafica ad oggetti sia il sistema più moderno, introdotto solo a partire dalla versione 5.0, e regolarmente aggiornato, la 'direct graphic' non è da considerarsi tuttavia più obsoleta. Confrontando questi 2 sistemi di grafica, ciò che gioca a favore della grafica ad oggetti è la sua totale indipendenza dal dispositivo hardware grafico impiegato, la sua maggiore completezza nelle funzionalità messe a disposizione nell'analisi delle immagini, plot e mappe visualizzati, e la possibilità di gestire scene grafiche 3D di default, senza ulteriori accorgimenti necessari invece nella direct graphic. A favore della direct graphic vi è invece la velocità e la semplicità di utilizzo, e la possibilità di essere usata senza dover necessariamente creare una gerarchia di oggetti. Come già detto, IDL infatti permette una programmazione orientata agli oggetti, ma senza forzare il programmatore; ciò significa che programmazione procedurale e programmazione OO possono essere mischiate con facilità dove necessario. Tuttavia, per avere accesso a certe funzionalità, come per l'appunto la grafica ad oggetti, è necessaria la scrittura di codice 'object-oriented'. Un'altra funzionalità messa a disposizione da IDL è la possibilità di creare rapidamente interfacce grafiche (GUI) per visualizzare ed interagire con dati scientifici; per fare ciò IDL mette a disposizione diversi elementi detti 'widgets' (come ad esempio bottoni, liste a scorrimento, menù ect...) che possono essere creati ed impiegati tramite la scrittura di programmi appositi, detti 'widget programs'.

Il sistema widget di IDL è, per la maggior parte, una piattaforma API per la creazione di GUI; il suo paradigma di programmazione 'event-driven', differente dall'approccio comune in cui il codice viene eseguito sequenzialmente, fa sì che l'esecuzione del programma non segua un percorso predicibile lungo il codice, ma che le azioni intraprese dipendano primariamente dalle azioni intraprese dall'utente esterno. Brevemente, un programma widget deve seguire i seguenti steps:

- creare la gerarchia dei widget, necessaria per creare tutti gli elementi della GUI e per visualizzarli sullo schermo;
- impostare e memorizzare i dati che devono essere impiegati dal programma durante la sua esecuzione;
- avviare XMANAGER, un loop dove le azioni degli utenti generano degli eventi che vengono identificati, suddivisi in opportune tipologie ed inviati agli appositi gestori ('event handlers') ;
- scrittura delle routine per gli 'event handlers' e delle routine di cleanup (pulizia delle risorse impiegate e liberazione della memoria precedentemente allocata).

Tutte queste caratteristiche e funzionalità finora elencate e brevemente descritte, messe a disposizione dall'ambiente di programmazione IDL, sono state sfruttate a pieno sia per la creazione del software HIPPO-MIOT sia all'interno di questo lavoro di tesi. Il lavoro di tesi è stato svolto utilizzando una versione più moderna di IDL, la 8.2, rispetto alla versione con la quale era stato implementato il software HIPPO-MIOT (v6.0)

4.2.2 Analisi del codice

Il codice IDL relativo all'algoritmo ISODATA è stato inserito in unico file (con estensione .pro), ed è costituito da una funzione principale e da una serie di funzioni helper che vengono richiamate in sequenza per eseguire correttamente le varie operazioni contenute nei singoli steps dell'algoritmo.

La funzione principale rappresenta il main del codice ; all' interno di essa vengono inizializzate tutte le variabili necessarie e successivamente, all'interno di un loop, vengono richiamate con il corretto ordine le varie funzioni helper. Una volta terminati tutti gli steps, l'algoritmo riparte nuovamente dall'inizio del loop incrementando il contatore delle iterazioni, per uscire infine da tale ciclo una volta soddisfatte le condizioni opportune (convergenza dell'algoritmo oppure numero massimo di iterazioni specificate raggiunto).

Come già detto in precedenza, l'algoritmo ISODATA necessita di alcuni parametri di input ; rispetto a quanto descritto nel paragrafo 4.1, la versione IDL è stata modificata introducendo altri parametri. Al valore del numero di cluster attesi/desiderati (*kDesired*) è stato aggiunto il valore del numero massimo di cluster consentiti (*kMax*) ; il primo valore viene utilizzato per il confronto con il numero corrente di cluster individuati all'iterazione in esame (definito da qui in poi con *A*) al fine di decidere per uno step di splitting oppure di merging.

E' importante notare infatti che l'algoritmo suddivide il range del numero di cluster (da 1 a *kMax*) in 3 gruppi, all'interno dei quali l'algoritmo viene forzato o meno a

compiere certe operazioni :

1. $1 \leq A \leq 0.5 * k_{Desired}$: l'algoritmo viene forzato a suddividere i cluster correnti, per aumentarne il numero e avvicinarsi dunque al valore atteso;
2. $0.5 * k_{Desired} < A < 2 * k_{Desired}$: l'algoritmo, trovandosi nell'intorno del valore desiderato, divide o raggruppa i cluster a seconda che l'iterazione in esame sia rispettivamente pari oppure dispari;
3. $2 * k_{Desired} \leq A \leq k_{Max}$; l'algoritmo viene forzato a raggruppare i cluster a coppie, riducendone il numero e avvicinandosi così al valore atteso.

E' importante ricordare che il valore $k_{Desired}$ non è assolutamente vincolante ai fini della corretta esecuzione dell'algoritmo, il quale è infatti in grado di modificare il numero di cluster individuati qualora auto-determini che tale valore atteso non risulti corretto; esso rappresenta dunque solo una stima del numero di cluster che si ritiene di poter distinguere all'interno dei dati, che può tranquillamente essere variata durante l'esecuzione qualora risulti scorretta.

Nelle immagini RM che dovranno essere analizzate con tale algoritmo i tessuti che solo solitamente presenti, e dunque dovrebbero essere correttamente identificati e classificati, sono i seguenti:

1. background ('air', non è un tessuto vero e proprio ma è comunque un pattern identificabile sulle immagini);
2. fegato;
3. 'blood pool' (sangue ossigenato contenuto nelle camere cardiache);
4. miocardio;
5. tessuto adiposo;
6. tessuto muscolare non miocardico.

Di conseguenza il valore $k_{Desired}$ è stato posto pari a 6.

Il valore k_{Max} serve unicamente per inizializzare l'array dei centroidi, il quale avrà infatti tante righe quanti sono i cluster individuati e tante colonne quante sono le immagini che compongono il dataset multidimensionale; il singolo valore (i,j) rappresenterà dunque il centroide del cluster j -esimo sull'immagine i -esima (si ricordi l'indicizzazione degli array utilizzata in IDL). Inizializzando dunque il numero di righe di questo array con il valore k_{Max} si impedisce l'overflow dell'array stesso, che può verificarsi quando, durante l'evoluzione dell'algoritmo, si raggiunge un numero eccessivo di cluster. Impostando tale valore sufficientemente superiore al numero di cluster attesi si riesce ad evitare questo problema e la conseguente interruzione dell'esecuzione del programma. Di conseguenza, i valori dei centroidi dei cluster che verranno individuati durante le varie iterazioni andranno ad occupare in sequenza le prime righe dell'array, mentre le altre rimarranno nulle. Il

valore kMax che è stato utilizzato per le prove descritte in seguito è stato posto pari a 30.

Un altro parametro che è stato aggiunto come input è il valore di soglia per la valutazione della minimizzazione della funzione obiettivo, e quindi per la convergenza dell' algoritmo stesso; è stato notato infatti che, dipendentemente da diversi fattori (inizializzazione di alcuni parametri e tempi di rilassamento di tessuti 'critici' come cuore e fegato), l' algoritmo raggiunge in certi casi una situazione di stallo in cui il numero di cluster trovati non varia con il proseguire delle iterazioni e la funzione obiettivo raggiunge un valore locale di minimo stabile, mentre in altri casi oscilla in un range ridotto di valori senza raggiungere dunque una situazione di stabilità. (figure 4.3-4.6)

Nel primo caso l' assenza di una soglia (o meglio una soglia pari a 0) non influenza l' accuratezza del processo di segmentazione, mentre nel secondo caso è necessario introdurre una soglia diversa da zero per interrompere anzitempo l' esecuzione dell' algoritmo raggiungendo comunque una situazione corretta (che non verrebbe raggiunta lasciando l' algoritmo libero di iterare fino alla fine), seppur con un errore generale nella segmentazione leggermente più elevato. In questi casi il valore di soglia, scelto analizzando i valori assunti dalla OF al crescere delle iterazioni, è stato posti pari a 0.15.

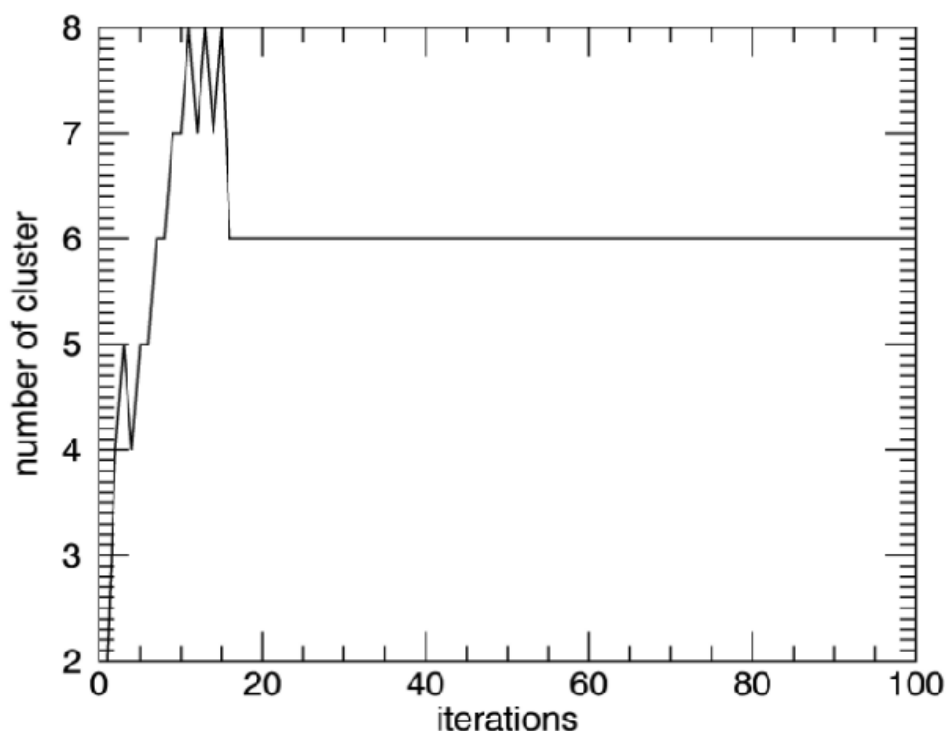


Fig 4.3 Situazione di stallo nell' andamento del numero di cluster al crescere delle iterazioni.

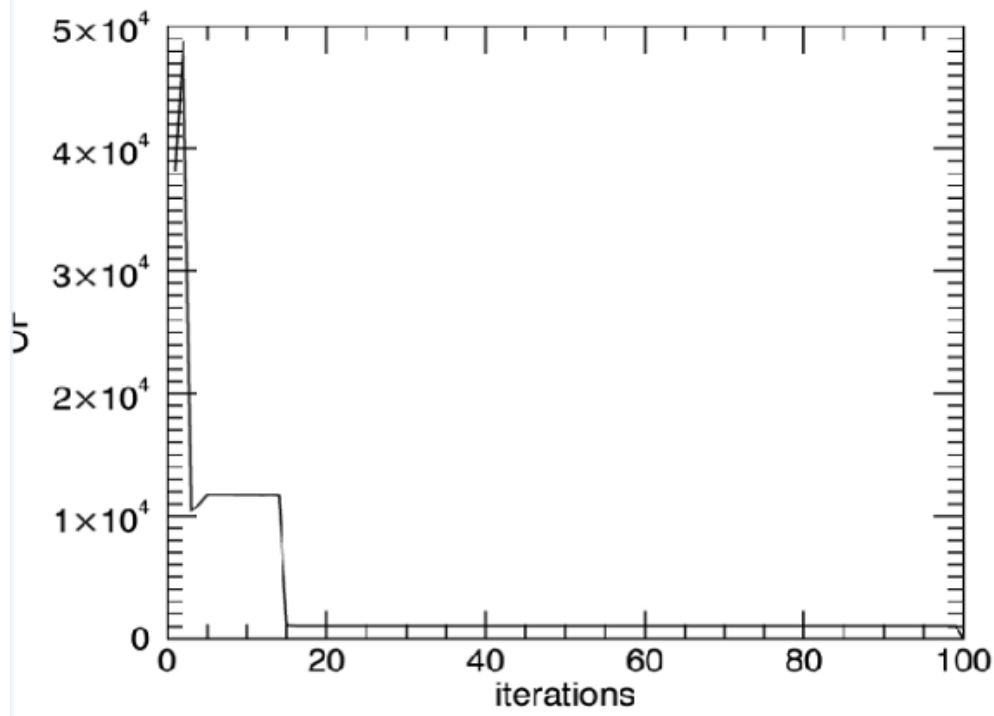


Fig 4.4 Situazione di stabilità raggiunta dalla funzione obiettivo

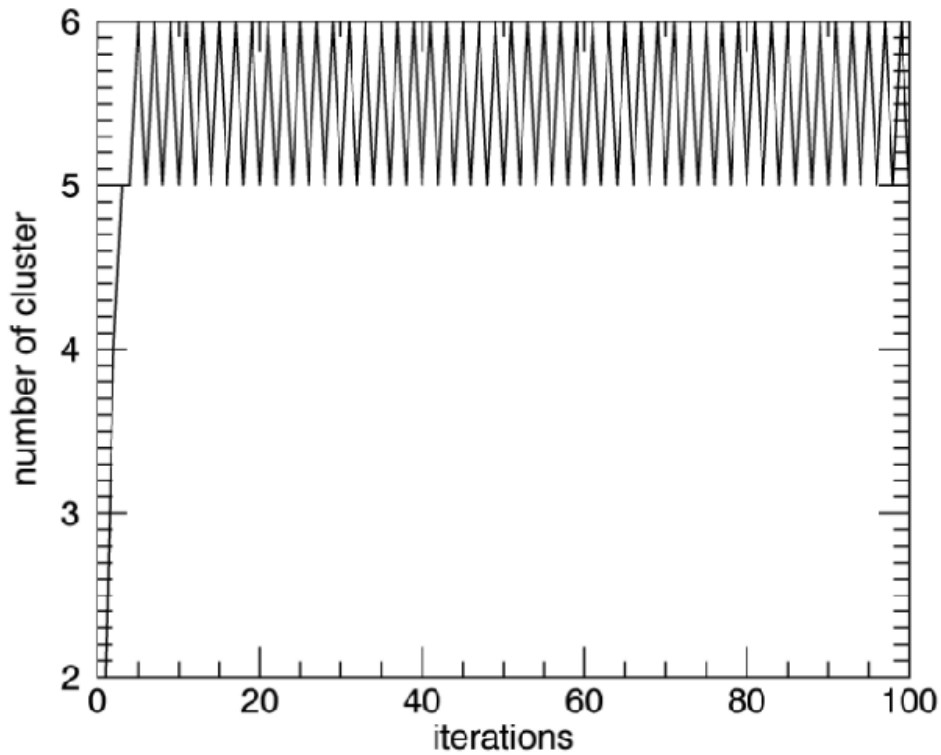


Fig 4.5 Situazione di oscillazione nell'andamento del numero di cluster al crescere delle iterazioni

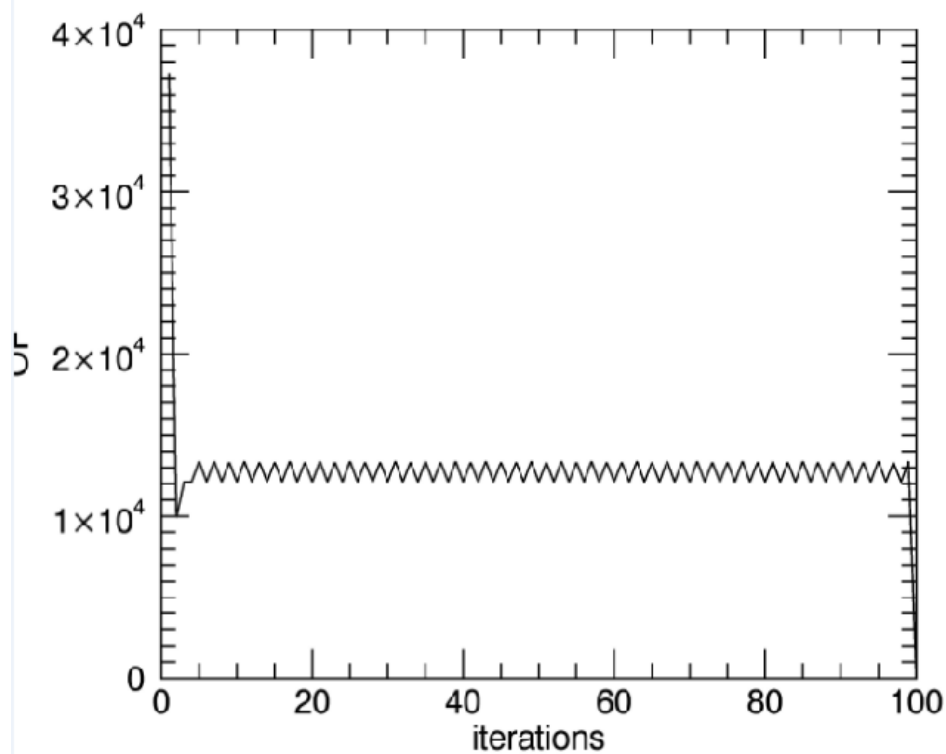


Fig 4.6 Situazione di oscillazione nell'andamento della funzione obiettivo

Come si può vedere, le figure 4.3 e 4.4 rappresentano la situazione in cui, dopo circa 20 iterazioni (sulle 100 consentite), l'algoritmo raggiunge una situazione di stallo, raggiungendo un numero di cluster costante e pari al valore desiderato, mentre la OF raggiunge un minimo locale stabile. Le figure 4.5 e 4.6 mostrano invece una situazione instabile, in cui il numero di cluster individuati ad ogni iterazione oscilla continuamente tra 5 e 6 e la OF raggiunge una condizione di minimo attorno alla quale oscilla senza però stabilizzarsi ; in tal caso l'introduzione di un opportuno valore di soglia è necessaria per fermare l'algoritmo in una configurazione finale corretta. La scelta della soglia è molto importante; un valore troppo basso infatti non viene mai raggiunto e non farà mai terminare anzitempo l'algoritmo, mentre un valore troppo elevato lo farà invece terminare quando ancora deve evolversi verso la segmentazione corretta dei dati.

Gli altri parametri da fornire in input all'algoritmo sono esattamente gli stessi riportati nella descrizione iniziale dell'algoritmo (paragrafo 4.1); il loro legame con le caratteristiche delle immagini da segmentare e la loro influenza sull'esecuzione dell'algoritmo saranno ampiamente discussi nel prossimo capitolo.

E' importante infine non dimenticare che anche i dati da segmentare devono essere ovviamente passati come input all'algoritmo; per quanto riguarda le immagini RM , esse dovranno essere fornite sottoforma di matrice con numero di colonne pari al numero di immagini che compongono il dataset impiegato e con numero di righe pari al n° di pixels che compongono la singola immagine;ogni colonna sarà dunque un'immagine del dataset.

Analizzati i parametri di input, andiamo ora a vedere quali sono i valori in uscita restituiti dall' algoritmo, elencandoli e descrivendoli brevemente:

- **A** : numero di cluster individuati. Tale valore si inizializza a 1 (ciò implica che alla prima iterazione avrò un unico macro-cluster comprendente tutti i dati) e viene costantemente aggiornato con l'evolversi dell'algoritmo, restituendo il valore finale relativo all' iterazione alla quale l'algoritmo si arresta.
- **Z** : array dei centroidi; array con numero di colonne pari al numero di immagini del dataset e numero di righe pari a kMax. Esso conterrà in sequenza i valori dei centroidi dei vari cluster ; ciò significa che la prima riga conterrà i valori dei centroidi del cluster n°1 , la seconda quelli del cluster n°2 e via dicendo. Dal momento che kMax » A , le rimanenti (kMax-A) righe di Z rimarranno nulle.
- **Cluster** : rappresenta la tabella di clustering, ossia un vettore riga con tanti elementi quanti sono i pixels che compongono le varie immagini (tutte le immagini relative a vari TE hanno uguale dimensione); ogni elemento conterrà un valore intero da 1 ad A, ad indicare che quel dato pixel su tutte le immagini del dataset (pixel vector) è stato attribuito al cluster indicato da tale numero.
- **Xcluster** : è una lista di elementi, in cui ogni elemento è un array contenente i valori dei pixel vectors che sono stati attribuiti ai vari cluster; il primo elemento della lista sarà dunque costituito da tutti i pixels delle immagini che sono stati assegnati al cluster n°1 e così via.
- **OF_arr** : è un vettore con numero di elementi pari al n° massimo di iterazioni impostato; ogni elemento rappresenterà quindi il valore della OF assunto alla corrispondente iterazione.
- **A_arr** : stesso discorso di OF_arr, con la differenza che in questo vettore si riporta il n° di cluster individuati alla varie iterazioni;
- **convergence** : flag che indica se l' algoritmo ha raggiunto la convergenza (=1) oppure è terminato per aver raggiunto il numero massimo di iterazioni(=0);
- **Zlist** : lista costituita da tanti elementi quante sono le iterazioni massime consentite: ciascun elemento della lista sarà l'array dei centroidi (Z) ottenuto alla corrispondente iterazione.
- **last_iter** : n° dell'ultima iterazione eseguita dall'algoritmo prima di terminare.

Andiamo ora a descrivere brevemente le varie funzioni che, in sequenza, costituiscono i singoli step dell'algoritmo ISODATA.

- Function *'initialize centers'* : viene eseguita solo alla prima iterazione (quindi fuori dal loop) ; dal momento che inizialmente si ha un unico cluster comprendente tutti i dati, tale funzione inizializza il centroide di questo unico cluster sulle singole immagini del dataset.
- Function *'distributeDataPoints'* : calcola la distanza di ciascun pixel vector dai vari centroidi ed assegna ciascun vettore al centroide (e dunque al cluster) più vicino, aggiornando quindi la tabella di clustering. Per il calcolo della distanza di ciascun pixel vector, si sommano le differenze quadratiche tra il valore del pixel sulla singola immagine e valore del centroide sulla medesima immagine, andando infine ad estrarre la radice quadrata della somma così ottenuta.
- Function *'discardCluster'* e function *'reduce'* : le 2 funzioni realizzano insieme l'eliminazione dei cluster troppo piccoli, con dimensione (espressa in n° di pixels) inferiore al parametro *minclustersize*. La funzione *discardCluster* marca i cluster con dimensione inferiore alla soglia, i quali poi vengono fisicamente eliminati chiamando la funzione *reduce*. In base al n° di eliminazioni effettuate, si riduce il numero corrente di cluster (A) e si aggiorna l'array Z dei centroidi e la tabella di clustering facendo 'scorrere' i cluster rimasti. In altre parole, se ad esempio i cluster n°1 e n°2 vengono eliminati, il cluster n°3 e n°4 (se presenti) prenderanno il loro posto e via dicendo. Nel caso limite di eliminazione di tutti i cluster, si riparte nuovamente da un solo cluster e si reimpostano i centroidi chiamando nuovamente la funzione *'initialize centers'*; in caso contrario si procede con lo step successivo.
- Function *'recalculate'*: assegna i pixels appartenenti ai cluster scartati in precedenza, opportunamente marcati con il valore 0 nella tabella di clustering, ai cluster rimasti, utilizzando lo stesso principio della minima distanza.
- Function *'SplitOrMerge'* : sulla base del numero di iterazione e del numero di cluster correnti e di quello atteso, decide se effettuare uno step di splitting oppure di merging (si riveda paragrafo 4.1)
- Function *'calculateIADandDevStd'* : come suggerisce il nome, calcola la distanza intra-set per ciascun cluster e quella generale, mediata su tutti i cluster correnti. Calcola inoltre la deviazione standard degli elementi di ciascun cluster sulle varie immagini, andando infine a trovare il valore massimo di deviazione standard per ciascun cluster e l'indice relativo all'immagine su cui ogni cluster presenta deviazione standard maggiore.

- Function *'divide'* : inserita all'interno di un loop, controlla per ogni cluster se sono soddisfatte le condizioni necessarie allo splitting, ed in caso positivo procede a dividere il cluster selezionato in due nuovi cluster, secondo la procedura descritta nel paragrafo 4.1. In particolare, il nuovo centroidè Z_j^+ prenderà il posto di quello del cluster iniziale che è stato diviso, mentre l'altro nuovo centroide Z_j^- rappresenterà un nuovo valore da aggiungere all'array Z . Così facendo si aggiorna l'array dei centroidi e si incrementa di 1 il numero dei cluster correnti ogni volta che una divisione va a buon fine. L'esito di uno step di splitting è positivo quando almeno un cluster viene suddiviso; ciò si ripercuote sul valore di un flag (*split*) che assumerà in tal caso valore 1 (altrimenti rimarrà nullo), e sarà usato in seguito per la valutazione della minimizzazione della OF.
- Function *'distance'* : rappresenta una funzione utile per calcolare rapidamente la distanza inter-set tra una data coppia di centroidi.
- Function *'calculateAndOrderIED'* : richiama la funzione *distance* per calcolare le distanze fra varie le coppie di centroidi; successivamente recupera solo le distanze inferiori al parametro di lumping. I valori di IED che soddisfano tale requisito (se presenti) vengono ordinati in verso crescente; se si hanno più di L valori, con L numero massimo di coppie di cluster che possono essere raggruppate in una singola iterazione, si prendono solo i primi L valori, altrimenti si mantengono tutti i valori ottenuti.
- Function *'merge'* : se si ha almeno un valore di IED che ha soddisfatto i precedenti requisiti, si recupera il numero dei cluster della coppia da raggruppare, si cancella il centroide del cluster con numero più alto mentre il centroide del cluster con numero minore viene sostituito con il valore del nuovo centroide, ottenuto come media dei 2 centroidi raggruppati. Successivamente si decrementa di 1 il numero di cluster correnti e si aggiorna l'array dei centroidi e la tabella di clustering. L'esito positivo dello step di merging si ha quando almeno una coppia di cluster viene raggruppata e, come avvenuto in precedenza con lo splitting, tale situazione viene segnalata da un flag (*'merge'*) che assume in tal caso valore pari a 1.
- Function *'finishOrIterate'* : questa semplice funzione fa terminare l'algoritmo, uscendo dal loop principale, se l'algoritmo ha raggiunto la convergenza oppure se ha raggiunto il n° massimo di iterazioni ammesse; in caso contrario, incrementa di 1 il contatore dell iterazioni.
- Function *'calculateObjectiveFunction'*: funzione per il calcolo della funzione obiettivo. Per fare ciò si calcolano, per ogni cluster individuato, le distanze di ogni pixel di ogni immagine appartenente ad un dato cluster dal centroide di

quel cluster sulla stessa immagine, e si sommano i valori ottenuti.

E' importante notare che la convergenza dell'algoritmo ad un iterazione j -esima, valutata come descritto nel paragrafo 4.1, viene valutata all'inizio dell'iterazione successiva ($j+1$). Al termine di ciascuna iterazione vengono infatti aggiornati il numero dei cluster correnti e l'array dei centroidi, il quale rappresenta il nuovo set di valori con cui far ripartire l'iterazione successiva. Prendendo questo dato come input, la funzione 'distributeDataPoints' calcolerà le distanze dai nuovi centroidi, aggiornando la tabella di clustering. Di conseguenza la convergenza andrà valutata solo dopo l'esecuzione di tale funzione e a partire dall'iterazione $n^{\circ}3$, quando cioè ci saranno almeno due valori da poter confrontare; il primo valore di OF calcolato sarà relativo dunque alla seconda iterazione.

Vale la pena sottolineare che per la valutazione della convergenza non è stato possibile utilizzare un approccio identico all'algoritmo K-means, nel quale l'algoritmo termina quando le definizioni dei centroidi rimangono pressochè invariate tra 2 iterazioni successive; nel caso dell'algoritmo ISODATA ciò potrebbe condurre a soluzioni errate, poiché può accadere che in una certa iterazione non avvenga né suddivisione né raggruppamento di cluster, in quanto le relative condizioni non risultano soddisfatte. In questo caso le definizioni dei centroidi non variano ma non è affatto detto che l'algoritmo abbia raggiunto la convergenza. Utilizzando lo stesso criterio, la valutazione della convergenza tramite minimizzazione della OF, oltre a venir realizzata con le modalità già descritte, avviene solo ed unicamente se all'iterazione precedente si è verificato almeno un raggruppamento o una divisione di cluster. Anche in questo caso infatti potrebbe avvenire che a cavallo di 2 iterazioni successive la OF non vari (o non lo faccia sufficientemente) poiché non si è verificato alcuna suddivisione o raggruppamento di cluster; senza inserire questo ulteriore controllo, una valutazione di tale genere potrebbe portare erroneamente ad affermare che l'algoritmo abbia anzitempo raggiunto una situazione di convergenza.

4.3 Applicazione su immagini 'phantom'

Una volta completata la scrittura del codice IDL relativo all' algoritmo ISODATA, le prime immagini sulle quali esso è stato testato non sono state immagini RM cardiache GRE-T2* multiecho di pazienti che si erano già sottoposti a tale modalità di imaging all'interno del protocollo MIOT in passato, bensì immagini fantoccio ('phantom') opportunamente create. Per creare tali immagini è stata creata un immagine in formato ppm ('Portable PixMap format') con dimensioni pari a 127 colonne e 133 righe, per un totale dunque di 16891 pixels. Tale immagine è stata generata allo scopo di ricalcare abbastanza fedelmente il numero, la morfologia e la collocazione spaziale dei tessuti che solitamente si identificano all'interno delle immagini RM ottenute nelle acquisizioni reali.

Si ricorda che i tessuti in esame sono miocardio, fegato, tessuto adiposo, sangue ('blood pool'), tessuto muscolare non miocardico e aria (background dell'immagine). A partire da tale immagine è stato creato il dataset multidimensionale di immagini 'phantom' multiecho, ottenute a 10 TE crescenti ed equispaziati.

L'utilizzo di tale immagini ha inoltre permesso di calcolare opportuni indici (descritti in seguito nel dettaglio) per la valutazione delle performance di tale algoritmo, i quali dunque caratterizzano l'efficacia del funzionamento di tale algoritmo di segmentazione per gli scopi proposti.

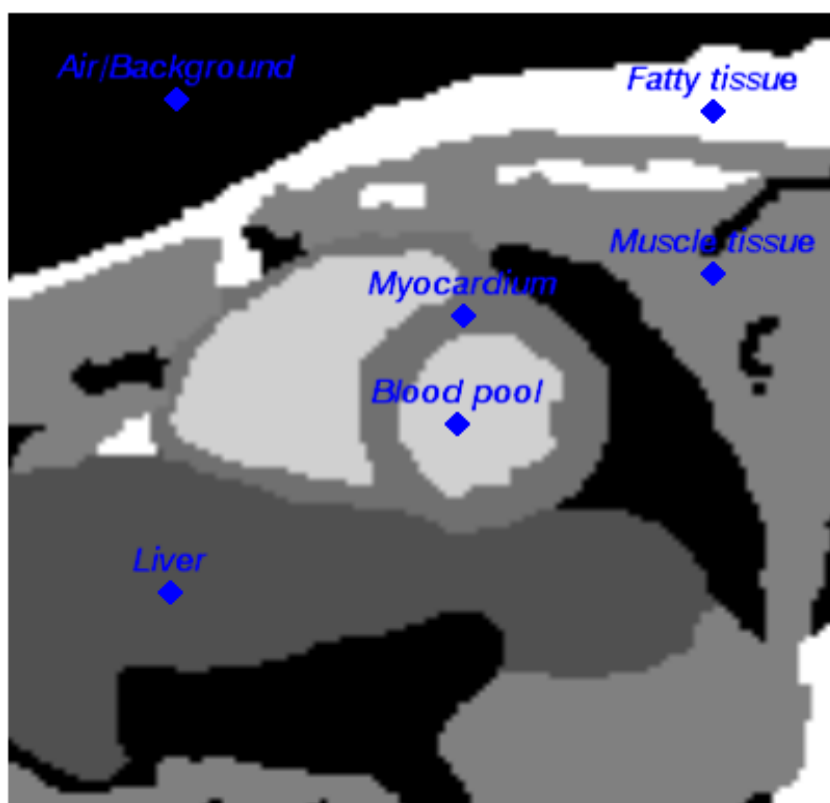


Fig 4.7 Immagine 'phantom' creata con i vari tessuti in evidenza

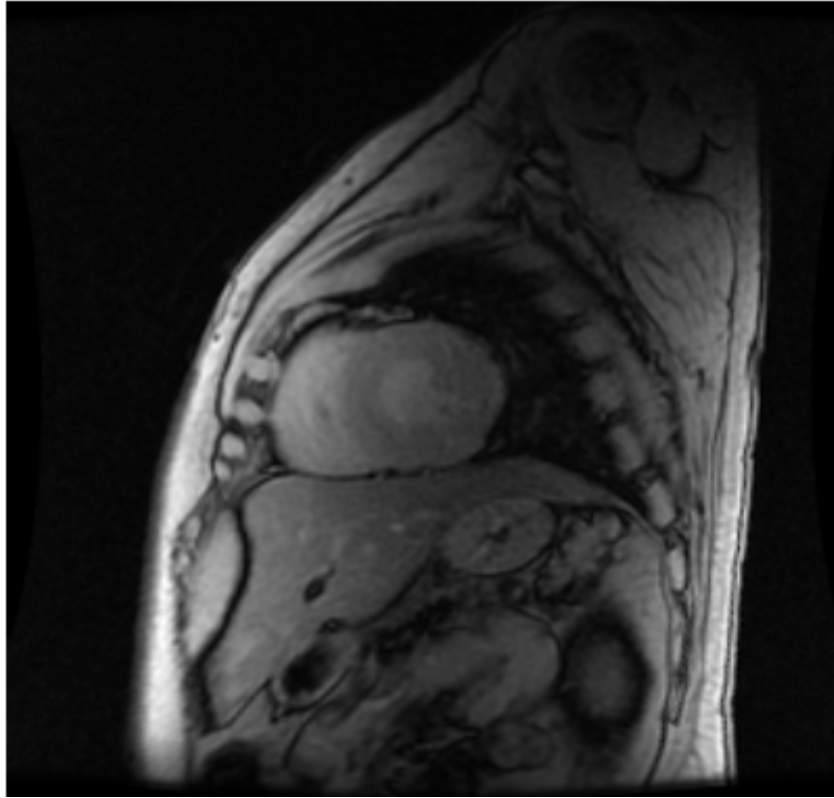


Fig 4.8 Immagine GRE-T2 multiecho reale*

Le immagini sopra riportate mostrano un confronto tra l'immagine fantoccio realizzata (fig. 4.7) e la porzione centrale di un'immagine RM relativa al 1°TE di una fetta media in asse corto in un'acquisizione GRE-T2*multiecho (fig. 4.8).

Le immagini RM acquisite con tale metodica hanno infatti dimensioni maggiori (256x256) rispetto all'immagine fantoccio creata.

A bassi valori di segnale corrispondono gradazioni scure di grigio tendenti al nero, mentre a valori elevati corrispondono livelli chiari di grigio tendenti al bianco.

Di conseguenza, nell'immagine fantoccio è possibile riconoscere in nero il background, in bianco il tessuto adiposo, mentre il miocardio si trova al centro dell'immagine con il sangue (più chiaro) all'interno delle cavità cardiache; al di sotto del miocardio è riconoscibile il fegato, mentre il tessuto muscolare non miocardico si trova nelle zone rimanenti dell'immagine. Per facilità di riconoscimento i vari tessuti sono stati evidenziati in fig 4.7 con una 'label' ed un simbolo di colore blu.

Una volta creata l'immagine fantoccio iniziale, è stata creata una tabella ('*phantomTable*') per riportare e rendere disponibili in ogni momento, da codice, le principali informazioni sui 6 tessuti in esame:

Tessuto	Indice	Segnale TE min	T2* value
Background/air	0	15	NA
Blood pool	208	220	140
Myocardium	112	150	heart T2*star
Liver	80	140	7
Fat	255	300	40
Muscle	128	140	35

Tabella 4.1 Indice, segnale al primo TE e valore di T2 di ciascun tessuto.*

La tabella 4.1 riporta, per ciascun tessuto, l'indice (ossia il livello di grigio assunto dal tessuto nell'immagine fantoccio di fig. 4.7), il valore assunto dal tessuto nell'immagine relativa al primo TE e i valori di T2* (espressi in ms) scelti per ciascun tessuto. Tutti i valori di segnale e di T2* sono stato scelti in seguito ad analisi su immagini reali multiecho e rappresentano valori tipici per i tessuti in esame. Come si può notare il background dell'immagine non ha ovviamente un tempo di rilassamento T2*. Per quanto riguarda il fegato invece, il valore scelto (7.0ms) è compatibile con un accumulo di ferro a livello epatico, che rappresenta una situazione clinica molto frequente nei pazienti che si sottopongono a valutazione quantitativa dell'accumulo di ferro cardiaco tramite imaging RM. L'accumulo di ferro epatico è infatti considerato precursore dell'accumulo di ferro negli altri organi, e di conseguenza i pazienti talassemici che si sottopongono a tali indagini presentano già un accumulo di ferro epatico severo e conclamato.

Il valore di T2* epatico in tali pazienti talassemici si colloca quindi spesso in un range vicino al valore selezionato. Altri studi hanno tuttavia dimostrato come una grave siderosi del miocardio possa esistere anche con valori di ferritina e ferro epatico accettabili, e dunque con valori di T2* epatico superiori.

Il valore di T2* cardiaco rappresenta invece la variabile principale del nostro problema, in quanto per i pazienti che si sottopongono a tali esami non si conosce assolutamente nulla riguardo all'accumulo di ferro miocardico ; di conseguenza il T2* misurabile può variare da frazioni di ms a 20ms per quanto riguarda situazioni patologiche di accumulo di ferro, fino a valori molto superiori nel caso di pazienti senza accumulo. Il limite inferiore nel range di normalità è di 20 ms, mentre valori tra 10-20 ms sono indicativi di moderato sovraccarico marziale, considerato invece grave per valori di T2*<10ms, e cui viene associata solitamente una ridotta frazione di eiezione sinistra, come si può notare in fig. 4.8.

Secondo uno studio di Anderson et al. del 2001, la media dei valori normali di T2* cardiaco, valutato a livello del setto interventricolare, è invece di 52 ± 16 ms [55].

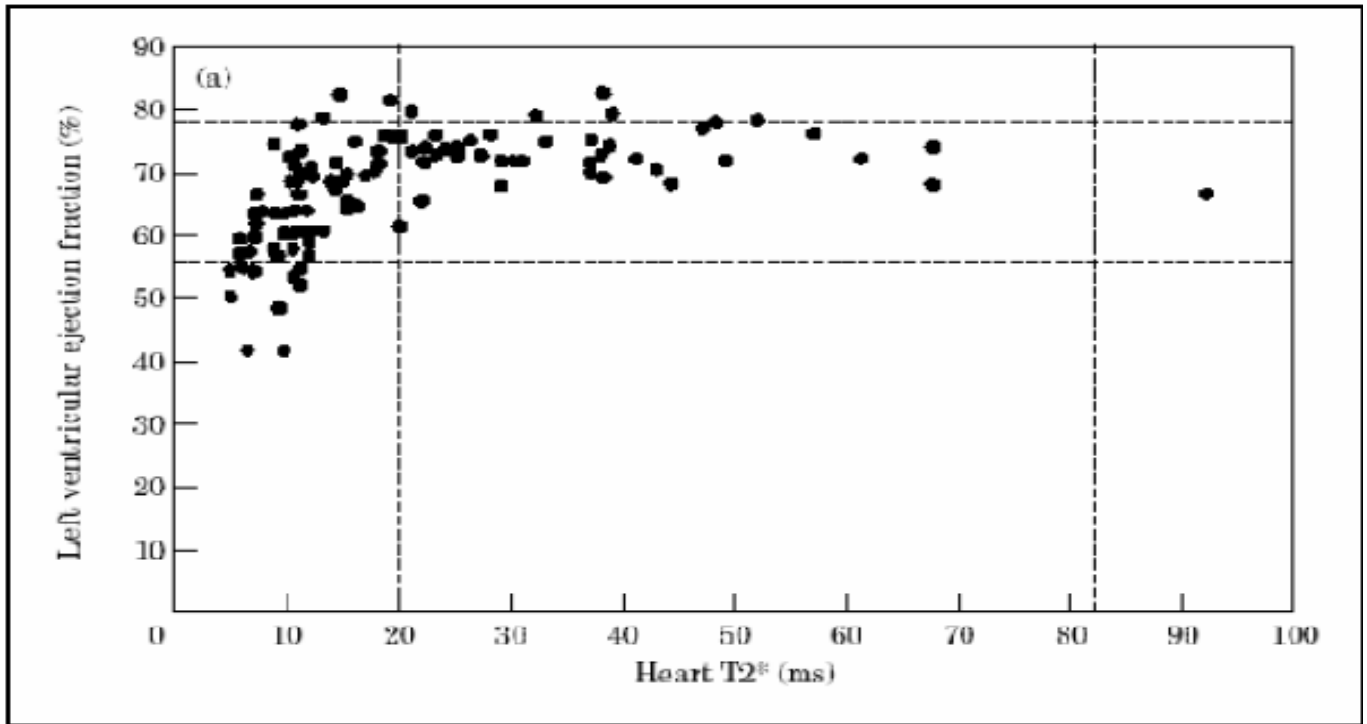


Fig 4.8 Andamento dei valori % di frazione di eiezione sinistra in una coorte di pazienti al variare del valore di T2* cardiaco. Tratto da [55]

Il valore di T2* cardiaco potrà dunque essere variato dall'esterno in un range sufficientemente ampio di valori, per valutare l'accuratezza e la qualità della segmentazione effettuata al variare dei valori di T2* cardiaco che si possono avere nelle comuni situazioni cliniche. Sarà quindi molto importante valutare la capacità dell'algoritmo ISODATA, al variare del valore del T2* cardiaco, di segmentare correttamente tutti i vari tessuti ed in particolare il miocardio, distinguendolo dai tessuti circostanti, per poter infine permettere un corretto riconoscimento dei contorni endocardici ed epicardici.

A partire dalla tabella 4.1 si è proceduto alla creazione di un dataset multidimensionale di immagini 'phantom' multiecho, simulando in esse il decadimento T2* dei vari tessuti con i rispettivi valori di T2*. E' stato creato un array di 10 immagini uguali al 'phantom' iniziale (127x133), ed in seguito al valore dell'indice di ciascun tessuto è stato sostituito il valore di segnale calcolato in base al decadimento, dipendente dai valori di T2* e di TE. Per il singolo tessuto, il valore di segnale nell'immagine relativa al primo TE (S0) è stato calcolato con la seguente formula:

$$S0_j = \text{index}_j / e^{-TE(0)/T2^*_j}$$

dove j identifica il singolo tessuto, index rappresenta il livello di grigio del tessuto sul fantoccio iniziale, e $TE(0)$ è il primo valore del tempo di eco.

Il vettore dei 10 valori di TE impiegato è stato il seguente, in accordo con tutte le caratteristiche specifiche dell'imaging RM cardiovascolare prese in esame nel

paragrafo 2.5:

$$x_T = [2.0, 4.2, 6.4, 8.6, 10.8, 13.0, 15.2, 17.4, 19.6, 21.8]$$

Una volta calcolati i valori di S_0 per ogni tessuto, il valore di segnale di ciascun tessuto ai vari TE è stato calcolato semplicemente utilizzando la formula del decadimento T_2^* del segnale RM, ovvero:

$$S_{ij} = S_{0j} \cdot e^{-x_{Ti}/T_2^{*j}}$$

dove in questo caso i identifica il n° del TE.

Si noti infine che, dal momento che l'aria non possiede un proprio T_2^* , il decadimento per questo 'tessuto' non è stato simulato e tutti i pixel appartenenti ad essa sono stati posti a zero su tutte le immagini.

Il dataset così creato è un dataset ideale, cioè privo di qualsiasi fonte di disturbo che corrompa la qualità delle immagini. Un'immagine biomedica ideale può essere definita infatti come un insieme di regioni non sovrapposte ognuna caratterizzata da un certo livello di grigio; ad ogni livello di grigio e quindi ad ogni regione corrisponderà ad un tessuto. Per quanto riguarda il fine diagnostico ultimo dell'imaging medico, quello che si vorrebbe è che a ogni tessuto venga associato in modo univoco un singolo valore di segnale, in modo che ogni tessuto sia distinguibile dagli altri senza possibilità di errore. Nella realtà vi sono invece numerose cause che agiscono come fonte di disturbo e corrompono l'immagine ideale, rendendola per l'appunto 'reale':

1. Rumore biologico: alcuni tessuti non sono omogenei ma caratterizzati da una struttura interna. Ad esempio nel cuore il sangue che riempie i ventricoli potrà in generale essere considerato omogeneo (non considerando il movimento del sangue stesso) mentre il muscolo cardiaco sarà caratterizzato da una struttura a fibre che produce una disomogeneità nell'immagine. Con questo fenomeno si intende quindi che le proprietà intrinseche del tessuto divergono dal modello ideale.
2. Effetto volume parziale (PVE, 'Partial Volume Effect'): il fatto che il processo di acquisizione sia discreto implica che il segnale venga acquisito in un certo volume di spazio pari alla risoluzione spaziale della metodica. Se due o più tessuti convivono nello stesso volume elementare, il voxel corrispondente dell'immagine assumerà un valore intermedio tra i valori caratteristici dei tessuti presenti nel voxel.
3. Attenuazione: in molti casi l'immagine biomedica è affetta da un processo di attenuazione del segnale, che produce una distorsione continua dell'immagine lentamente variabile. Nella MRI ad esempio avremo un effetto indotto dalla disomogeneità nel campo magnetico statico, mentre negli ultrasuoni l'effetto sarà legato alla distanza del tessuto dalla sonda.

4. *Rumore*: l'immagine sarà infine corrotta da rumore con una certa distribuzione, che dipenderà dal processo fisico utilizzato per l'acquisizione. Ad esempio in MRI il rumore avrà distribuzione Riciano, negli US avrà distribuzione di Rayleigh, etc. Al contrario di quanto avviene per il rumore gaussiano, il rumore non è necessariamente di tipo additivo.

Tutti questi fattori di disturbo elencati (ed anche altri, si pensi ad esempio agli artefatti di movimento) allontanano l'immagine biomedica dalla situazione di idealità, rendendo più difficile quindi l'identificazione e la differenziazione dei vari tessuti. Per avvicinare quindi le immagini fantoccio alla situazione più complessa delle immagini reali, sono state introdotte alcune fonti di disturbo tra quelle citate; come prima cosa è stato simulato il PVE effettuando uno 'smoothing' dei dati, ottenuto mediante la convoluzione delle immagini con un opportuno kernel gaussiano di dimensione 3x3 (filtro a media mobile). Questa operazione agisce sui contorni presenti nelle immagini, così come l'effetto volume parziale agisce solo sulle zone di transizione tra due o più tessuti, senza invece influire significativamente sulle zone omogenee dell'immagine. Effettuando un'operazione di 'smoothing' si distribuiscono in maniera uniforme nuovi livelli di grigio nell'immagine, compresi tra quelli già presenti che rappresentano i valori tipici di ciascun tessuto al TE in esame (i quali sono stati calcolati e dunque sono noti a priori).

Dopo aver simulato il PVE, abbiamo inserito il rumore di acquisizione all'interno delle immagini, ricordando le caratteristiche del rumore presente in MRI. In MRI infatti, le immagini sono ricostruite a partire dal K-spazio, che rappresenta il dominio della frequenza. La parte reale ed immaginaria del K-spazio rappresentano i due canali (fase e quadratura) attraverso i quali viene demodulato il segnale RM. Il rumore di acquisizione si inserisce a livello dei due canali e viene modellato come rumore gaussiano bianco con deviazione standard uguale sui due canali. Per riportare le immagini nel dominio dello spazio, si calcola la trasformata di Fourier inversa del K-spazio ottenendo un'immagine complessa della quale si calcola e si utilizza comunemente il modulo. La non linearità introdotta dall'operazione di modulo cambia la distribuzione del rumore che diviene di tipo Riciano. Il rumore Riciano non è più additivo, ma moltiplicativo, e quindi il rumore sarà diverso in regioni diverse dell'immagine.

Per cercare di simulare una situazione analoga sulle immagini fantoccio sono state create due sorgenti di rumore gaussiano a media nulla e SD uguale e pari ad 1.5, ed in seguito è stata effettuata l'operazione di modulo.

In tale operazione, la nostra immagine fantoccio è stata considerata come il segnale di fase, e quindi la parte reale del K-spazio, mentre la parte immaginaria è stata quindi posta a 0. Pur non essendo dunque una procedura del tutto corretta e fedele alla reale pratica d'acquisizione, a causa dell'impiego di immagini phantom, è stato possibile inserire un rumore di acquisizione in tali immagini, inserendo una nuova

fonte di disturbo che 'sporca' le immagini e le avvicina ancora di più al caso reale. Si noti che il valore di deviazione standard del rumore applicato ($\sigma=1.5$) è molto basso e lontano dalle comuni immagini RM, dove σ si assesta di solito a valori compresi tra 5 e 6, con picchi anche superiori. Questo valore tuttavia non è da considerarsi come una costante, e sarà variato in seguito per investigare il comportamento dell'algoritmo ISODATA al variare del rumore applicato sulle immagini.

Dopo aver completato la creazione del dataset multidimensionale di immagini fantoccio, l'algoritmo può essere mandato in esecuzione settando i parametri di input e passandoli nel corretto ordine all'algoritmo stesso; una volta terminata l'esecuzione si può poi procedere alla visualizzazione e l'analisi dei vari dati forniti come output. Come visto in precedenza, come prima cosa vengono infatti graficati gli andamenti del numero di cluster e dei valori assunti dalla funzione obiettivo al variare del n° di iterazioni compiute dall'algoritmo.

Insieme a questo, la tabella di clustering viene trasformata in un'immagine di dimensioni pari a quelle del phantom iniziale effettuandone un 'reshape'. La tabella di clustering è infatti un vettore avente tanti elementi quanti sono i pixels delle immagini analizzate, e contiene valori interi che indicano il n° del cluster al quale tale pixel è stato assegnato durante la segmentazione. Modificando la tabella si ottiene dunque un'immagine i cui pixel conterranno sempre tali valori interi ('tissue signature') ai quali poi corrisponderanno colori diversi al momento della visualizzazione; il risultato di questa procedura sarà dunque un 'immagine composta a falsi colori, detta *'theme map'* (letteralmente 'mappa a tema') che riassumerà l'esito della segmentazione, riportando con colori diversi i cluster identificati dall'algoritmo ISODATA. La figura 4.9 mostra una theme map ottenuta nel caso di segmentazione corretta, in grado di riconoscere senza errori tutti e 6 i tessuti presenti nelle immagini fantoccio. A scopo di completezza si riportano i valori dei parametri utilizzati per la segmentazione riportata; una loro trattazione singola e dettagliata sarà riportata in seguito.

- Heart $T2^* = 4\text{ms}$;
- Noise SD = 1.5;
- n° TE/n° imm. (dimensione dataset) = 6;
- kDesired = 6;
- kMax= 30;
- I (n° max iterazioni) = 100
- L=1;
- Threshold =0.0;

- Min cluster size = 800 pixels;
- Splitting Parameter = 1.8;
- Lumping Parameter = 8.0;



Fig 4.9 Esempio di theme map relativa ad una corretta segmentazione del dataset di immagini fantoccio

Come è possibile notare, confrontando questo risultato con il 'phantom', tutti i tessuti vengono correttamente segmentati; in bianco viene rappresentato il cuore, in magenta il 'blood pool', in rosso il fegato, in verde il tessuto muscolare, in nero il tessuto adiposo ed in blu l'aria/background.

4.4 Selezione e calcolo degli indici di performance

Uno dei vantaggi nell'utilizzare immagini fantoccio è dato dalla possibilità di calcolare opportuni indici che caratterizzino le prestazioni dell'algoritmo su tali dati. Tali indici non sarebbero calcolabili utilizzando come input immagini RM reali, a causa della loro complessità e della mancanza di informazioni a priori sui tessuti visualizzati nelle immagini (numero, valore di segnale, valore di T2*).

E' stato quindi necessario andare a selezionare un set di indici opportuni attraverso i quali valutare le performance dell'algoritmo ISODATA al variare di numerosi parametri, caratterizzando così il funzionamento dell'algoritmo stesso.

Il primo indice scelto, seppur non si possa considerare a tutti gli effetti un indice, è stato il numero di cluster individuati ogni volta dalla procedura di segmentazione; essendo infatti noto a priori il numero di tessuti che compongono l'immagine phantom (6), tale valore può fornire un'indicazione primaria di quanto l'algoritmo si avvicini alla soluzione corretta. Il numero atteso di cluster non è tuttavia un valore costante, e l'algoritmo ISODATA è in grado di auto-aggiustare tale numero qualora determini che quello passato come input non sia corretto. Questa situazione può verificarsi nel caso che 2 o più tessuti abbiano valori di segnale uguali o comunque molto simili (come può avvenire tra miocardio e fegato oppure tra miocardio e tessuto muscolare, al variare del T2* cardiaco, come si vedrà in seguito); in questi casi, pur essendo noto il valore atteso del numero di cluster, l'algoritmo potrebbe considerare come numero ottimale un valore diverso (di fatto minore di 6) sulla base delle informazioni riguardanti i livelli di grigio dei vari tessuti che avrà a disposizione. Si può quindi concludere che la valutazione del numero di cluster identificati ogni volta, in combinazione con altri indici, può aiutare nel verificare l'accuratezza dell'algoritmo di segmentazione utilizzato. Il secondo indice impiegato è il RMSE ('Root Mean Square Error', radice quadrata dell'errore quadratico medio), un indice impiegato per valutare a livello globale la discrepanza media tra i dati osservati e i dati stimati. I dati osservati in questo caso sono i valori di segnale di ciascun tessuto ai vari TE, calcolati a partire dalla phantomTable con le equazioni precedenti, e dunque noti; i dati stimati sono invece costituiti dai valori dei centroidi, forniti in uscita dall'algoritmo all'interno dell'array Z. L'array Z, come già specificato in precedenza, è una matrice con n° di righe pari a kMax e n° di colonne pari al n° di immagini che formano il dataset; le prime A righe di Z sono riempite con i valori degli A centroidi dei cluster individuati dalla segmentazione, mentre le rimanenti rimarranno nulle. Il singolo elemento (i,j) di Z rappresenterà dunque il valore medio assunto dall' i-esimo cluster (tessuto) all'interno dell' j-esima immagine; se l'algoritmo funziona correttamente tale valore dovrebbe essere uguale o molto vicino al valore di segnale assunto dal corrispondente tessuto al rispettivo TE; in particolare i valori dei vari centroidi nelle immagini successive al primo TE dovrebbero seguire

correttamente il decadimento dei vari tessuti, sulla base del loro valore di T2*; a valori di T2* bassi corrisponderanno decadimenti di segnale (e dunque del valore dei centroidi al crescere dei TE) rapidi, mentre per T2* elevati il decadimento sarà più lento.

300.51099	284.47705	269.22125	254.83910	241.28975	228.38593
140.49637	131.96289	124.00415	116.47169	109.42152	102.76799
2.3710938	2.3729441	2.4050164	2.3850739	2.3778782	2.3869243
220.48276	217.11517	213.64345	210.39449	207.06897	203.89655
143.12155	98.700935	68.711029	54.097557	34.343021	24.568821
143.12155	98.700935	68.711029	42.670639	34.343021	24.568821

Fig 4.10 Valori dei centroidi ottenuti per la segmentazione di fig. 4.9

0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.00000000
220.00000	216.56988	213.19325	209.86925	206.59708	203.37593
150.00000	86.542473	49.930661	28.807483	16.620473	9.5891787
140.00001	102.24346	74.669451	54.531862	39.825187	29.084748
300.00000	283.94553	268.75022	254.36810	240.75564	227.87164
140.00000	131.47087	123.46134	115.93979	108.87646	102.24345

Fig 4.11 Valori di segnale dei tessuti nei primi 6 TE per il dataset impiegato per la segmentazione di fig 4.9

La fig 4.10 mostra i valori dei centroidi ottenuti per i 6 cluster segmentati in precedenza in fig 4.9, mentre la fig 4.11 mostra i valori assunti da ogni tessuto nei primi 6 TE, calcolati come tramite le equazioni descritte in precedenza. In ordine di riga, i valori riportati nella fig 4.11 si riferiscono rispettivamente a aria, 'blood pool', miocardio, fegato, grasso e tessuto muscolare.

Confrontando tali valori con quelli dei centroidi, si nota chiaramente come i centroidi dei primi 4 cluster siano riferiti con buona precisione rispettivamente a grasso, tessuto muscolare, acqua e blood pool. Come si può vedere invece gli ultimi 2 centroidi, riferiti rispettivamente a fegato e miocardio, sono pressochè uguali tra di loro e leggermente diversi dai rispettivi valori attesi, se confrontati con l'andamento esibito dagli altri tessuti; tale situazione si verifica poiché miocardio e fegato hanno valori di segnale molto simili sulla prima immagine (150.0 e 140.0) e valori T2* molto vicini (4.0ms e 7.0ms); l'algoritmo è comunque in grado di identificarli e differenziarli correttamente, e tale differenza è evidente a livello della 4°immagine (4°TE) dove il segnale del miocardio è inferiore a quello del

fegato (42,67 rispetto a 54.09), in quanto il suo decadimento avviene più rapidamente.

Per calcolare il valore di RMSE si calcola, per ogni pixel, la differenza quadratica tra il valore assunto da tale pixel sull'immagine 'phantom' relativa ad ogni TE impiegato ed il valore assunto dal medesimo pixel in seguito alla segmentazione; tale valore si ottiene assegnando ai pixel appartenenti a ciascun cluster il valore assunto dal rispettivo centroide sull'immagine in esame. Una volta calcolate, le differenze vengono poi sommate, normalizzate per il numero totale di pixels ed in seguito ne viene calcolata la radice quadrata; si ottiene così un array di valori di RMSE, uno per ogni immagine che costituisce il dataset impiegato. Il RMSE può essere anche analizzato da un punto di vista visivo, visualizzando la mappa delle differenze quadratiche calcolate, con l'ausilio di una color map che esalti le differenze di valore. I valori di RMSE usati per l'analisi sono quelli relativi al primo TE°, dove è ragionevole supporre che l'errore sia maggiore.



Fig 4.12 Mappa del RMSE relativo al 1°TE, per la segmentazione di fig 4.9

La figura 4.12 mostra la mappa del RMSE relativa al 1°TE, calcolata sempre per lo stesso set di parametri usato in precedenza; secondo la colormap usata, le regioni in nero rappresentano differenze molto basse (pressochè nulle), mentre le zone di colore rispettivamente verde, blu, magenta e bianco indicano differenze di valore crescente. Tali differenze si verificano in prossimità dei contorni, molto

probabilmente a causa del PVE, e per i pixels classificati come 'aria', dove è maggiore la differenza quadratica tra valore osservato e quello stimato (rispettivamente 0 e circa 2.37). Il valore globale di RMSE ottenuto in questo caso è molto basso, pari a 1.073.

Il RMSE è quindi un indicatore globale della bontà ed accuratezza della segmentazione effettuata, che valuta l'errore complessivo commesso su tutta l'immagine senza invece concentrarsi sull'errore commesso sui singoli tessuti. Il passo successivo è stato quindi quello di andare a valutare la capacità dell'algoritmo di identificare e differenziare correttamente alcuni singoli tessuti, considerati 'critici' per il problema clinico affrontato.

L'indice scelto è stato la 'Overlapping Area' (OA, area di sovrapposizione), ossia il numero di pixels di un dato tessuto che vengono correttamente segmentati; tale valore viene normalizzato tra 0 e 1 ed espresso eventualmente in percentuale. I tessuti considerati 'critici', e dunque selezionati, sono stati miocardio, fegato e 'blood pool'. Lo scopo primario della procedura di segmentazione è infatti quello di identificare correttamente il tessuto miocardico e di differenziarlo dai tessuti circostanti, per poter ottenere in seguito il corretto tracciamento dei contorni della parete cardiaca; risulta evidente quindi quanto sia importante valutare la capacità dell'algoritmo ISODATA di riconoscere correttamente tale tessuto. Fegato e sangue sono stati invece selezionati per due semplici motivi;

- la corretta identificazione del 'blood pool' e la sua separazione dal miocardio permette di ottenere facilmente i contorni dell'endocardio;
- il fegato, oltre che trovarsi molto vicino al miocardio nelle immagini da un punto di vista topologico, può assumere in condizioni patologiche valori di segnale molto simili al miocardio, assumendo valori di $T2^*$ simili. Si ricorda infatti che la maggior parte dei pazienti talassemici sottoposti alla valutazione dell'accumulo di ferro nel cuore tramite MRI presenta, al momento dell'esame, un'accumulo di ferro epatico conclamato, dunque con un basso valore di $T2^*$ epatico; nel caso sia presente anche un severo accumulo miocardico, anche il $T2^*$ del cuore sarà basso, e ciò potrebbe costituire un ostacolo alla corretta identificazione dei 2 tessuti.

Come sarà evidenziato invece in seguito, un altro ostacolo è causato dal fatto che il cuore, in condizioni fisiologiche (assenza di accumulo di ferro), assume valori di segnale RM simili al tessuto muscolare non miocardico; il miocardio è infatti a tutti gli effetti un muscolo, e dunque in condizioni normali esibirà il segnale tipico di tale tessuto.

Tutte queste valutazioni non possono essere note a priori, in quanto non sono note le condizioni cliniche del paziente che si sottopone alla valutazione quantitativa dell'accumulo di ferro cardiaco; è quindi fondamentale investigare sulle capacità di segmentazione dell'algoritmo in un ampio range di variabilità clinica dei pazienti

che si sottopongono a tale metodica.

Per il calcolo delle OA è necessario prima di tutto calcolare le maschere ideali dei 3 tessuti in esame; conoscendo infatti il valore assunto da ciascun tessuto nel 'phantom', si possono creare immagini binarie dove ai pixels aventi tale valore sarà assegnato il valore 255.0 (colore bianco nelle immagini), mentre i pixels rimanenti saranno nulli (colore nero nelle immagini). Le figure seguenti (4.13, 4.14 e 4.15) mostrano le maschere ideali rispettivamente di cuore, fegato e 'blood pool'.



Fig 4.13 Maschera ideale del miocardio



Fig 4.14 Maschera ideale del fegato



Fig 4.15 Maschera ideale del 'blood pool'

Una volta ottenute tali maschere ideali, è necessario ottenere, con lo stesso principio, le maschere degli stessi tessuti identificati dalla segmentazione; per fare ciò si prendono in esame tutti i cluster ottenuti, si calcola maschera per ognuno di essi (mettendo a 255 i pixel appartenenti al cluster e a 0 tutti gli altri) e si assegna al tessuto in esame il cluster che presenta il maggior grado di 'overlap'. Il grado di 'overlap' si calcola semplicemente attraverso un AND logico tra la maschera ideale del tessuto e la regione dell'immagine appartenente al cluster in esame. Una volta che i cluster individuati sono stati assegnati a ciascuno dei 3 tessuti, la OA si calcola mediante tale formula:

$$OA_j = (M1_j \&\& M2_j) / (M1_j \parallel M2_j)$$

dove:

- $M1_j$ = maschera ideale del tessuto j-esimo;
- $M2_j$ = la maschera dello stesso tessuto ottenuta sulla theme map;
- $\&\&$ = AND logico;
- \parallel = OR logico.

Il numeratore di tale equazione rappresenta l'area comune (intersezione) tra le 2 maschere, mentre il denominatore rappresenta l'area totale occupata dalle 2 maschere (unione). Dividendo per l'OR logico si può tener conto correttamente anche delle situazioni critiche come quella di fig. 4.16; in questo caso il solo impiego dell'operatore AND condurrebbe a stimare erroneamente un grado di overlap massimo (=1).

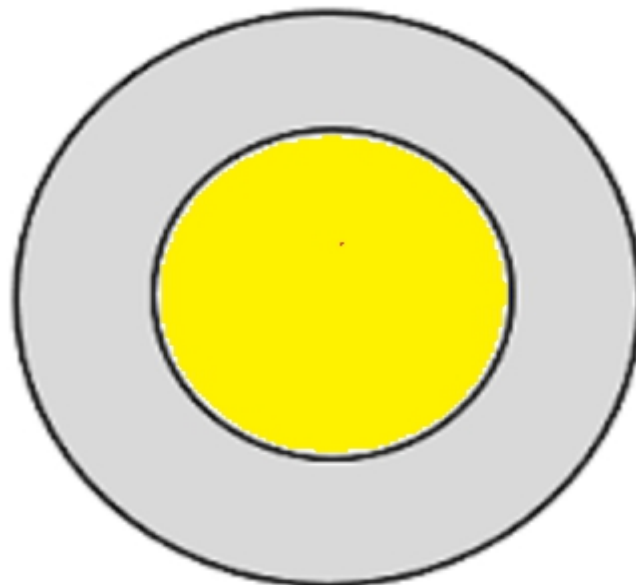


Fig 4.16 Caso di erronea attribuzione di OA=1 tra le maschere circolari grigia e gialla.

Il valore delle OA ottenuto è quindi un numero compreso tra 0 e 1, dove 0 implica l'assenza di sovrapposizione mentre implica la totale coincidenza tra le 2 maschere, e rappresenta la situazione ottimale che si vorrebbe raggiungere.

Valori intermedi indicano, in percentuale, la porzione di quel tessuto (intesa come n° di pixels) che viene correttamente segmentata, rispetto alla collocazione del tessuto stesso all'interno del 'phantom'.

CAPITOLO 5

Risultati ottenuti sul modello

5.1 Caratterizzazione dell'algoritmo in funzione della variabilità clinica

Con l'insieme di procedure descritte nel paragrafo precedente abbiamo dunque creato il dataset di immagini fantoccio da usare come input preliminare per l'algoritmo ISODATA, simulando in esse un processo di rilassamento $T2^*$ con tempi caratteristici per ognuno dei tessuti coinvolti. Le immagini ideali sono state in seguito corrotte introducendo due fonti di disturbo comuni nelle acquisizioni reali, come l'effetto volume parziale e il rumore; questi disturbi hanno dunque aumentato la complessità delle immagini fantoccio, cercando di avvicinarle in parte a quelle reali.

E' stato in selezionato in seguito un set di indici opportuni per valutare le performance dell'algoritmo e caratterizzare dunque il suo funzionamento.

Come già spiegato in precedenza, il $T2^*$ del miocardio rappresenta la variabile clinica di primario interesse che si vuole misurare; non essendo note a priori le condizioni cliniche dei pazienti, tale valore deve poter essere misurabile all'interno dell'ampio range relativo alle varie condizioni dei pazienti, dai casi di accumulo severo di ferro fino ai casi di assoluta normalità. Il $T2^*$ del miocardio rappresenta dunque la variabile principale del nostro problema, la quale verrà modificata in maniera iterativa per coprire ed investigare il range di valori corrispondente alla variabilità clinica attesa nei casi reali. A tale scopo, sono stati selezionati 7 valori di $T2^*$ cardiaco, distribuiti in maniera uniforme in tutto il range atteso e allo stesso tempo in grado di esaminare situazioni critiche per il funzionamento dell'algoritmo; la scelta di tali valori non è stata dunque casuale, bensì dettata da una serie di motivazioni di seguito brevemente elencamente per ciascuno dei valori scelti:

1. heart $T2^* = 4.0\text{ms}$: rappresenta un caso di accumulo di ferro cardiaco severo;
2. heart $T2^* = 7.0\text{ms}$: rappresenta anch'esso un caso di accumulo severo, ma soprattutto rappresenta la condizione critica per cui fegato e miocardio possiedono nel 'phantom' lo stesso valore di $T2^*$ (si veda tab. 4.1) e dunque un decadimento uguale. Questa può risultare una situazione molto comune nelle acquisizioni reali, nelle quali molti pazienti presentano già un significativo accumulo epatico di ferro; se tale accumulo è presente anche a livello cardiaco, i due tessuti avranno entrambi valori di $T2^*$ bassi e simili.
3. heart $T2^* = 13.0\text{ms}$: caso di accumulo moderato di ferro;

4. heart $T2^* = 20.0\text{ms}$: limite inferiore di normalità per l'accumulo di ferro/caso di accumulo lieve; valori superiori a tale soglia sono comunemente associati all'assenza di accumulo significativo a livello del miocardio (fig. 2.11);
5. heart $T2^* = 35.0\text{ms}$: valore vicino al limite inferiore (37ms) del range medio di normalità, secondo i risultati riportati da [55]. Questo valore rappresenta inoltre il caso critico in cui miocardio e tessuto muscolare possiedono lo stesso valore di $T2^*$ nel 'phantom' (tab. 4.1), in cui quindi il miocardio si presenta in condizioni non patologiche e si comporta in maniera del tutto simile al rimanente tessuto muscolare, in termini di segnale RM esibito;
6. heart $T2^* = 50.0\text{ms}$: valore vicino al valore medio (52ms) per i casi di normalità, secondo i risultati riportati da [55];
7. heart $T2^* = 60.0\text{ms}$: valore di poco inferiore al limite superiore (67ms) del range medio di normalità, secondo i risultati riportati da [55].

In seguito alla scelta di tali valori è stato scelto un set di parametri di input che si può definire critico in relazione all'efficacia di funzionamento dell'algoritmo ISODATA. Come descritto in precedenza, l'algoritmo necessita di svariati parametri di input per poter essere mandato in esecuzione; il primo step è stato dunque quello di valutare quali di questi parametri risultino influenti ai fini delle capacità di funzionamento dell'algoritmo, quali possano essere settati come costanti e quali invece necessitino di un'analisi approfondita.

I valori k_{Max} e k_{Desired} , rispettivamente il n° di cluster attesi e quello massimo possono essere considerati del tutto influenti; il primo serve unicamente ad evitare l'overflow dell'array dei centroidi (Z), mentre il secondo valore può essere modificato in maniera autonoma dall'algoritmo qualora esso determini che la stima iniziale proposta non sia corretta. Il valore k_{Max} è stato posto pari a 30, mentre k_{Desired} è stato posto pari a 6, ossia al numero di tessuti distinti che sappiamo essere presenti all'interno delle immagini fantoccio, e tali valori non sono stati modificati nel corso delle varie prove effettuate.

Il numero massimo di iterazioni consentite è stato posto uguale a 100; tale limite è sufficientemente elevato in quanto l'algoritmo si è dimostrato in grado di raggiungere la convergenza (o comunque una situazione stabile) in un numero molto inferiore di iterazioni, da un minimo di 6/7 fino a circa 20. Il parametro L , n° massimo di coppie di cluster che possono essere raggruppate in una singola iterazione, è stata posta pari a 1 per semplicità di programmazione. La soglia per valutare la minimizzazione della funzione obiettivo è stata invece posta a 0.15, nonostante l'algoritmo riesca in molti casi a raggiungere una situazione di stallo e di stabilità della OF attorno ad un minimo locale (figure 4.3 e 4.4) anche con valori di soglia molto minori e anche in caso di soglia nulla.

Il valore 0.15 è stato impostato per permettere di interrompere l'algoritmo nei casi

in cui esso oscilla attorno ad una condizione stabile senza però mai raggiungerla (figure 4.5 e 4.6), impedendo allo stesso tempo all'algoritmo di terminare prima del dovuto; è stato notato che questi casi si verificano principalmente per valori di T2* cardiaco superiori a 20ms (quindi all'interno del range di normalità), che hanno reso necessario la scelta di tale valore di soglia.

Il set di parametri considerati critici è stato dunque il seguente:

- parametro di splitting, θ_S ;
- parametro di lumping, θ_L ;
- minima dimensione dei cluster, θ_N ;
- n° TE/ n° immagini (dimensione del dataset impiegato).

Per ciascuno dei valori di T2* cardiaco presi in esame, ognuno dei seguenti parametri critici è stato variato all'interno di un opportuno range di valori, mantenendo invece fissi i rimanenti 3 parametri; per ogni valore assunto dal parametro in esame sono state effettuate 10 prove, e ad ogni prova sono stati misurati gli indici di performance descritti in precedenza (rispettivamente numero di cluster individuati, RMSE, Overlapping Area di miocardio, fegato e 'blood pool'). Una volta ottenuti tali dati, per ogni valore assunto dal parametro in esame è stata calcolata media e deviazione standard di ciascun indice sulle 10 prove eseguite; i risultati ottenuti sono riassunti nelle tabelle e nei grafici di seguito riportati. I grafici riportati sono quotati rispetto al valore di T2*, e riportano l'andamento di ciascuno dei 5 indici di performance al variare di ciascuno dei 4 parametri critici nel rispettivo range di valori selezionato.

La scelta dei 3 valori da fissare, facendo variare il 4° parametro, non è stata casuale ma dettata da alcune prove preliminari e da una serie di ipotesi che sono state fatte sul legame fra ciascun parametro e le caratteristiche intrinseche delle immagini oggetto della segmentazione.

Si può ipotizzare che il parametro θ_N , essendo una soglia minima di dimensione dei cluster, espressa in numero di pixels, sia legato alle dimensioni delle immagini usate (127x133, per un totale di 16891 pixels) ed in particolare alle dimensioni dei singoli tessuti presenti in esse. Tali valori sono facilmente misurabili sulle immagini fantoccio e sono di seguito riportati in ordine crescente:

- myocardium count = 1083 (pixels);
- blood pool count = 1450;
- fatty tissue count = 1591;
- liver count = 3080;
- muscle tissue count = 4823;
- background count = 4864.

Ci si può attendere dunque che, aumentando questo parametro oltre questi valori, i cluster con dimensione inferiore a θ_N non saranno a mano a mano riconosciuti e quindi inglobati non correttamente all'interno di altri cluster. Allo stesso tempo ci si può tuttavia aspettare che un valore di θ_N eccessivamente basso possa portare in alcuni casi (dipendentemente anche dal settaggio degli altri parametri critici) alla formazione di micro-cluster che non hanno nessuna corrispondenza con la realtà. Quando non oggetto di analisi, il parametro θ_N è stato quindi impostato pari a 800, inferiore alla dimensione della struttura più piccola presente nelle immagini fantoccio (il miocardio con 1083 pixels), ma allo stesso tempo sufficientemente grande da evitare la formazione di micro-clusters.

Per quanto riguarda la scelta del n° di immagini da impiegare, si è utilizzato come punto di partenza la letteratura analizzata riguardante l'applicazione dell'algoritmo ISODATA per la segmentazione di immagini RM multiparametriche; la maggior parte degli studi presi in esame ha utilizzato dataset RM 5D. Si può quindi ipotizzare che un dataset troppo piccolo (fino al caso limite di clustering monodimensionale) possa non essere in grado di fornire informazioni esaustive per identificare correttamente tutti i cluster; questa situazione è ulteriormente enfatizzata nel caso in esame di immagini RM multiecho, dove la diversa velocità di decadimento dei vari tessuti può essere apprezzata attraverso i vari TE. Allo stesso tempo l'utilizzo, nel caso di immagini RM multiecho, di un dataset troppo grosso potrebbe rivelarsi inutile o addirittura controproducente.

E' infatti noto che le immagini RM relative agli ultimi TE di una sequenza sono quelle in cui il segnale esibito da ogni tessuto è minore e dove l'influenza del rumore diventa importante; questo concetto è amplificato nel caso di tessuti a rapido rilassamento (bassi valori di $T2^*$), che negli ultimi TE assumono valori molto bassi confondendosi tra loro in zone scure dell'immagine. Per tutti questi motivi, quando non oggetto di analisi, questo parametro è stato impostato pari a 6, ovvero sono state scelte le immagini relative ai primi 6 TE consecutivi. Il parametro di lumping (θ_L) rappresenta una soglia minima di distanze euclidea tra i valori dei centroidi di 2 cluster, al di sotto della quale essi vengono raggruppati in unico cluster poiché considerati troppo 'vicini'. Tale parametro dovrebbe dunque dipendere dalla distanza (in termini di differenza di segnale) tra i tessuti con valori di segnale più simili. Analizzando la 'phantomTable' (tab. 4.1) si può notare che la differenza minore di segnale sulla prima immagine (1°TE) si ha tra miocardio e fegato e tra miocardio e tessuto muscolare; il primo assume valore 150.0, mentre gli altri due assumono lo stesso segnale pari a 140.0, con una differenza quindi pari a 10. E' importante notare che tuttavia il valore di distanza deve essere esteso sommando le differenze quadratiche tra i valori assunti dalla coppia di tessuti in esame nelle varie immagini, ed in seguito calcolando la radice quadrata della somma ottenuta. Tali valori di segnale a loro volta dipendono dal valore di $T2^*$ dei

tessuti in esame e dalla dimensione scelta per il dataset utilizzato. Un valore di θ_L troppo grande potrebbe portare all'erroneo raggruppamento di cluster sufficientemente distanti, e che quindi dovrebbero rimanere distinti; sulla base di quest'analisi preliminare il parametro θ_L è stato posto pari a 20 quando non oggetto di analisi, con le dovute varianti dovuti ad alcuni casi critici che verranno discusse in seguito.

Il parametro θ_S rappresenta una soglia massima di deviazione standard di un cluster, oltre la quale il cluster in esame può essere suddiviso in 2 nuovi cluster; essendo un valore riferito ad una misura della variabilità interna dei cluster, esso dipenderà principalmente dalle fonti di variabilità interne alle immagini, ovvero:

- il rumore presente sulle immagini;
- la variabilità dovuta ai diversi tempi di rilassamento $T2^*$ dei vari tessuti.

Come già descritto in precedenza, il rumore in MRI presenta una distribuzione Rician, che rende tale rumore moltiplicativo e a media non nulla. Nelle regioni dell'immagine ad alto SNR il rumore Riciano può essere ben approssimato con il rumore gaussiano presente nei canali di fase e quadratura, che ha la stessa deviazione standard nei due canali.

Nelle regioni a basso SNR, come lo sfondo dell'immagine, la distribuzione Riciana è simile alla distribuzione di Rayleigh. Per il background si ha :

$$\sigma_{\text{noise}} = \sigma_B \cdot 1.526$$

Quindi nelle immagini RM, se misuriamo il rumore sullo sfondo otterremo una sottostima del rumore di un fattore 1.526. Questo in realtà è vero per una bobina a singolo canale, mentre per bobine multicanale il fattore di conversione cambia leggermente. Questo significa che la deviazione standard del rumore sulle immagini varierà da un valore minimo pari alla deviazione standard del rumore gaussiano presente nei canali di fase e quadratura (σ_B , posto a 1.5 nelle immagini fantoccio), nei tessuti ad alto SNR, ad un valore massimo pari a :

$$\sigma_{\text{noise}} = 1.5 \cdot 1.526 = 2.2890 \text{ nei tessuti a basso SNR.}$$

Di conseguenza il parametro θ_S , quando non esaminato, è stato settato all'interno di tale range, con valori compresi tra 1.6 e 1.8.

5.2 Minima dimensione dei clusters

Il parametro θ_N è stato variato da 100 pixels a 2000 pixels con passo 100 pixels ; gli altri parametri critici sono stati invece fissati ai seguenti valori:

- n° immagini/ n° TE = 6;
- $\theta_L = 8$ se heart T2* = 4ms,
= 3 se heart T2* = 7ms;
= 20 se heart T2* > 7ms;
- $1.6 \leq \theta_S \leq 1.8$.

La diversa impostazione del parametro θ_L sarà discussa meglio in seguito, mentre la variazione di θ_S all'interno del range proposto non modifica i risultati ottenuti. Le tabelle seguenti mostrano i valori ottenuti per i vari indici per ciascuno dei 7 valori di T2* cardiaco esaminati, mentre i grafici riassumono tali risultati al variare del T2* cardiaco. Si noti che i tutti valori tabulati sono riportati in notazione 'floating point' con 5 valori decimali solo per mantenere l'uguaglianza di formato. I valori mostrati rappresentano la media ottenuta su n=10 prove effettuate per ciascun valore assunto dal parametro. Le deviazioni standard di tali misurazioni sono tutte nulle (e dunque non vengono riportate) a testimonianza del fatto che, una volta fissato il set di parametri di input, la componente random dell'algoritmo ISODATA è nulla, e quindi l'algoritmo fornisce sempre il medesimo risultato in uscita.

Min cluster size	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
100.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
200.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
300.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
400.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
500.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
600.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
700.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
800.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
900.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
1000.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
1100.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
1200.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
1300.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
1400.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
1500.00000	4.00000	17.12828	0.26015	0.73985	0.47682
1600.00000	3.00000	88.43265	0.26015	0.73985	0.18438
1700.00000	3.00000	88.43265	0.26015	0.73985	0.18438
1800.00000	3.00000	88.43265	0.26015	0.73985	0.18438
1900.00000	3.00000	88.43265	0.26015	0.73985	0.18438
2000.00000	3.00000	88.43265	0.26015	0.73985	0.18438

Fig 5.1 Tabella parametro θ_N per T2* cardiaco = 4.0ms

Min cluster size	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
100.00000	7.00000	1.71113	0.98995	0.80844	1.00000
200.00000	7.00000	1.71113	0.98995	0.80844	1.00000
300.00000	7.00000	1.71113	0.98995	0.80844	1.00000
400.00000	7.00000	1.71113	0.98995	0.80844	1.00000
500.00000	7.00000	1.71113	0.98995	0.80844	1.00000
600.00000	6.00000	1.10271	1.00000	1.00000	1.00000
700.00000	6.00000	1.10271	1.00000	1.00000	1.00000
800.00000	6.00000	1.10271	1.00000	1.00000	1.00000
900.00000	6.00000	1.10271	1.00000	1.00000	1.00000
1000.00000	6.00000	1.10271	1.00000	1.00000	1.00000
1100.00000	6.00000	1.69286	0.93523	0.97565	1.00000
1200.00000	6.00000	1.76647	0.89356	0.95812	1.00000
1300.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
1400.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
1500.00000	4.00000	17.12828	0.26015	0.73985	0.47682
1600.00000	3.00000	88.43265	0.26015	0.73985	0.18438
1700.00000	3.00000	88.43265	0.26015	0.73985	0.18438
1800.00000	3.00000	88.43265	0.26015	0.73985	0.18438
1900.00000	3.00000	88.43265	0.26015	0.73985	0.18438
2000.00000	3.00000	88.43265	0.26015	0.73985	0.18438

Fig 5.2 Tabella parametro θ_N per $T2^*$ cardiaco = 7.0ms

Min cluster size	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
100.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
200.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
300.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
400.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
500.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
600.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
700.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
800.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
900.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1000.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1100.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1200.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1300.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1400.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1500.00000	4.00000	17.14178	0.18337	1.00000	0.47682
1600.00000	3.00000	108.74661	0.13308	0.84755	0.17276
1700.00000	3.00000	108.74661	0.13308	0.84755	0.17276
1800.00000	3.00000	108.74661	0.13308	0.84755	0.17276
1900.00000	3.00000	108.74661	0.13308	0.84755	0.17276
2000.00000	3.00000	108.74661	0.13308	0.84755	0.17276

Fig 5.3 Tabella parametro θ_N per $T2^*$ cardiaco = 13.0ms

Min cluster size	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
100.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
200.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
300.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
400.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
500.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
600.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
700.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
800.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
900.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
1000.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
1100.00000	6.00000	2.52933	0.93929	1.00000	1.00000
1200.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1300.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1400.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1500.00000	4.00000	17.14178	0.18337	1.00000	0.47682
1600.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207
1700.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207
1800.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207
1900.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207
2000.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207

Fig 5.4 Tabella parametro θ_N per $T2^$ cardiaco = 20.0ms*

Min cluster size	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
100.00000	6.00000	8.79615	0.48543	1.00000	1.00000
200.00000	6.00000	8.79615	0.48543	1.00000	1.00000
300.00000	6.00000	8.79615	0.48543	1.00000	1.00000
400.00000	6.00000	8.79615	0.48543	1.00000	1.00000
500.00000	6.00000	8.79615	0.48543	1.00000	1.00000
600.00000	6.00000	8.79615	0.48543	1.00000	1.00000
700.00000	6.00000	8.79615	0.48543	1.00000	1.00000
800.00000	6.00000	8.79615	0.48543	1.00000	1.00000
900.00000	6.00000	8.79615	0.48543	1.00000	1.00000
1000.00000	6.00000	8.79615	0.48543	1.00000	1.00000
1100.00000	6.00000	8.79615	0.48543	1.00000	1.00000
1200.00000	6.00000	8.79615	0.48543	1.00000	1.00000
1300.00000	6.00000	8.79615	0.48543	1.00000	1.00000
1400.00000	6.00000	8.79615	0.48543	1.00000	1.00000
1500.00000	4.00000	17.14178	0.18337	1.00000	0.47682
1600.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207
1700.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207
1800.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207
1900.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207
2000.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207

Fig 5.5 Tabella parametro θ_N per $T2^$ cardiaco = 35.0ms*

Min cluster size	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
100.00000	6.00000	2.52933	0.96181	1.00000	1.00000
200.00000	6.00000	2.52933	0.96181	1.00000	1.00000
300.00000	6.00000	2.52933	0.96181	1.00000	1.00000
400.00000	6.00000	2.52933	0.96181	1.00000	1.00000
500.00000	6.00000	2.52933	0.96181	1.00000	1.00000
600.00000	6.00000	2.52933	0.96181	1.00000	1.00000
700.00000	6.00000	2.52933	0.96181	1.00000	1.00000
800.00000	6.00000	2.52933	0.96181	1.00000	1.00000
900.00000	6.00000	2.52933	0.96181	1.00000	1.00000
1000.00000	6.00000	2.52933	0.96181	1.00000	1.00000
1100.00000	6.00000	2.52933	0.96181	1.00000	1.00000
1200.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1300.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1400.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1500.00000	4.00000	17.14178	0.18337	1.00000	0.47682
1600.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207
1700.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207
1800.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207
1900.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207
2000.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207

Fig 5.6 Tabella parametro θ_N per $T2^$ cardiaco = 50.0ms*

Min cluster size	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
100.00000	6.00000	2.52933	0.97480	1.00000	1.00000
200.00000	6.00000	2.52933	0.97480	1.00000	1.00000
300.00000	6.00000	2.52933	0.97480	1.00000	1.00000
400.00000	6.00000	2.52933	0.97480	1.00000	1.00000
500.00000	6.00000	2.52933	0.97480	1.00000	1.00000
600.00000	6.00000	2.52933	0.97480	1.00000	1.00000
700.00000	6.00000	2.52933	0.97480	1.00000	1.00000
800.00000	6.00000	2.52933	0.97480	1.00000	1.00000
900.00000	6.00000	2.52933	0.97480	1.00000	1.00000
1000.00000	6.00000	2.52933	0.97480	1.00000	1.00000
1100.00000	6.00000	2.52933	0.97480	1.00000	1.00000
1200.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1300.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1400.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1500.00000	4.00000	17.14178	0.18337	1.00000	0.47682
1600.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207
1700.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207
1800.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207
1900.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207
2000.00000	3.00000	87.45738	0.12105	1.00000	0.16207

Fig 5.7 Tabella parametro θ_N per $T2^$ cardiaco = 60.0ms*

Si riportano in seguito i grafici relativi ai vari indici di performance, quotati in $T2^*$ cardiaco; sull'asse x di tali grafici vengono riportati i valori del parametro θ_N , e vengono inoltre rappresentati con una stella di colore rosso i valori di 'soglia' relativi alla dimensione dei tessuti presenti nelle immagini fantoccio e compresi nel range analizzato. Tali valori sono rispettivamente 1083 pixels per il miocardio, 1450 per il 'blood pool' e 1591 per il fegato.

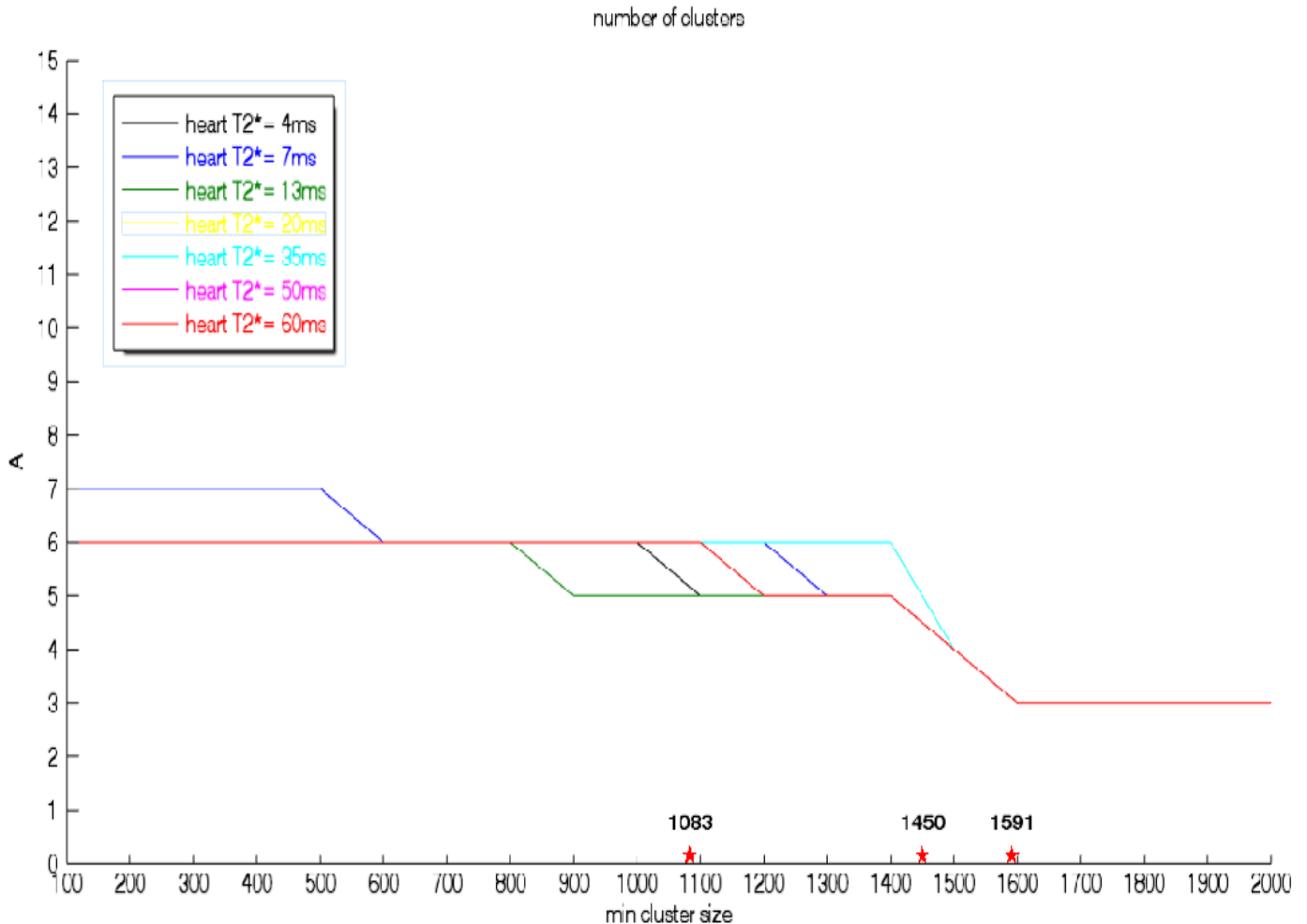


Fig 5.8 Andamento del numero di clusters (A) al variare di θ_N per i valori di $T2^*$ cardiaco esaminati

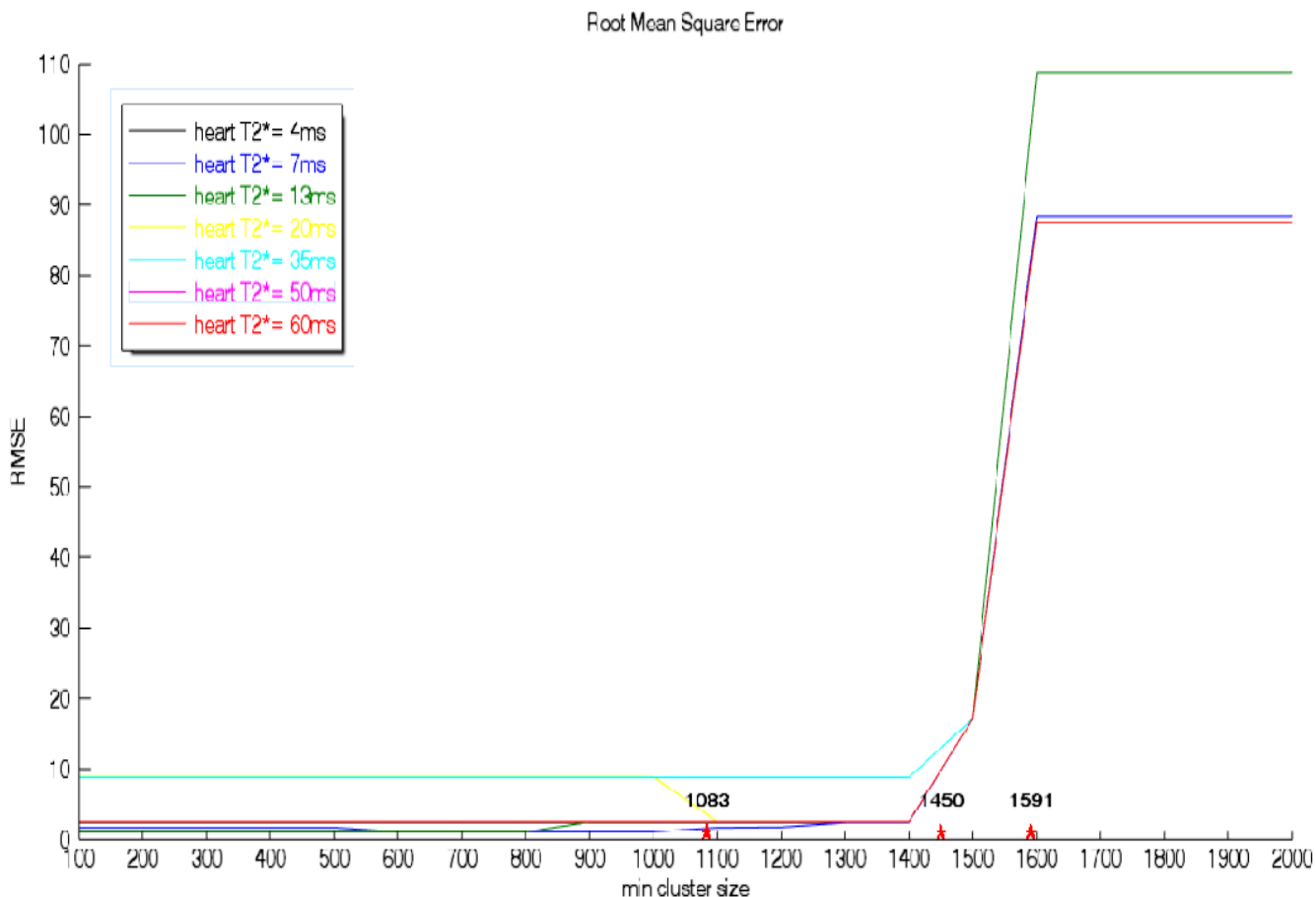


Fig 5.9 Andamento dell' RMSE al variare di θ_N per i valori di $T2^*$ cardiaco esaminati

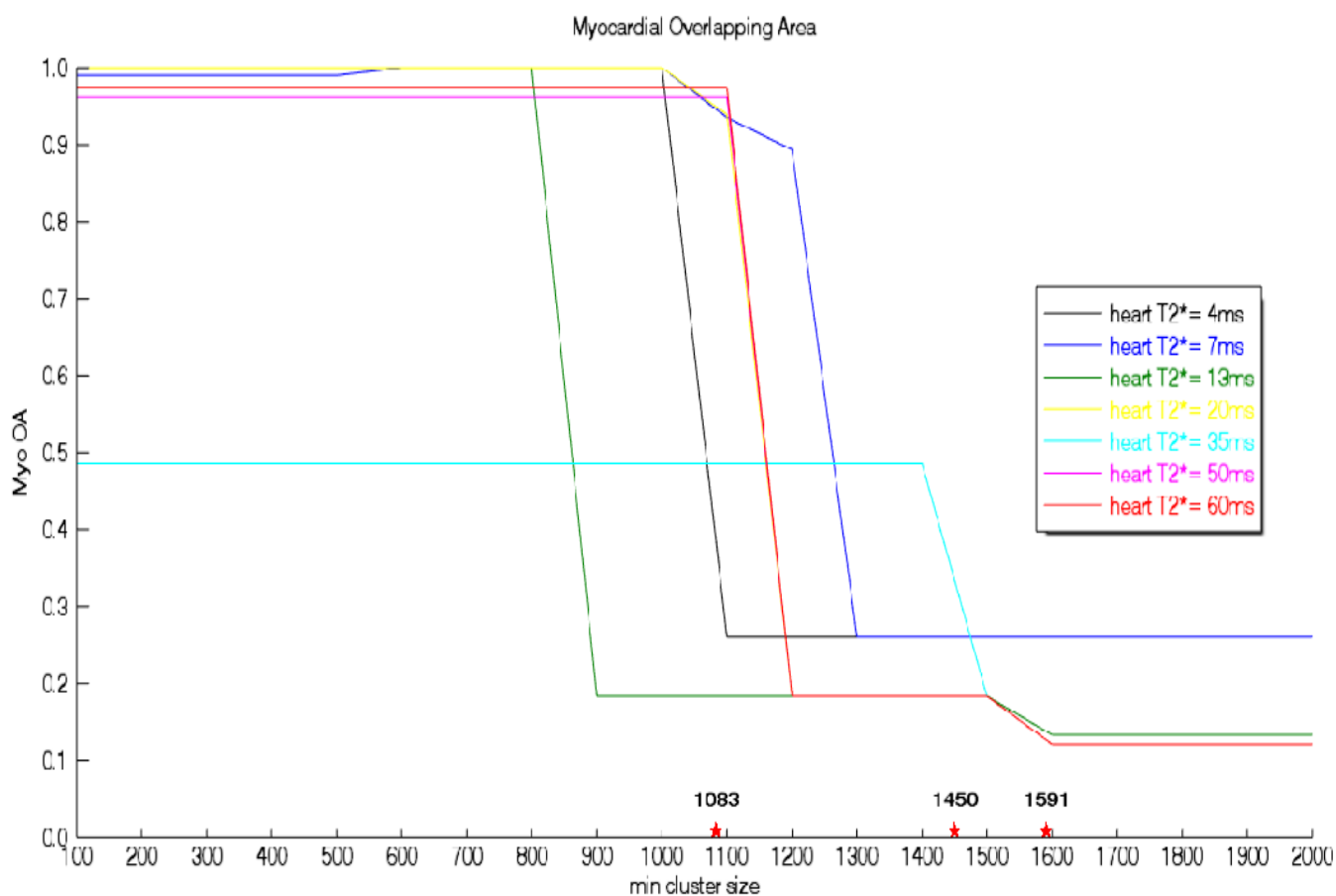


Fig 5.10 Andamento dell'OA del miocardio al variare di θ_N per i valori di $T2^*$ cardiaco esaminati

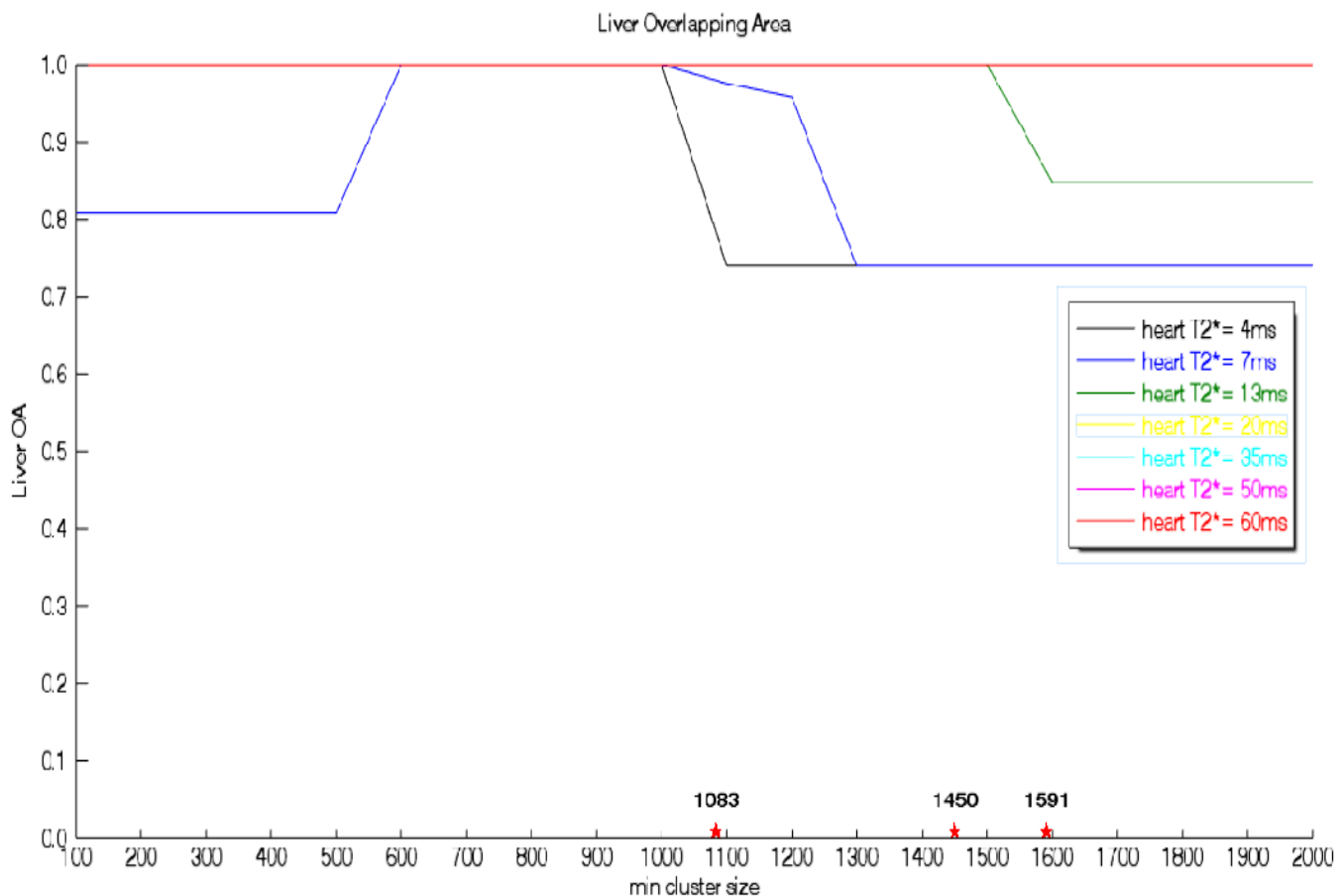


Fig 5.11 Andamento dell'OA del fegato al variare di θ_N per i valori di $T2^*$ cardiaco esaminati

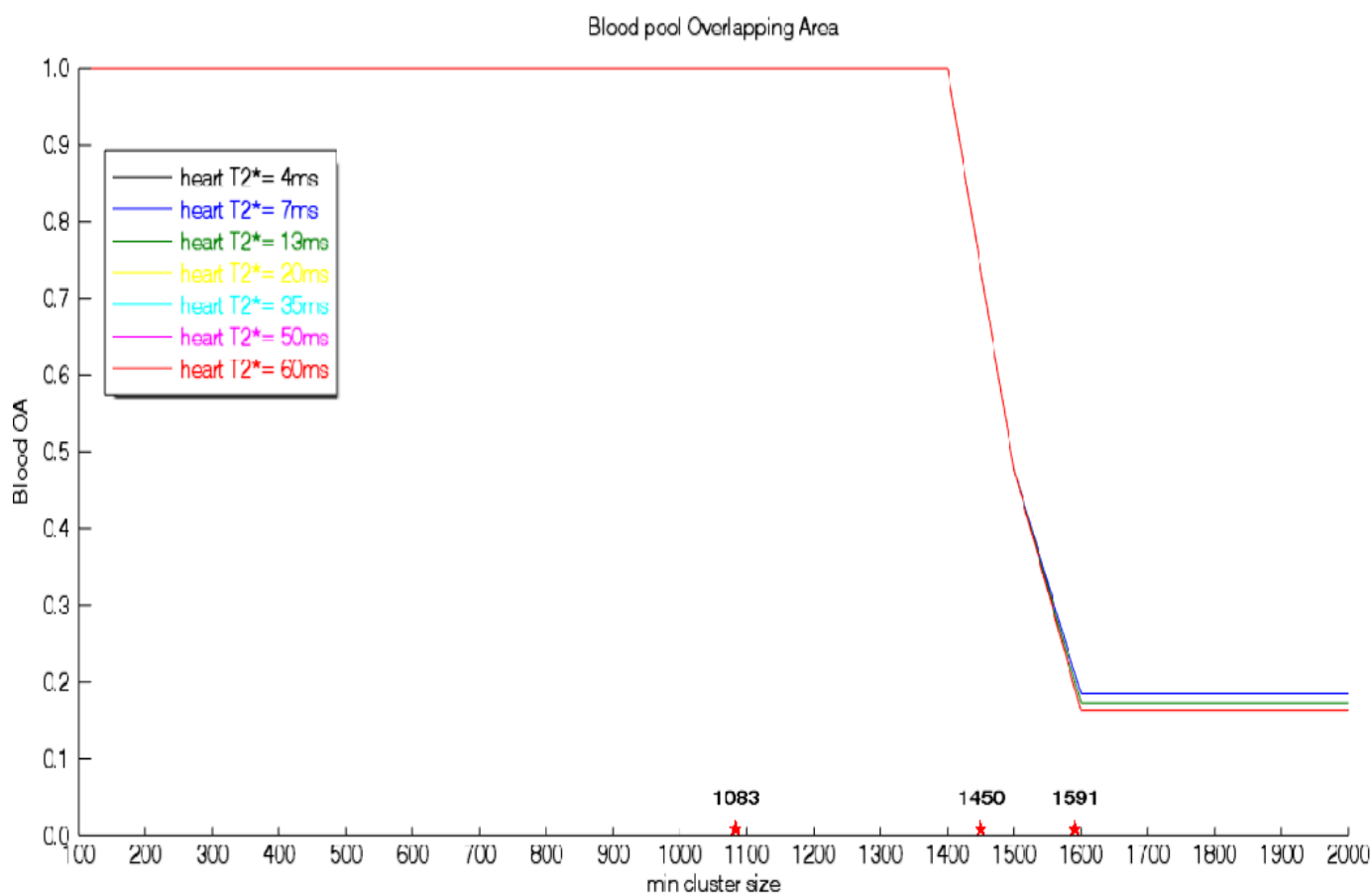


Fig 5.12 Andamento dell' OA del 'blood pool' al variare di θ_N per i valori di $T2^*$ cardiaco esaminati

Come si può notare dalla fig 5.8, il numero di cluster rimane costante e pari a 6 fino a che non si raggiunge e si supera il primo valore di soglia relativo al miocardio; l'unica eccezione si ha per $T2^* = 7.0$ ms dove il numero di cluster parte da 7 per poi scendere al valore corretto per valori di $\theta_N > 500$. Ciò significa che solo in tal caso un valore di θ_N minore o uguale a 500 ha portato alla formazione di un micro-cluster in più che non ha nessuna corrispondenza con la realtà. Superata la prima soglia il numero di cluster scende a 5 in tutti i casi, in un range di valori compreso tra 1100 (per $T2^* = 4$ ms) a 1300 (per $T2^* = 7$ ms), ad indicare che il tessuto miocardico non viene più riconosciuto in maniera separata, bensì inglobato in altri cluster. L'unica eccezione a tale comportamento si ha per $T2^* = 35$ ms, ossia quando tessuto muscolare e miocardio hanno il medesimo valore di $T2^*$; in questo caso il miocardio viene segmentato sempre correttamente ma rimane comunque una quota di pixels spuri appartenenti al tessuto muscolare che viene erroneamente associata al cluster del miocardio, come si può vedere in fig 5.13. Ciò implica che la dimensione del cluster miocardio sarà in questo caso superiore rispetto al resto dei casi corretti. Superata la seconda soglia (1450, 'blood pool') il numero di cluster scende ancora da 5 a 4, mentre per $T2^* = 35$.ms si riduce in un colpo solo da 6 a 4. Superata infine la terza ed ultima soglia (1591, fegato) il numero di cluster si riduce ulteriormente a 3 per $\theta_N \geq 1600$, e si mantiene tale fino al limite superiore del range in esame. Si noti infine che il grafico per $T2^* = 20.0$ ms, rappresentato in giallo, non è visibile poiché presenta lo stesso andamento esibito per $T2^* = 60$ ms (in rosso) ed è nascosto da quest'ultimo.

Coerentemente con l'andamento del numero di cluster, i valori di RMSE (fig 5.9), essendo indicatori globali dell'errore commesso nella segmentazione, si mantengono entro valori molto bassi fino al raggiungimento della soglia più piccola, assumendo valori da un minimo poco superiore a 1 ad un massimo di poco inferiore a 9 (si vedano valori di RMSE tabulati). Ogni volta che si incontra e si supera una soglia il valore di RMSE cresce gradualmente, fino a raggiungere un range di valori massimi compreso tra 90 e 100 per $\theta_N \geq 1600$, ovvero per una situazione in cui vengono identificati solo 3 cluster.

Analizzando il grafico che riporta l'andamento delle overlapping area del miocardio (fig. 5.10), si nota che tali valori si mantengono pari (o molto vicini) al valore ideale 1 fino a che non viene superata la soglia relativa al miocardio stesso, che comporta una drastica riduzione delle OA a valori molto bassi, compresi tra 0.1 e 0.3. Le uniche eccezioni si hanno per $T2 = 13.0$ ms, in cui la OA decresce prima del raggiungimento della soglia (per $\theta_N \geq 900$) e soprattutto per $T2^* = 35$ ms, in cui anche a regime il valore della OA del miocardio è pari a 0.48543, e dunque molto lontano dal valore ideale. Anche in questo caso questo comportamento è dovuto al fatto che, per tale valore di $T2^*$, l'algoritmo fatica a distinguere correttamente il tessuto muscolare dal miocardio.

Come si nota in figura 5.13, l'algoritmo riesce a segmentare correttamente l' 'anello' centrale corrispondente al miocardio, ma mantiene una quota di pixel spuri appartenenti al tessuto muscolare che invece assegna erroneamente al miocardio. Questa quota di pixels si riduce drasticamente per valori di $T2^* > 35$ ms, portando a valori di OA vicinissimi a 1 ma non esattamente uguali, mentre è praticamente assente per valori < 35 ms.



Fig 5.13 Theme map per $T2^ = 35.0$ ms ; si nota la presenza di pixels spuri nel tessuto muscolare (in bianco) che vengono erroneamente attribuiti al miocardio (in verde)*



Fig 5.14 Mappa RMSE per il 1°TE per segmentazione di fig 5.1

Il fegato e il 'blood pool' (figure 5.11 e 5.12), presentano un andamento delle overlapping area analogo, con la differenza che i valori di OA decrescono superando le soglie corrispondenti a questi due tessuti (rispettivamente 1591 e 1450). Per quanto riguarda il fegato, l'unica eccezione si ha per $T2^* = 7.0\text{ms}$, dove per $\theta_N \leq 500$ si ha una OA inferiore e pari a circa 0.8; per tale valore infatti il valore medio del numero di cluster riconosciuti è pari a 7, ad indicare la presenza di un cluster in più riconosciuto all'interno del fegato, e non avente corrispondenza con la realtà. Il motivo è da ricercarsi nel fatto che per tale valore di $T2^*$ miocardio e fegato hanno lo stesso rilassamento e ciò, unitamente ad una soglia di dimensione troppo bassa, rende più difficile la corretta identificazione dei 2 tessuti, come si nota chiaramente in fig. 5.15.

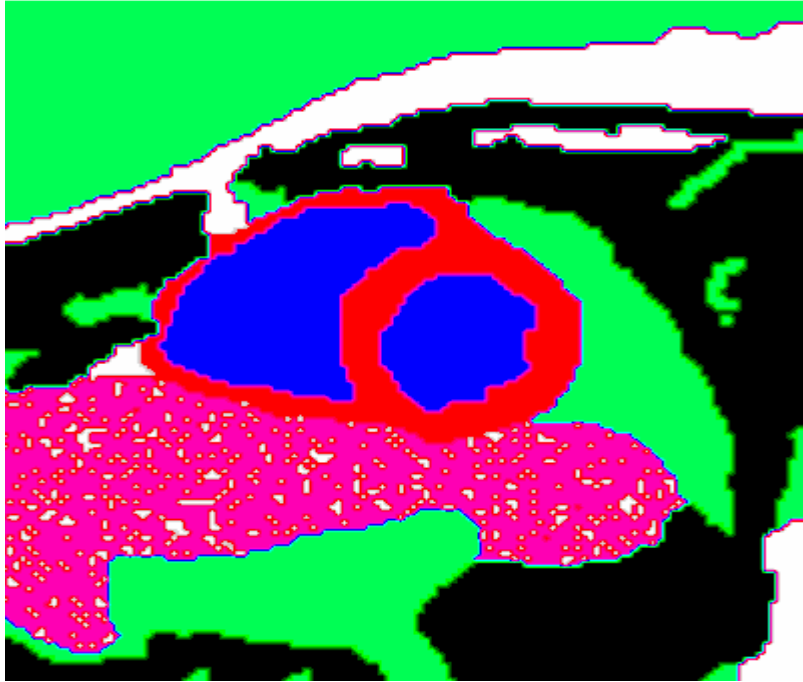


Fig 5.15 Theme map per $T2^ = 7.0$ e $\theta_N \leq 500$*

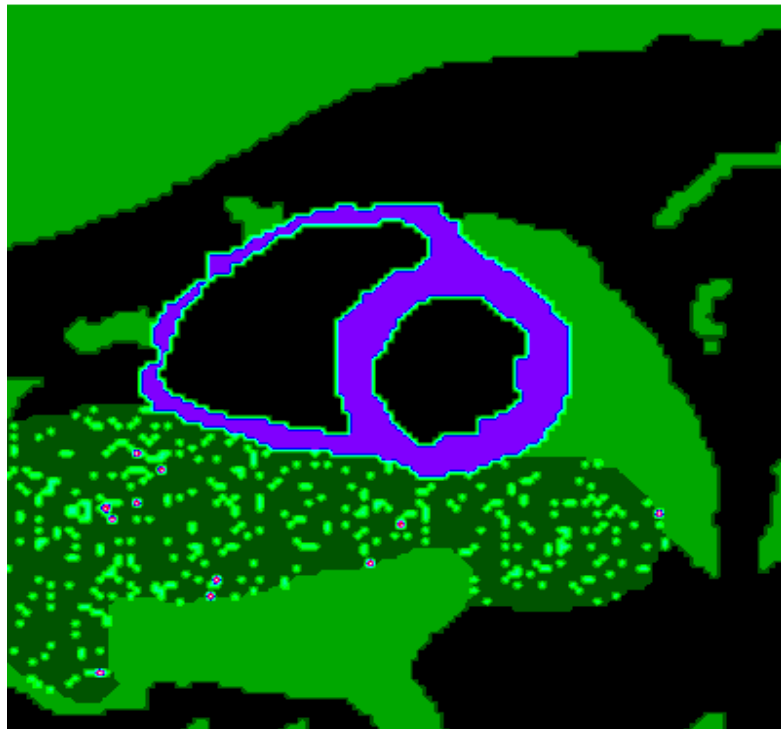


Fig 5.16 Mappa RMSE per il 1° TE per la segmentazione di fig. 5.15

5.3 Dimensione del dataset

Poichè nelle reali acquisizioni cliniche ciascuna fetta in asse corto cardiaco viene acquisita a 10 TE crescenti ed equispaziati, anche il dataset di immagini fantoccio è stato 10D. Il parametro dim ($n^\circ TE/n^\circ$ immagini scelte) è stato variato da 1 a 10 con passo unitario, passando da un caso di clustering monodimensionale all'uso dell'intero dataset, prendendo ogni volta dim immagini relative a dim TE consecutivi. Gli altri parametri critici sono stati impostati invece nel seguente modo:

- $\theta_N = 800$ pixels;
- $\theta_L = 8$ se heart $T2^* = 4ms$,
 $= 3$ se heart $T2^* = 7ms$;
 $= 20$ se heart $T2^* > 7ms$;
- $1.6 \leq \theta_s \leq 1.8$.

$n^\circ TE$	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
1.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
2.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
3.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
4.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
5.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
6.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
7.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
8.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
9.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
10.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000

Fig 5.17 Tabella parametro dim per $T2^*$ cardiaco = 4.0ms

$n^\circ TE$	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
1.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
2.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
3.00000	6.00000	8.75553	0.59148	0.75714	1.00000
4.00000	6.00000	1.10271	1.00000	1.00000	1.00000
5.00000	6.00000	1.10271	1.00000	1.00000	1.00000
6.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
7.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
8.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
9.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
10.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000

Fig 5.18 Tabella parametro dim per $T2^*$ cardiaco = 7.0ms

n° TE	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
1.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
2.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
3.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
4.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
5.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
6.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
7.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
8.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
9.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
10.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000

Fig 5.19 Tabella parametro dim per T2 cardiaco = 13.0ms*

n° TE	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
1.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
2.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
3.00000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
4.00000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
5.00000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
6.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
7.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
8.00000	6.00000	2.52933	0.99085	1.00000	1.00000
9.00000	6.00000	2.52933	0.97568	1.00000	1.00000
10.00000	6.00000	2.52933	0.99632	1.00000	1.00000

Fig 5.20 Tabella parametro dim per T2 cardiaco = 20.0ms*

n° TE	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
1.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
2.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
3.00000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
4.00000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
5.00000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
6.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
7.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
8.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
9.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
10.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000

Fig 5.21 Tabella parametro dim per T2 cardiaco = 35.0ms*

n° TE	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
1.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
2.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
3.00000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
4.00000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
5.00000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
6.00000	6.00000	2.52933	0.98365	1.00000	1.00000
7.00000	6.00000	2.52933	0.97920	1.00000	1.00000
8.00000	6.00000	2.52933	0.43234	1.00000	1.00000
9.00000	6.00000	2.52933	0.35473	1.00000	1.00000
10.00000	6.00000	2.52933	0.25915	1.00000	1.00000

Fig 5.22 Tabella parametro dim per T2 cardiaco = 50.0ms*

n° TE	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
1.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
2.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
3.00000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
4.00000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
5.00000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
6.00000	6.00000	2.52933	0.97656	1.00000	1.00000
7.00000	6.00000	2.52933	0.99540	1.00000	1.00000
8.00000	6.00000	2.52933	0.22516	1.00000	1.00000
9.00000	6.00000	2.52933	0.35427	1.00000	1.00000
10.00000	6.00000	2.52933	0.26223	1.00000	1.00000

Fig 5.23 Tabella parametro dim per T2 cardiaco = 60.0ms*

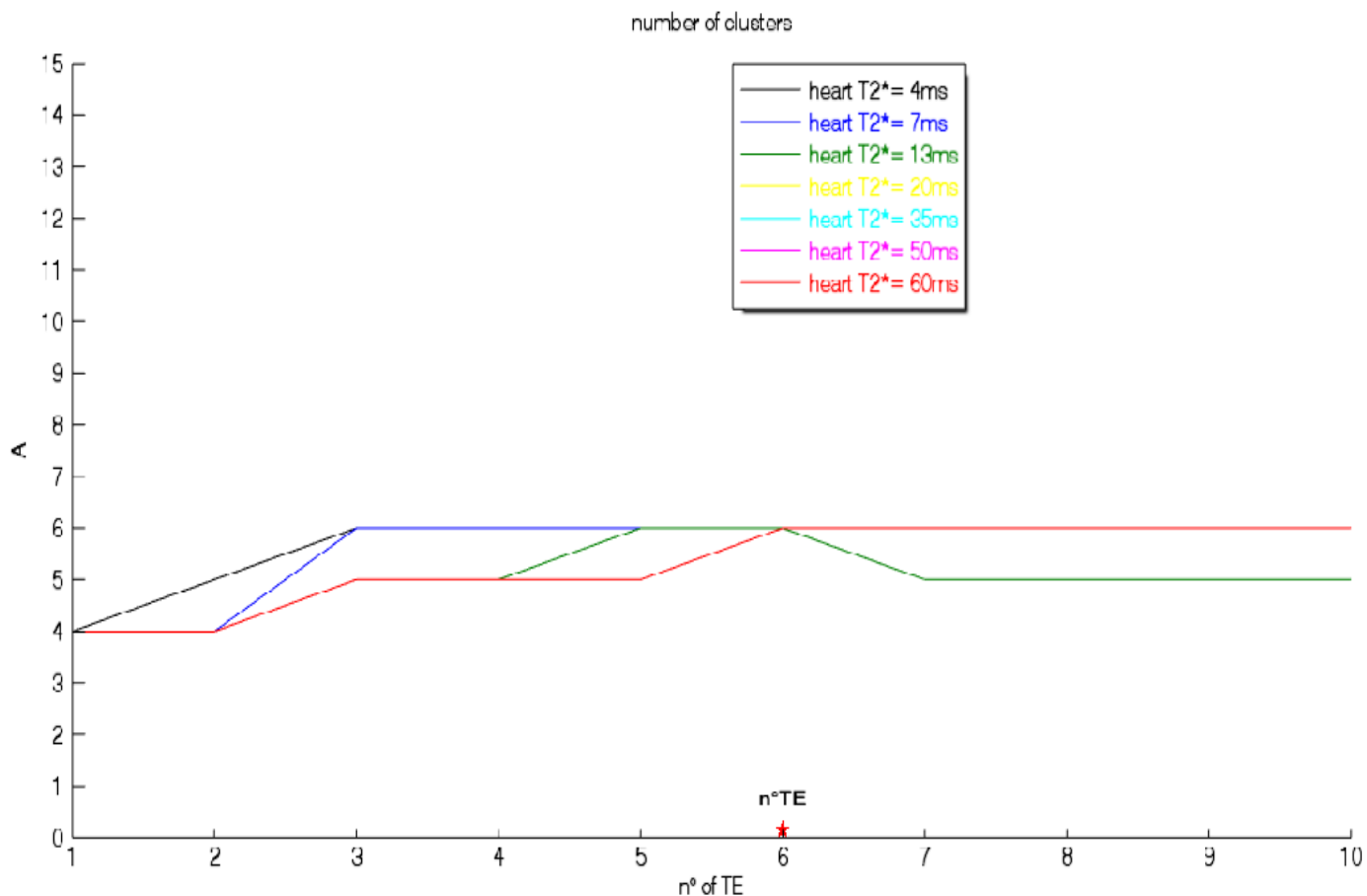


Fig 5.24 Andamento del numero di clusters (A) al variare di dim per i valori di $T2^*$ cardiaco esaminati

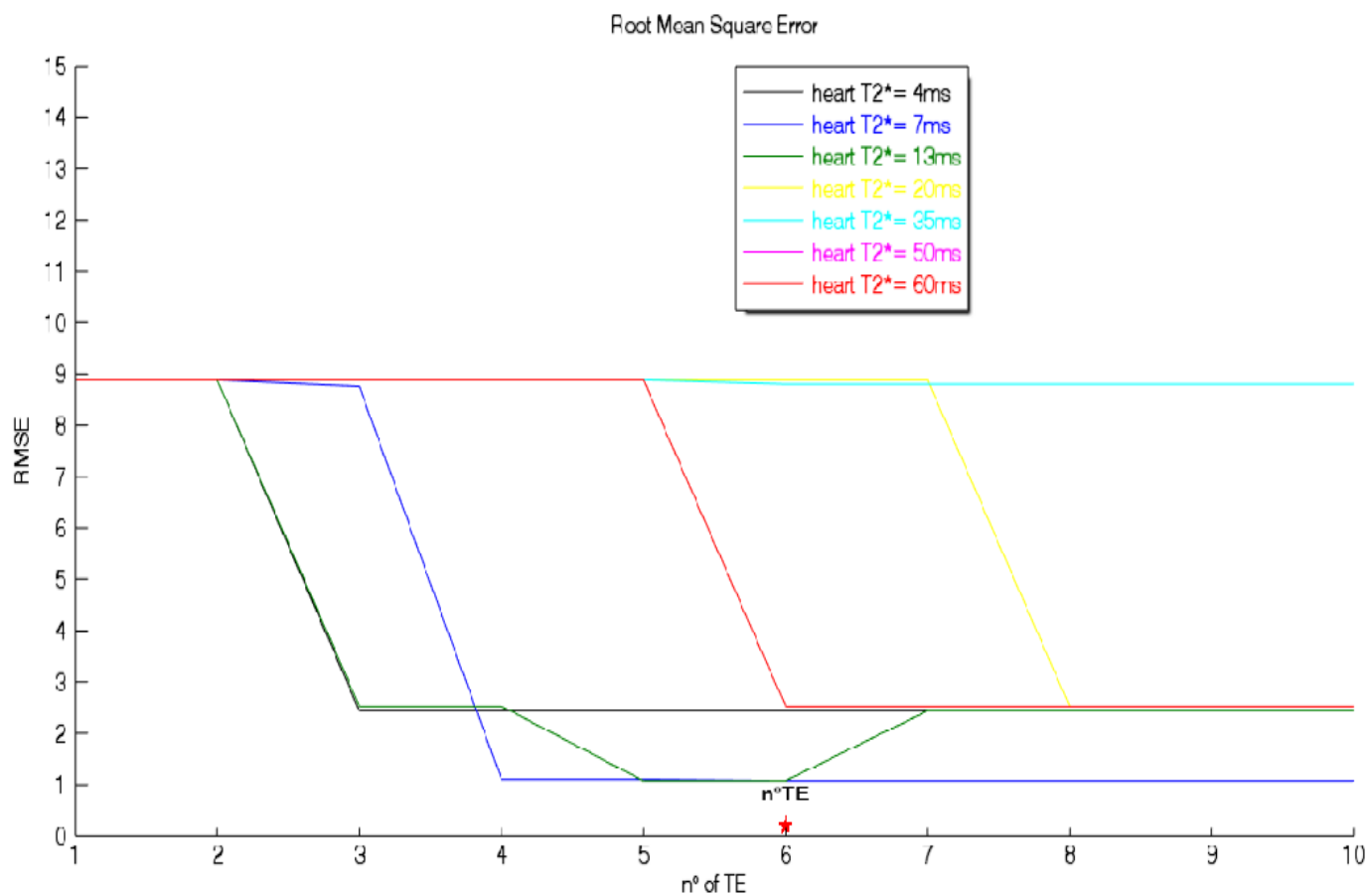


Fig 5.25 Andamento dell'RMSE al variare di dim per i valori di $T2^*$ cardiaco esaminati

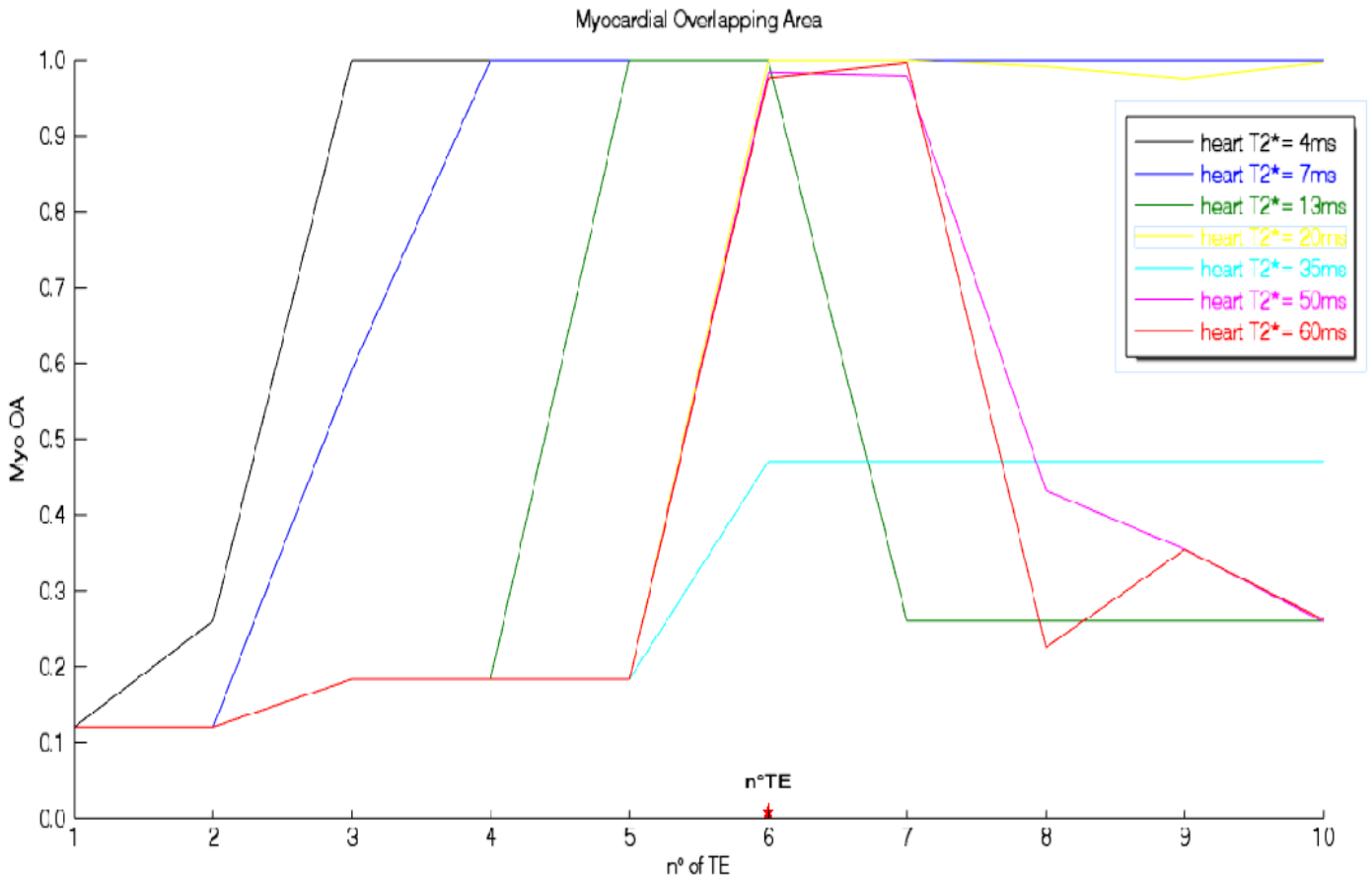


Fig 5.26 Andamento dell'OA del miocardio al variare di dim per i valori di T2* cardiaco esaminati

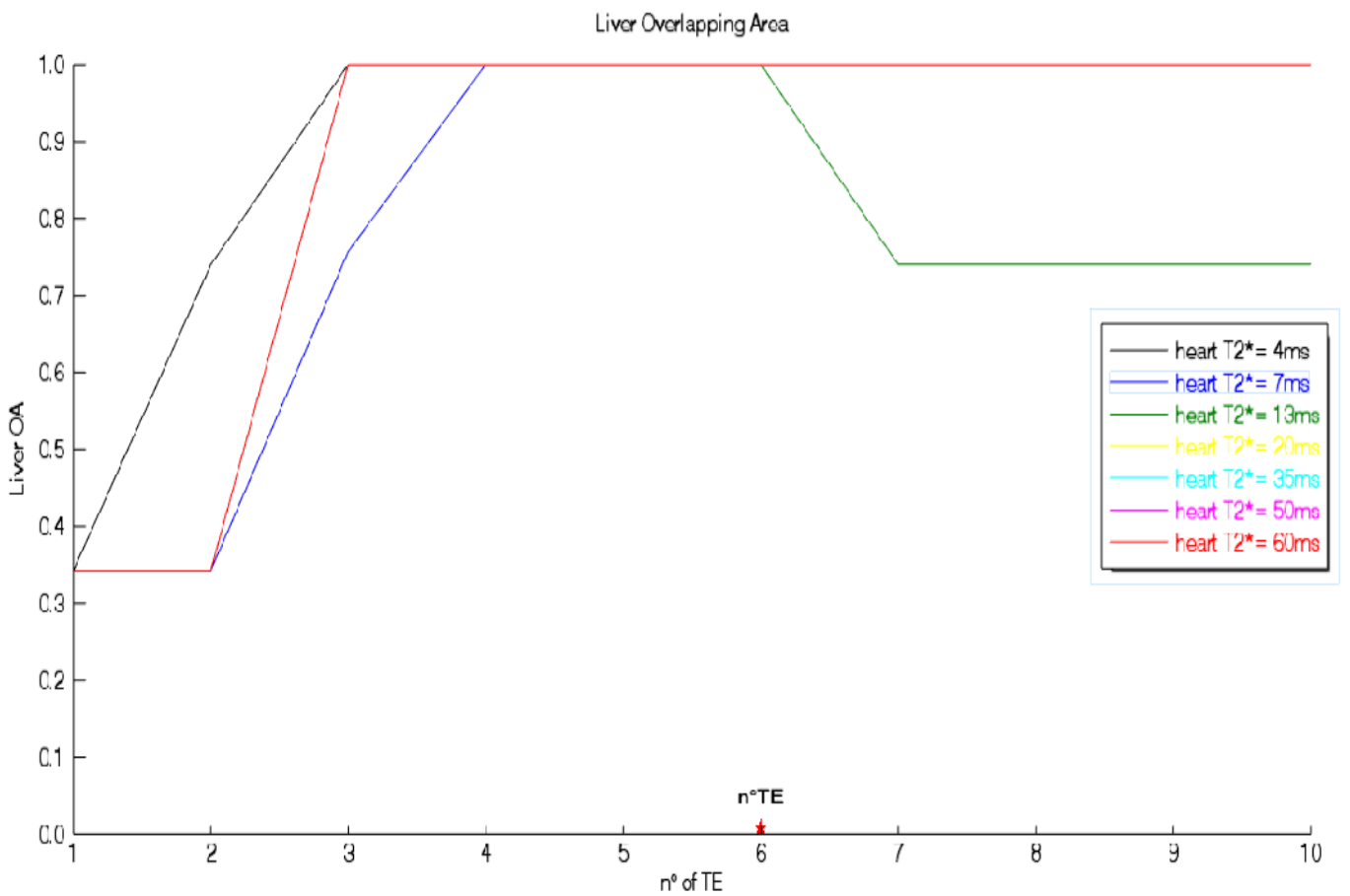


Fig 5.27 Andamento dell'OA del fegato al variare di dim per i valori di T2* cardiaco esaminati

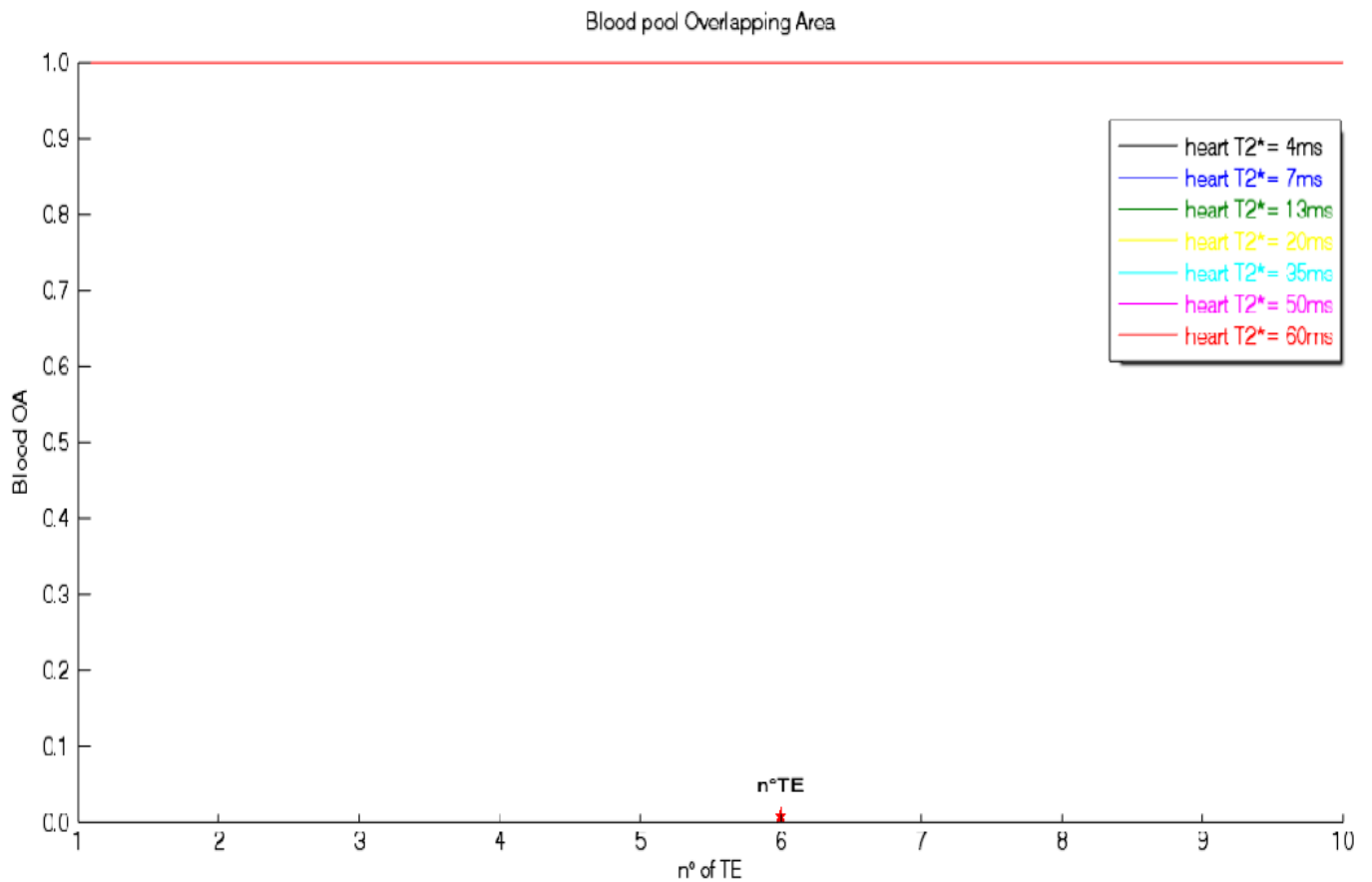


Fig 5.28 Andamento dell'OA del 'blood pool' al variare di dim per i valori di T2 cardiaco esaminati*
 Come si nota dalla fig 5.24, per ciascuno dei valori di T2* analizzati esiste una dimensione minima del dataset necessaria per poter determinare il numero corretto di cluster, mentre dataset di dimensioni inferiori non sembrano fornire informazioni sufficienti a riconoscere tutti e 6 i tessuti. Tale dimensione minima varia da 3 per T2*=[4,7]ms a 5 per T2*=13ms fino a 6 per T2*=[20,35,50,60]ms; i corrispondenti grafici rispettivamente in giallo, ciano e magenta sono oscurati dal grafico in rosso per T2*=60ms, poiché possiedono tutti lo stesso identico andamento. Per T2*= 13ms l'utilizzo di un dataset di dimensione ≥ 7 riduce la capacità dell'algoritmo di riconoscere tutti i cluster, a testimonianza del fatto che in questo caso l'utilizzo di un dataset troppo grosso ha effetti controproducenti sull'efficacia della segmentazione.



Fig 5.29 Theme map per $T2^ = 13\text{ms}$ e $\text{dim} \geq 7$*

Come si nota infatti dalla figura 5.29, per tale valore di $T2^*$ e per le dimensioni del dataset appena citate, l'algoritmo non si dimostra in grado di distinguere correttamente fegato e miocardio, che vengono assegnati allo stesso cluster rappresentato in bianco nella 'theme map'. Questo implica che per $T2^* = 13\text{ms}$ il range del parametro in cui l'algoritmo riesce ad identificare correttamente i 6 tessuti è costituito dai soli valori 5 e 6.

Coerentemente con tale andamento, i valori di RMSE (fig 5.25) si riducono drasticamente quando, per ogni valore di $T2^*$ esaminato, si raggiunge la relativa dimensione minima del dataset; tale valore cresce nuovamente solo per $T2^* = 13\text{ms}$ quando $\text{dim} \geq 7$. Il valore di RMSE rimane costante ed indipendente da tale parametro solo per $T2^* = 35\text{ms}$, dove per ciascun valore assunto dal parametro rimane sempre una eguale quota di pixel spuri del tessuto muscolare che vengono assegnati per errore al miocardio.

Per quanto riguarda i valori di overlapping area del miocardio (fig 5.26), si può notare anche in questo caso che tali valori raggiungono o si avvicinano molto al valore ideale 1 quando, per ogni valore di $T2^*$, si raggiunge la soglia minima di dimensione del dataset. E' importante notare che in questo caso per i valori $T2^* = [50, 60]\text{ms}$ la OA raggiunge il valore 1 per $\text{dim} = 6$ e decresce in seguito a valori molti inferiori quando dim diventa uguale a 8; di conseguenza solo per valori pari a 6 e 7 in questi casi si ottiene una OA molto vicina o pari ad 1.

Lo stesso comportamento lo si ottiene per $T2^* = 13\text{ms}$, anche se ciò era ampiamente

preventivato dato l'andamento degli indici precedenti per tale valore di $T2^*$. Si noti infine che anche stavolta, come avvenuto in precedenza nell'analisi del parametro θ_N , la OA del miocardio per $T2^*=35\text{ms}$ non raggiunge mai un valore massimo vicino ad 1 a causa della quota di pixels spuri descritta più volte in precedenza. I valori di OA del fegato (fig 5.27) presentano un comportamento del tutto analogo ai precedenti, e cioè crescono a valori vicini o pari ad 1 una volta superate le rispettive soglie minime; solo per $T2^*=13\text{ms}$ tale valore decresce in seguito per $\text{dim} \geq 7$. La figura 5.28 mostra invece come le OA del 'blood pool' siano del tutto insensibili alla variazione della dimensione del dataset impiegato, rimanendo per tutti i valori di $T2^*$ costanti e pari ad 1 in tutto il range di valori analizzato; ciò implica che la dimensione del dataset non influisce in alcuna maniera ai fini della corretta determinazione del 'blood pool'.

Riassumendo l'andamento dei vari indici di performance al variare della dimensione del dataset, si può concludere che un dataset di 6 immagini rappresenta un input sufficientemente grande per partizionare correttamente tutti i 6 tessuti presenti nelle immagini fantoccio, senza allo stesso tempo presentare gli effetti negativi dovuti all'impiego di un dataset di dimensioni eccessive.

5.4 Parametro di lumping

Il parametro di lumping (θ_L), come descritto in precedenza, rappresenta una soglia minima di distanza euclidea fra due valori di centroidi, al di sotto della quale la coppia corrispondente di cluster viene 'fusa' in unico cluster risultante.

Per analizzare il funzionamento dell'algoritmo ISODATA al variare di θ_L , tale parametro è stato variato da 0 a 50 con passo unitario. Si riportano di seguito i valori medi degli indici, tabulati per ogni valore assunto dal parametro e per ogni valore di $T2^*$ cardiaco esaminato; si riportano successivamente i grafici risultanti. L'impostazione degli altri parametri è stata invece la seguente:

- $\theta_N = 800$ pixels;
- $\text{dim} = 6$;
- $1.6 \leq \theta_S \leq 1.8$.

Lumping parameter	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	BloodOA
0.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
1.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
2.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
3.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
4.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
5.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
6.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
7.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
8.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
9.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
10.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
11.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
12.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
13.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
14.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
15.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
16.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
17.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
18.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
19.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
20.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
21.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
22.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
23.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
24.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
25.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
26.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
27.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
28.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
29.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
30.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
31.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
32.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
33.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
34.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
35.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
36.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
37.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
38.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
39.00000	5.00000	2.43612	0.26015	0.73985	1.00000
40.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
41.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
42.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
43.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
44.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
45.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
46.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
47.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
48.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
49.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
50.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000

Fig 5.30 Tabella parametro θ_L per $T2^*$ cardiaco = 4.0ms

Lumping parameter	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
0.00000	7.00000	8.64485	0.99085	0.50877	1.00000
1.00000	7.00000	8.64485	0.99085	0.50877	1.00000
2.00000	7.00000	8.64485	0.99085	0.50877	1.00000
3.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
4.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
5.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
6.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
7.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
8.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
9.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
10.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
11.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
12.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
13.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
14.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
15.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
16.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
17.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
18.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
19.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
20.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
21.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
22.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
23.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
24.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
25.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
26.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
27.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
28.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
29.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
30.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
31.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
32.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
33.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
34.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
35.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
36.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
37.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
38.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
39.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
40.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
41.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
42.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
43.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
44.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
45.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
46.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
47.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
48.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
49.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
50.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000

Fig 5.31 Tabella parametro θ_L per $T2^*$ cardiaco = 7.0ms

Lumping parameter	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
0.00000	6.00000	2.43922	0.99538	1.00000	1.00000
1.00000	6.00000	2.43922	0.99538	1.00000	1.00000
2.00000	6.00000	2.43922	0.99538	1.00000	1.00000
3.00000	6.00000	2.43922	0.99538	1.00000	1.00000
4.00000	6.00000	2.43922	0.99538	1.00000	1.00000
5.00000	6.00000	2.43922	0.99538	1.00000	1.00000
6.00000	6.00000	2.43922	0.99538	1.00000	1.00000
7.00000	6.00000	2.43922	0.99538	1.00000	1.00000
8.00000	6.00000	2.43922	0.99538	1.00000	1.00000
9.00000	6.00000	2.43922	0.99538	1.00000	1.00000
10.00000	6.00000	2.43922	0.99538	1.00000	1.00000
11.00000	6.00000	2.43922	0.99538	1.00000	1.00000
12.00000	6.00000	2.43922	0.99538	1.00000	1.00000
13.00000	6.00000	2.43922	0.99538	1.00000	1.00000
14.00000	6.00000	2.43922	0.99538	1.00000	1.00000
15.00000	6.00000	2.43922	0.99538	1.00000	1.00000
16.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
17.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
18.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
19.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
20.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
21.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
22.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
23.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
24.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
25.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
26.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
27.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
28.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
29.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
30.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
31.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
32.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
33.00000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
34.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
35.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
36.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
37.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
38.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
39.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
40.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
41.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
42.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
43.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
44.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
45.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
46.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
47.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
48.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
49.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
50.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000

Fig 5.32 Tabella parametro θ_L per $T2^*$ cardiaco = 13.0ms

Lumping parameter	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
0.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
1.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
2.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
3.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
4.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
5.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
6.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
7.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
8.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
9.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
10.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
11.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
12.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
13.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
14.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
15.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
16.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
17.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
18.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
19.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
20.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
21.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
22.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
23.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
24.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
25.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
26.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
27.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
28.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
29.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
30.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
31.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
32.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
33.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
34.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
35.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
36.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
37.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
38.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
39.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
40.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
41.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
42.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
43.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
44.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
45.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
46.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
47.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
48.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
49.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
50.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000

Fig 5.33 Tabella parametro θ_L per $T2^*$ cardiaco = 20.0ms

Lumping parameter	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
0.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
1.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
2.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
3.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
4.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
5.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
6.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
7.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
8.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
9.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
10.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
11.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
12.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
13.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
14.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
15.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
16.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
17.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
18.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
19.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
20.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
21.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
22.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
23.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
24.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
25.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
26.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
27.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
28.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
29.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
30.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
31.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
32.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
33.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
34.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
35.00000	6.00000	8.79803	0.47066	1.00000	1.00000
36.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
37.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
38.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
39.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
40.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
41.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
42.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
43.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
44.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
45.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
46.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
47.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
48.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
49.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
50.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000

Fig 5.34 Tabella parametro θ_L per $T2^*$ cardiaco = 35.0ms

Lumping parameter	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
0.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
1.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
2.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
3.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
4.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
5.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
6.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
7.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
8.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
9.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
10.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
11.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
12.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
13.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
14.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
15.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
16.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
17.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
18.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
19.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
20.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
21.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
22.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
23.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
24.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
25.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
26.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
27.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
28.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
29.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
30.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
31.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
32.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
33.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
34.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
35.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
36.00000	6.00000	2.52933	0.96524	1.00000	1.00000
37.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
38.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
39.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
40.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
41.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
42.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
43.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
44.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
45.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
46.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
47.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
48.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
49.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
50.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000

Fig 5.35 Tabella parametro θ_L per $T2^*$ cardiaco = 50.0ms

Lumping parameter	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
0.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
1.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
2.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
3.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
4.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
5.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
6.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
7.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
8.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
9.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
10.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
11.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
12.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
13.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
14.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
15.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
16.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
17.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
18.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
19.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
20.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
21.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
22.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
23.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
24.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
25.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
26.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
27.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
28.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
29.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
30.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
31.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
32.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
33.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
34.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
35.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
36.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
37.00000	6.00000	2.52933	0.97392	1.00000	1.00000
38.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
39.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
40.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
41.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
42.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
43.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
44.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
45.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
46.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
47.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
48.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
49.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000
50.00000	4.00000	8.88145	0.12052	0.34276	1.00000

Fig 5.36 Tabella parametro θ_L per $T2^*$ cardiaco = 60.0ms

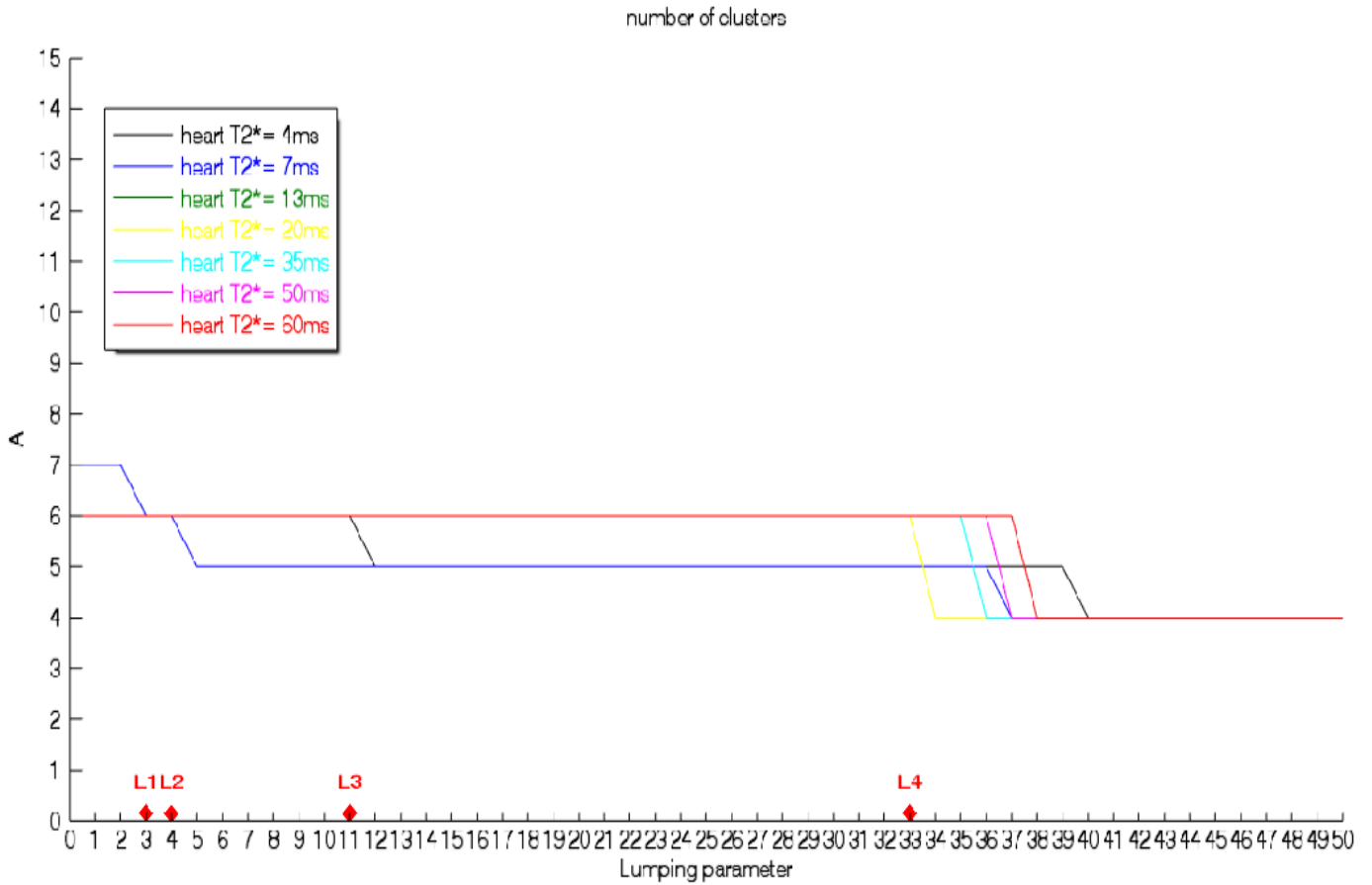


Fig 5.37 Andamento del numero di clusters (A) al variare di θ_L per i valori di $T2^*$ cardiaco esaminati

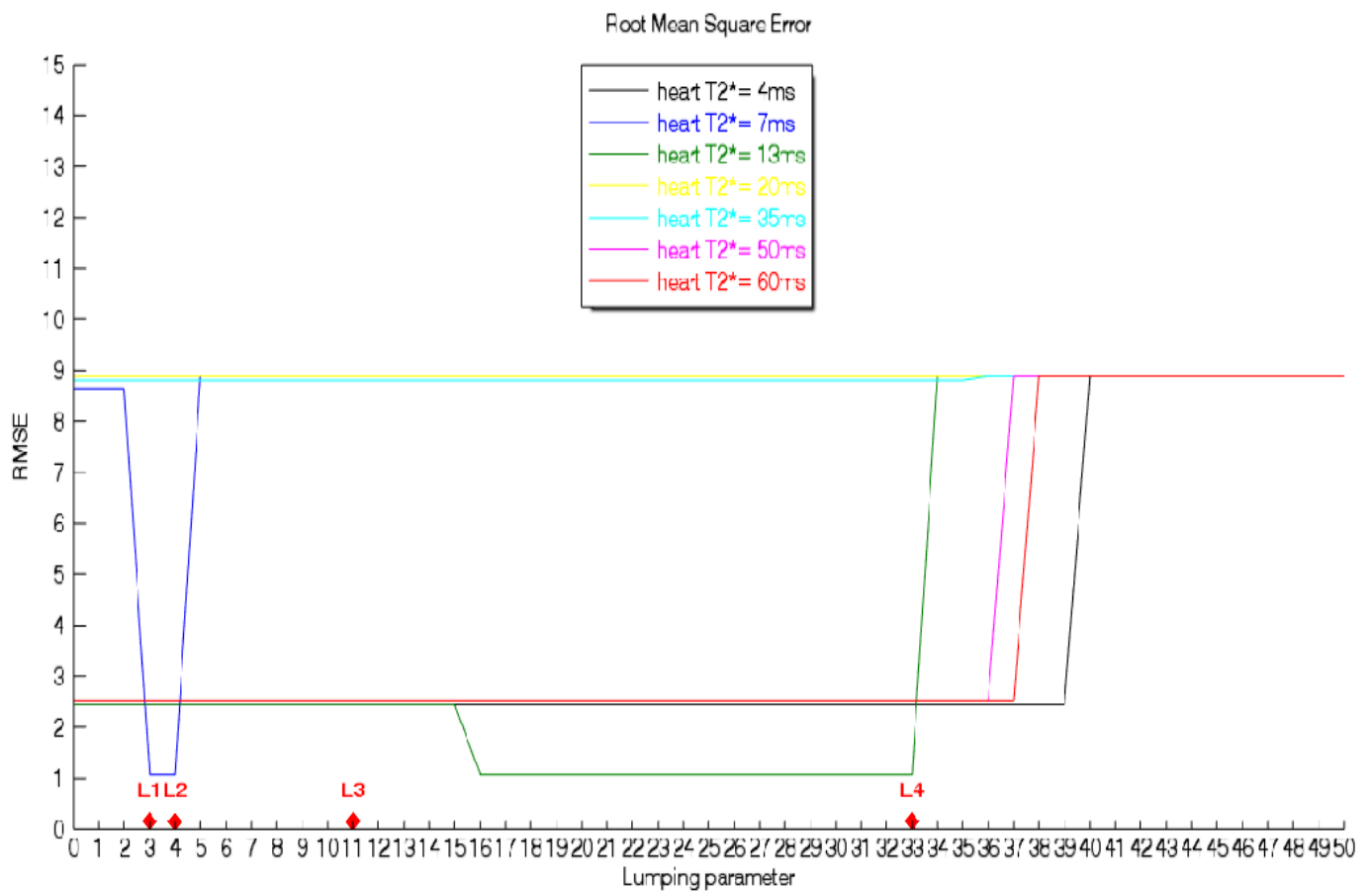


Fig 5.38 Andamento dell' RMSE al variare di θ_L per i valori di $T2^*$ cardiaco esaminati

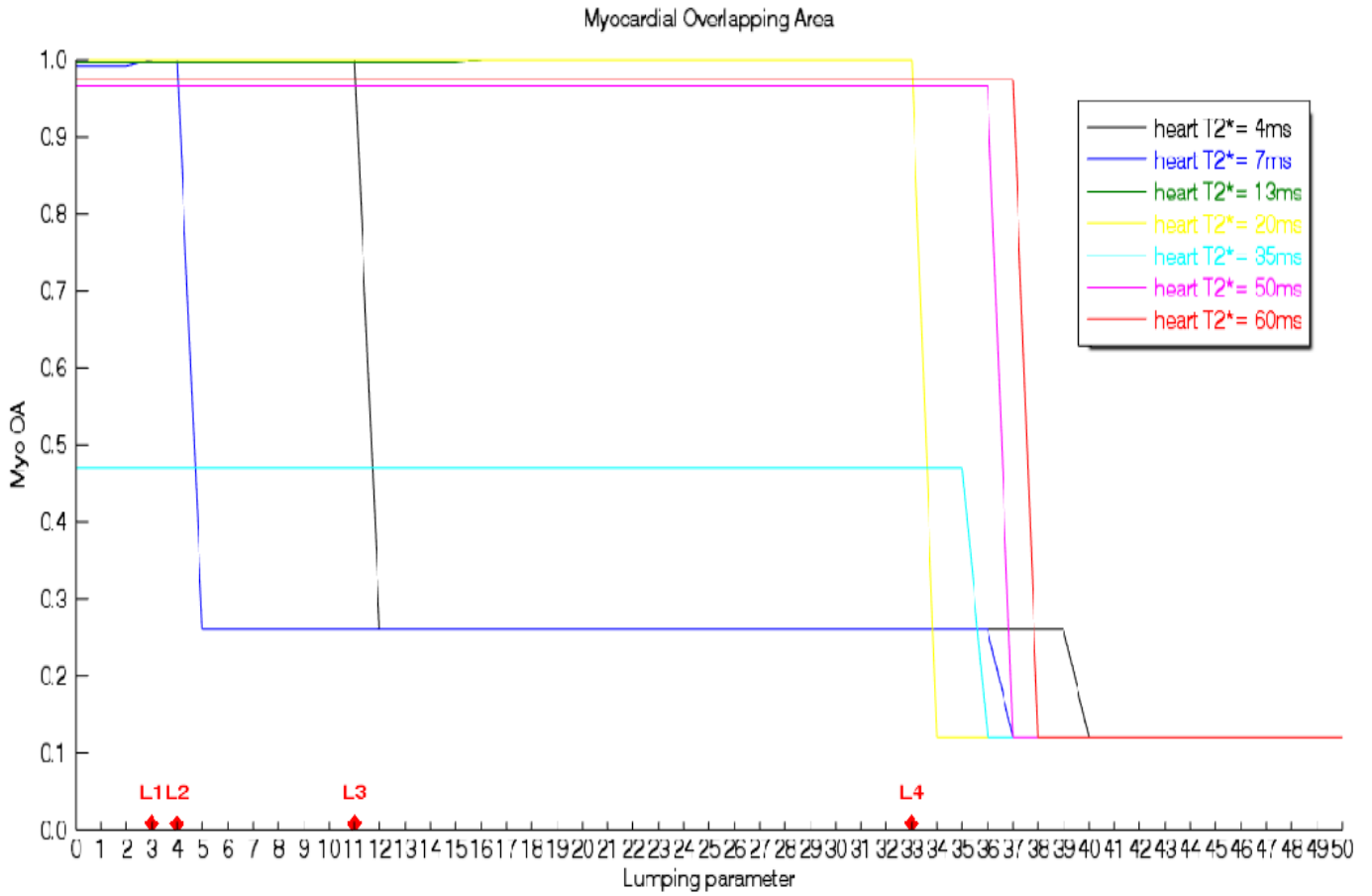


Fig 5.39 Andamento dell'OA del miocardio al variare di θ_L per i valori di $T2^*$ cardiaco esaminati

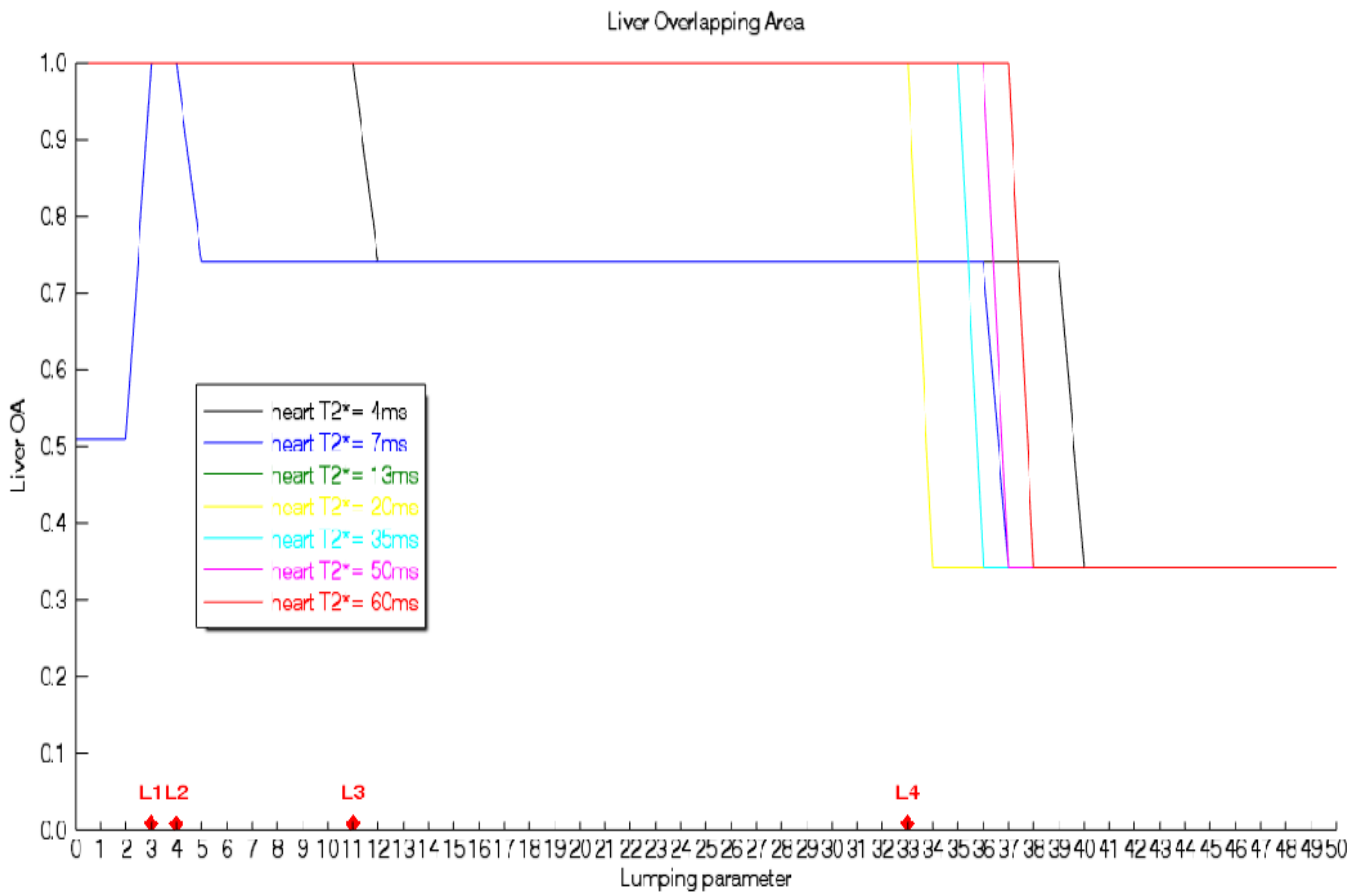


Fig 5.40 Andamento dell'OA del fegato al variare di θ_L per i valori di $T2^*$ cardiaco esaminati

Blood pool Overlapping Area

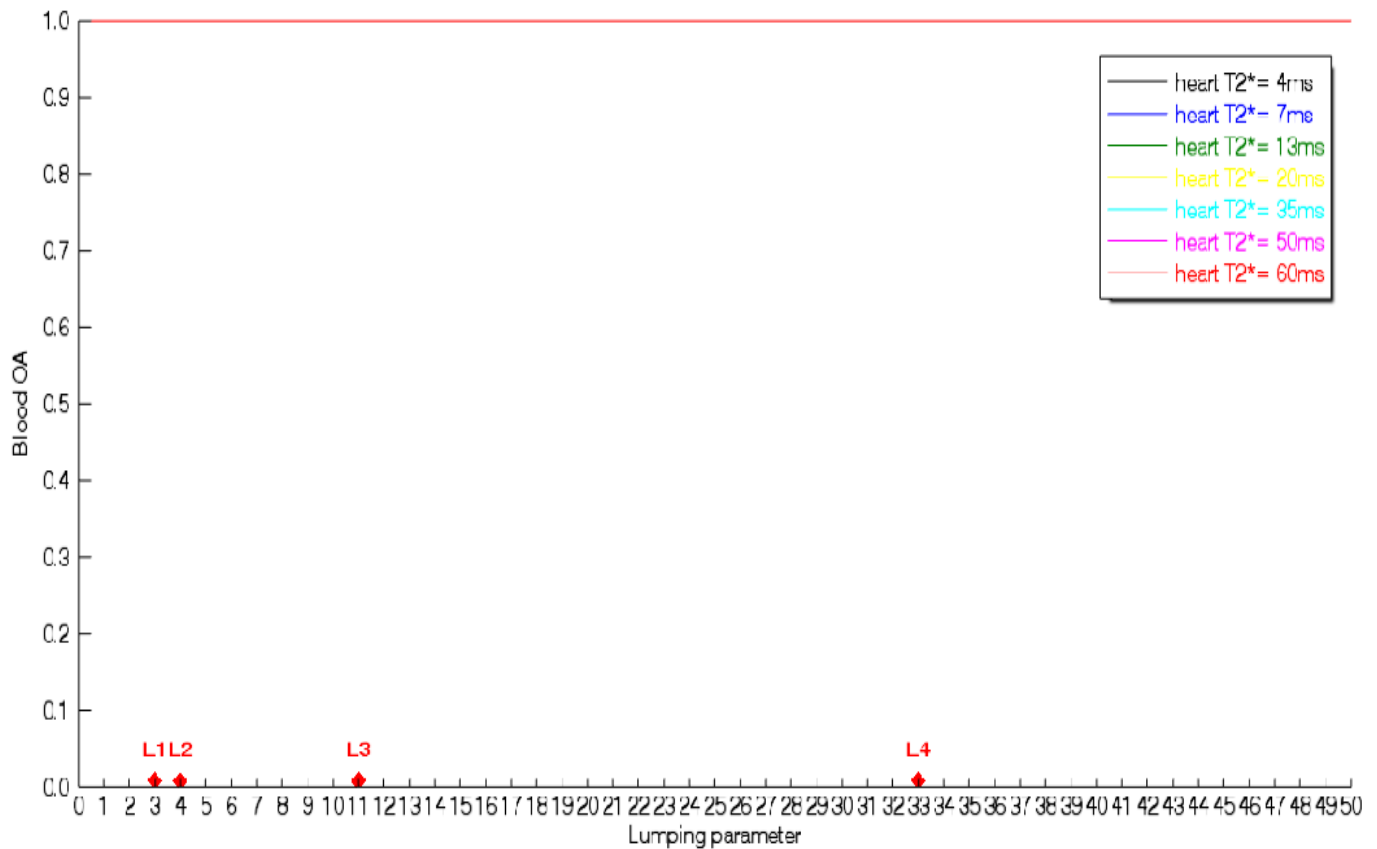


Fig 5.41 Andamento dell'OA del 'blood pool' al variare di θ_L per i valori di $T2^*$ cardiaco esaminati

Come si evince dalla figura 5.37, per $T2^*=4\text{ms}$ il numero di cluster individuati è pari a quello atteso per $\theta_L \leq 11$, mentre per valori superiori a tale soglia il numero scende a 5. Per $T2^*=7\text{ms}$ il comportamento è invece leggermente più complicato; per tale valore fegato e miocardio possiedono lo stesso decadimento $T2^*$. Per valori di $\theta_L \leq 2$ il numero di cluster è pari a 7, ad indicare che un valore troppo basso non permette all'algoritmo di raggruppare correttamente, portando all'identificazione di un cluster in più (fig 5.42); per valori compresi tra 3 e 4 l'algoritmo funziona correttamente, mentre per $\theta_L \geq 5$ l'algoritmo raggruppa fegato e miocardio in unico cluster, portando il n° complessivo di cluster da 6 a 5. Per i rimanenti valori di $T2^*$, il numero di cluster rimane pari a 6 fino a valori molto superiori; tale valore scende poi a 4 in tutti casi per valori di $\theta_L > 33$ (per $T2^*=13,20\text{ms}$), fino a $\theta_L > 37$ (per $T2^*=60\text{ms}$), con valori diversi per i vari valori di $T2^*$. Per $\theta_L > 39$ infine il numero di cluster scende da 5 a 4 anche per $T2^*=4\text{ms}$. Un numero di cluster pari a 4 è dovuto al fatto che per tali valori di θ_L l'algoritmo raggruppa miocardio, fegato e tessuto muscolare in un unico cluster (fig 5.43). Le soglie principali che caratterizzano questo andamento, rispettivamente 3,4,11 e 33, sono evidenziate in tutti i grafici.

Seguendo questo comportamento, i valori di RMSE in figura 5.38 rimangono molto bassi per valori di θ_L inferiori alle rispettive soglie; per $T2^*=7\text{ms}$ la

presenza dell'undershoot nel grafico mostra chiaramente che in questo caso l'algoritmo funziona bene solo per $3 \leq \theta_L \leq 4$. Per $T2^*$ pari a 20ms e 35ms il valore di RMSE è pressochè costante e quindi indipendente dal parametro.



Fig 5.42 Theme map per $T2^ = 7ms$ e $\theta_L \leq 2$; si nota la presenza di un cluster in più all'interno del fegato (in rosso)*



Fig 5.43 Theme map per $\theta_L > 39$;miocardio, fegato e muscolo sono attribuiti erroneamente ad un unico cluster, visualizzato in ciano.

Le overlapping area del miocardio (fig. 5.39) seguono un comportamento del tutto prevedibile, mantenendosi molto vicine o pari ad 1 per valori inferiori alle soglie corrispondenti ai vari valori di $T2^*$, per poi decrescere rapidamente a valori molto bassi una volta superate tali soglie. Anche in questo caso si nota che per $T2^*= 7ms$ il range di valori di θ_L per avere valori di OA uguali a quelli ideali è [3-4]. Discorso analogo vale per le OA del fegato (fig 5.40) dove si nota nuovamente che per $T2^*= 7.0ms$ l'unico range di valori di θ_L per ottenere valori di OA pari ad 1 sia compreso fra 3 e 4.

Anche nel caso di questo parametro si nota come le OA del 'blood pool' (fig. 5.41) siano sempre uguali a 1 in tutto il range di valori esaminato, indicando la capacità dell'algorithmo di identificare questo tessuto con la massima accuratezza in maniera indipendente da θ_L . D'altro canto nella realtà il sangue ossigenato ha un rilassamento molto lento ($T2^*$ fino a 200ms) e mantiene valori di segnale quasi costanti e molto diversi dagli altri tessuti, per cui non è difficile riuscire a differenziarlo rispetto alle strutture limitrofe. Ciò rappresenta un enorme vantaggio poiché rende possibile la corretta identificazione dei contorni dell'endocardio, i quali infatti rappresentano il 'confine' tra blood pool e miocardio.

In conclusione, analizzando tutti questi dati, si può affermare che un valore di θ_L compreso tra 3 e 4 rappresenti una stima ottima per poter segmentare correttamente

il dataset di immagini fantoccio al variare del $T2^*$ cardiaco; molti valori di $T2^*$ hanno infatti soglie di θ_L molto più elevate, ma utilizzando un valore interno a questo range si può includere correttamente anche il caso critico in cui miocardio e fegato possiedono uguale valore di $T2^*$ (7ms).

5.5 Parametro di splitting

Il parametro di splitting rappresenta una soglia massima di deviazione standard di un cluster, al di sopra della quale il cluster stesso viene suddiviso in 2 nuovi cluster; essendo una misura di variabilità interna di un cluster è plausibile ipotizzare che tale valore sia legato alle fonti di variabilità interne ad un'immagine RM, in particolare al rumore di acquisizione (ed in misura minore al diverso rilassamento $T2^*$ dei vari tessuti). Si può supporre che il valore di θ_S sia legato alla deviazione standard del rumore, che nelle acquisizioni MRI varia dal valore della SD del rumore gaussiano presente nei canali di fase e quadratura nelle regioni ad elevato SNR, ad un valore superiore superiore nelle zone a basso SNR. Il limite superiore è dato dalla SD del rumore gaussiano moltiplicata per un opportuno fattore di correzione (1.526), per tener conto che la distribuzione del rumore in MRI è una distribuzione Riciana. Per come è modellato il rumore sulle immagini fantoccio, i valori di SD saranno rispettivamente 1.5 ed $(1.5 \cdot 1.526) = 2.2890$. Il parametro θ_S è stato variato quindi da 0 a 5 con passo 0.1, per coprire un range pari a più del doppio del limite superiore di SD; gli altri parametri sono stati invece impostati nella seguente maniera:

- $\theta_N = 800$ pixels;
- $\theta_L = 8$ se heart $T2^* = 4$ ms,
= 3 se heart $T2^* = 7$ ms;
= 20 se heart $T2^* > 7$ ms;
- $\dim = 6$.

Si riportano in seguito tabelle dei valori medi ottenuti e grafici risultanti.

Splitting parameter	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
0.00000	6.00000	2.16478	0.45352	0.57630	1.00000
0.10000	6.00000	2.16478	0.45352	0.57630	1.00000
0.20000	6.00000	2.16478	0.45352	0.57630	1.00000
0.30000	6.00000	2.16478	0.45352	0.57630	1.00000
0.40000	6.00000	2.16478	0.45352	0.57630	1.00000
0.50000	6.00000	2.16478	0.45352	0.57630	1.00000
0.60000	6.00000	2.16478	0.45352	0.57630	1.00000
0.70000	6.00000	2.16478	0.45352	0.57630	1.00000
0.80000	6.00000	2.16478	0.45352	0.57630	1.00000
0.90000	6.00000	2.16478	0.45352	0.57630	1.00000
1.00000	6.00000	2.16478	0.45352	0.57630	1.00000
1.10000	6.00000	2.16478	0.45352	0.57630	1.00000
1.20000	6.00000	2.16478	0.45352	0.57630	1.00000
1.30000	6.00000	2.16478	0.45352	0.57630	1.00000
1.40000	6.00000	2.16478	0.45352	0.57630	1.00000
1.50000	6.00000	2.16478	0.45352	0.57630	1.00000
1.60000	6.00000	1.07325	1.00000	1.00000	1.00000
1.70000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
1.80000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
1.90000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
2.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
2.10000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
2.20000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
2.30000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
2.40000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
2.50000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
2.60000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
2.70000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
2.80000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
2.90000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
3.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
3.10000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
3.20000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
3.30000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
3.40000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
3.50000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
3.60000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
3.70000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
3.80000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
3.90000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
4.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
4.10000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
4.20000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
4.30000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
4.40000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
4.50000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
4.60000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
4.70000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
4.80000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
4.90000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
5.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000

Fig 5.44 Tabella parametro θ_s per $T2^$ cardiaco = 4.0ms*

Splitting parameter	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
0.00000	6.00000	1.19835	0.95756	0.98442	1.00000
0.10000	6.00000	1.19835	0.95756	0.98442	1.00000
0.20000	6.00000	1.19835	0.95756	0.98442	1.00000
0.30000	6.00000	1.19835	0.95756	0.98442	1.00000
0.40000	6.00000	1.19835	0.95756	0.98442	1.00000
0.50000	6.00000	1.19835	0.95756	0.98442	1.00000
0.60000	6.00000	1.19835	0.95756	0.98442	1.00000
0.70000	6.00000	1.19835	0.95756	0.98442	1.00000
0.80000	6.00000	1.19835	0.95756	0.98442	1.00000
0.90000	6.00000	1.19835	0.95756	0.98442	1.00000
1.00000	6.00000	1.19835	0.95756	0.98442	1.00000
1.10000	6.00000	1.19835	0.95756	0.98442	1.00000
1.20000	6.00000	1.19835	0.95756	0.98442	1.00000
1.30000	6.00000	1.19835	0.95756	0.98442	1.00000
1.40000	6.00000	1.19835	0.95756	0.98442	1.00000
1.50000	6.00000	1.19835	0.95756	0.98442	1.00000
1.60000	6.00000	1.10271	1.00000	1.00000	1.00000
1.70000	6.00000	1.10271	1.00000	1.00000	1.00000
1.80000	6.00000	1.10271	1.00000	1.00000	1.00000
1.90000	6.00000	1.10271	1.00000	1.00000	1.00000
2.00000	6.00000	1.10271	1.00000	1.00000	1.00000
2.10000	6.00000	1.10271	1.00000	1.00000	1.00000
2.20000	6.00000	1.10271	1.00000	1.00000	1.00000
2.30000	6.00000	1.10271	1.00000	1.00000	1.00000
2.40000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
2.50000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
2.60000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
2.70000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
2.80000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
2.90000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
3.00000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
3.10000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
3.20000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
3.30000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
3.40000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
3.50000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
3.60000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
3.70000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
3.80000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
3.90000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
4.00000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
4.10000	6.00000	8.64272	0.93282	0.97468	1.00000
4.20000	6.00000	8.75482	0.59604	0.76169	1.00000
4.30000	6.00000	8.75482	0.59604	0.76169	1.00000
4.40000	6.00000	8.75482	0.59604	0.76169	1.00000
4.50000	6.00000	8.75482	0.59604	0.76169	1.00000
4.60000	6.00000	8.75482	0.59604	0.76169	1.00000
4.70000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
4.80000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
4.90000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000
5.00000	5.00000	8.88145	0.26015	0.73985	1.00000

Fig 5.45 Tabella parametro θ_s per $T2^*$ cardiaco = 7.0ms

Splitting parameter	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
0.0000	6.0000	118.05701	1.0000	1.0000	1.0000
0.1000	6.0000	118.05701	1.0000	1.0000	1.0000
0.2000	6.0000	118.05701	1.0000	1.0000	1.0000
0.3000	6.0000	118.05701	1.0000	1.0000	1.0000
0.4000	6.0000	118.05701	1.0000	1.0000	1.0000
0.5000	6.0000	118.05701	1.0000	1.0000	1.0000
0.6000	6.0000	118.05701	1.0000	1.0000	1.0000
0.7000	6.0000	118.05701	1.0000	1.0000	1.0000
0.8000	6.0000	118.05701	1.0000	1.0000	1.0000
0.9000	6.0000	118.05701	1.0000	1.0000	1.0000
1.0000	6.0000	118.05701	1.0000	1.0000	1.0000
1.1000	6.0000	118.05701	1.0000	1.0000	1.0000
1.2000	6.0000	118.05701	1.0000	1.0000	1.0000
1.3000	6.0000	118.05701	1.0000	1.0000	1.0000
1.4000	6.0000	118.05701	1.0000	1.0000	1.0000
1.5000	6.0000	118.05701	1.0000	1.0000	1.0000
1.6000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
1.7000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
1.8000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
1.9000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
2.0000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
2.1000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
2.2000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
2.3000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
2.4000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
2.5000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
2.6000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
2.7000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
2.8000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
2.9000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
3.0000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
3.1000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
3.2000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
3.3000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
3.4000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
3.5000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
3.6000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
3.7000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
3.8000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
3.9000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
4.0000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
4.1000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
4.2000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
4.3000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
4.4000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
4.5000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
4.6000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
4.7000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
4.8000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
4.9000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000
5.0000	6.0000	1.07325	1.0000	1.0000	1.0000

Fig 5.46 Tabella parametro θ_s per $T2^*$ cardiaco = 13.0ms

Splitting parameter	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
0.0000	6.0000	2.08351	0.92406	1.00000	1.00000
0.1000	6.0000	2.08351	0.92406	1.00000	1.00000
0.2000	6.0000	2.08351	0.92406	1.00000	1.00000
0.3000	6.0000	2.08351	0.92406	1.00000	1.00000
0.4000	6.0000	2.08351	0.92406	1.00000	1.00000
0.5000	6.0000	2.08351	0.92406	1.00000	1.00000
0.6000	6.0000	2.08351	0.92406	1.00000	1.00000
0.7000	6.0000	2.08351	0.92406	1.00000	1.00000
0.8000	6.0000	2.08351	0.92406	1.00000	1.00000
0.9000	6.0000	2.08351	0.92406	1.00000	1.00000
1.0000	6.0000	2.08351	0.92406	1.00000	1.00000
1.1000	6.0000	2.08351	0.92406	1.00000	1.00000
1.2000	6.0000	2.08351	0.92406	1.00000	1.00000
1.3000	6.0000	2.08351	0.92406	1.00000	1.00000
1.4000	6.0000	2.08351	0.92406	1.00000	1.00000
1.5000	6.0000	2.08351	0.92406	1.00000	1.00000
1.6000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
1.7000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
1.8000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
1.9000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
2.0000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
2.1000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
2.2000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
2.3000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
2.4000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
2.5000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
2.6000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
2.7000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
2.8000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
2.9000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
3.0000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
3.1000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
3.2000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
3.3000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
3.4000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
3.5000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
3.6000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
3.7000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
3.8000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
3.9000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
4.0000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
4.1000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
4.2000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
4.3000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
4.4000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
4.5000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
4.6000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
4.7000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
4.8000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
4.9000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
5.0000	6.0000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000

Fig 5.47 Tabella parametro θ_s per $T2^*$ cardiaco = 20.0ms

Splitting parameter	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
0.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
0.10000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
0.20000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
0.30000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
0.40000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
0.50000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
0.60000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
0.70000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
0.80000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
0.90000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1.00000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1.10000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1.20000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1.30000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1.40000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1.50000	5.00000	2.52933	0.18337	1.00000	1.00000
1.60000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
1.70000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
1.80000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
1.90000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
2.00000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
2.10000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
2.20000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
2.30000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
2.40000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
2.50000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
2.60000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
2.70000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
2.80000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
2.90000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
3.00000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
3.10000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
3.20000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
3.30000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
3.40000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
3.50000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
3.60000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
3.70000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
3.80000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
3.90000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
4.00000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
4.10000	6.00000	8.79784	0.47210	1.00000	1.00000
4.20000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
4.30000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
4.40000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
4.50000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
4.60000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
4.70000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
4.80000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
4.90000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000
5.00000	5.00000	8.88145	0.18337	1.00000	1.00000

Fig 5.48 Tabella parametro θ_s per $T2^*$ cardiaco = 35.0ms

Splitting parameter	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
0.00000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
0.10000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
0.20000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
0.30000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
0.40000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
0.50000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
0.60000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
0.70000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
0.80000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
0.90000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
1.00000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
1.10000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
1.20000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
1.30000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
1.40000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
1.50000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
1.60000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
1.70000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
1.80000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
1.90000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
2.00000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
2.10000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
2.20000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
2.30000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
2.40000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
2.50000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
2.60000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
2.70000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
2.80000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
2.90000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
3.00000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
3.10000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
3.20000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
3.30000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
3.40000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
3.50000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
3.60000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
3.70000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
3.80000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
3.90000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
4.00000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
4.10000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
4.20000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
4.30000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
4.40000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
4.50000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
4.60000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
4.70000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
4.80000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
4.90000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000
5.00000	6.00000	2.52933	0.97217	1.00000	1.00000

Fig 5.49 Tabella parametro θ_s per $T2^*$ cardiaco = 50.0ms

Splitting parameter	A	RMSE	Myocardium OA	Liver OA	Blood OA
0.00000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
0.10000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
0.20000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
0.30000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
0.40000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
0.50000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
0.60000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
0.70000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
0.80000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
0.90000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
1.00000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
1.10000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
1.20000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
1.30000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
1.40000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
1.50000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
1.60000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
1.70000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
1.80000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
1.90000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
2.00000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
2.10000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
2.20000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
2.30000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
2.40000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
2.50000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
2.60000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
2.70000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
2.80000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
2.90000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
3.00000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
3.10000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
3.20000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
3.30000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
3.40000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
3.50000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
3.60000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
3.70000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
3.80000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
3.90000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
4.00000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
4.10000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
4.20000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
4.30000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
4.40000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
4.50000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
4.60000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
4.70000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
4.80000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
4.90000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000
5.00000	6.00000	2.52933	0.97305	1.00000	1.00000

Fig 5.50 Tabella parametro θ_s per $T2^$ cardiaco = 60.0ms*

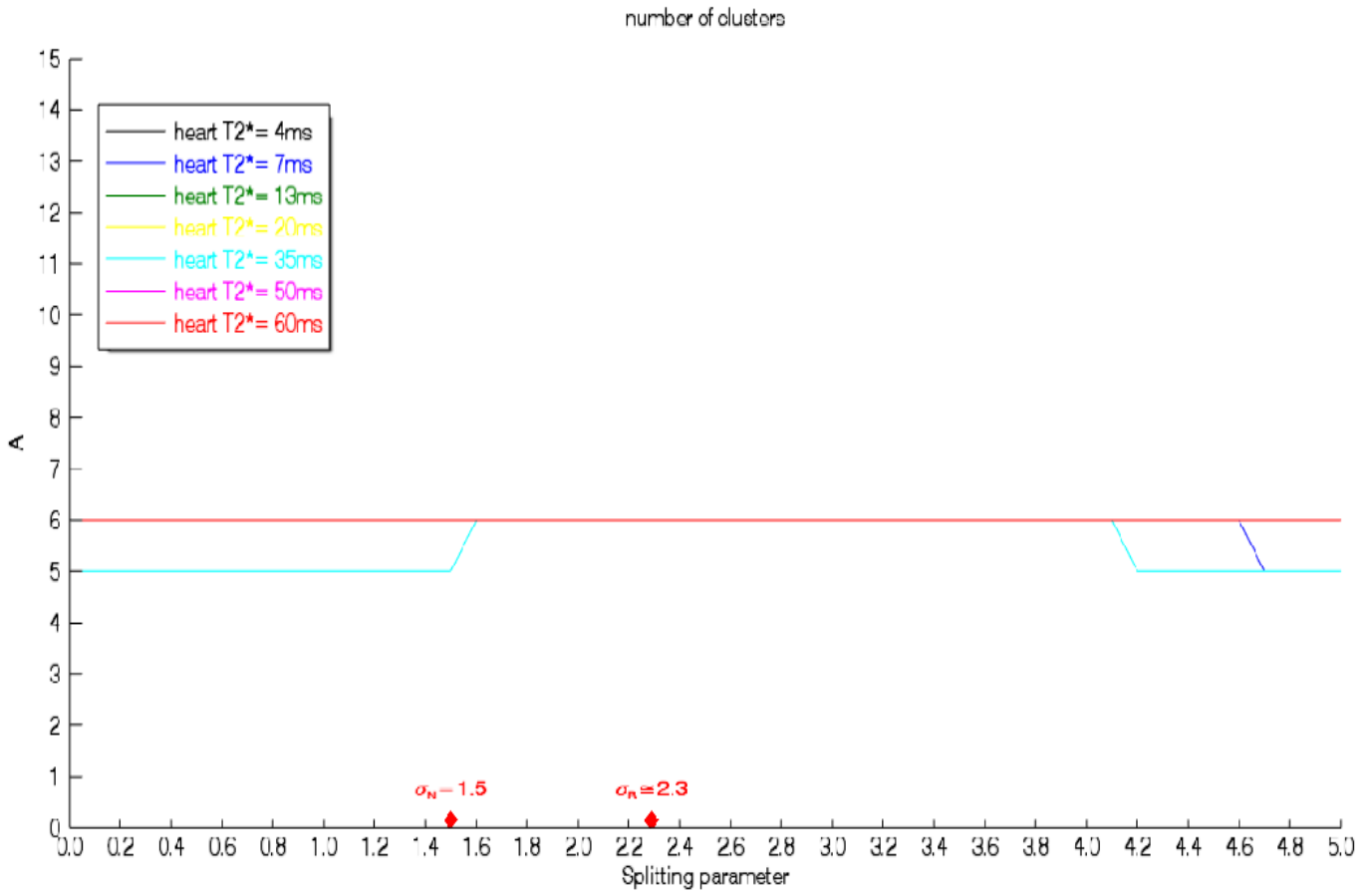


Fig 5.51 Andamento del numero di clusters (A) al variare di θ_s per i valori di $T2^*$ cardiaco esaminati

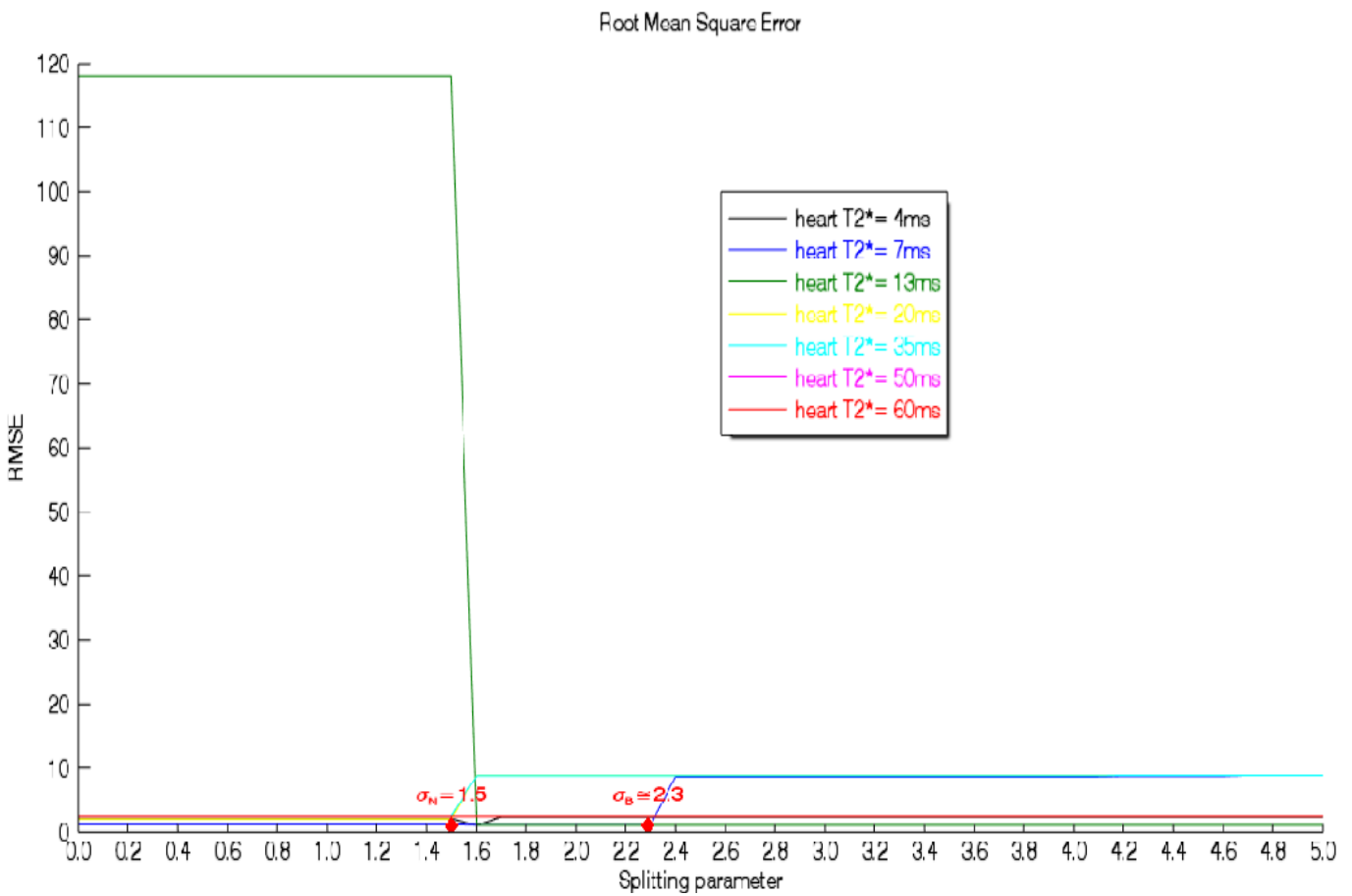


Fig 5.52 Andamento dell' RMSE al variare di θ_s per i valori di $T2^*$ cardiaco esaminati

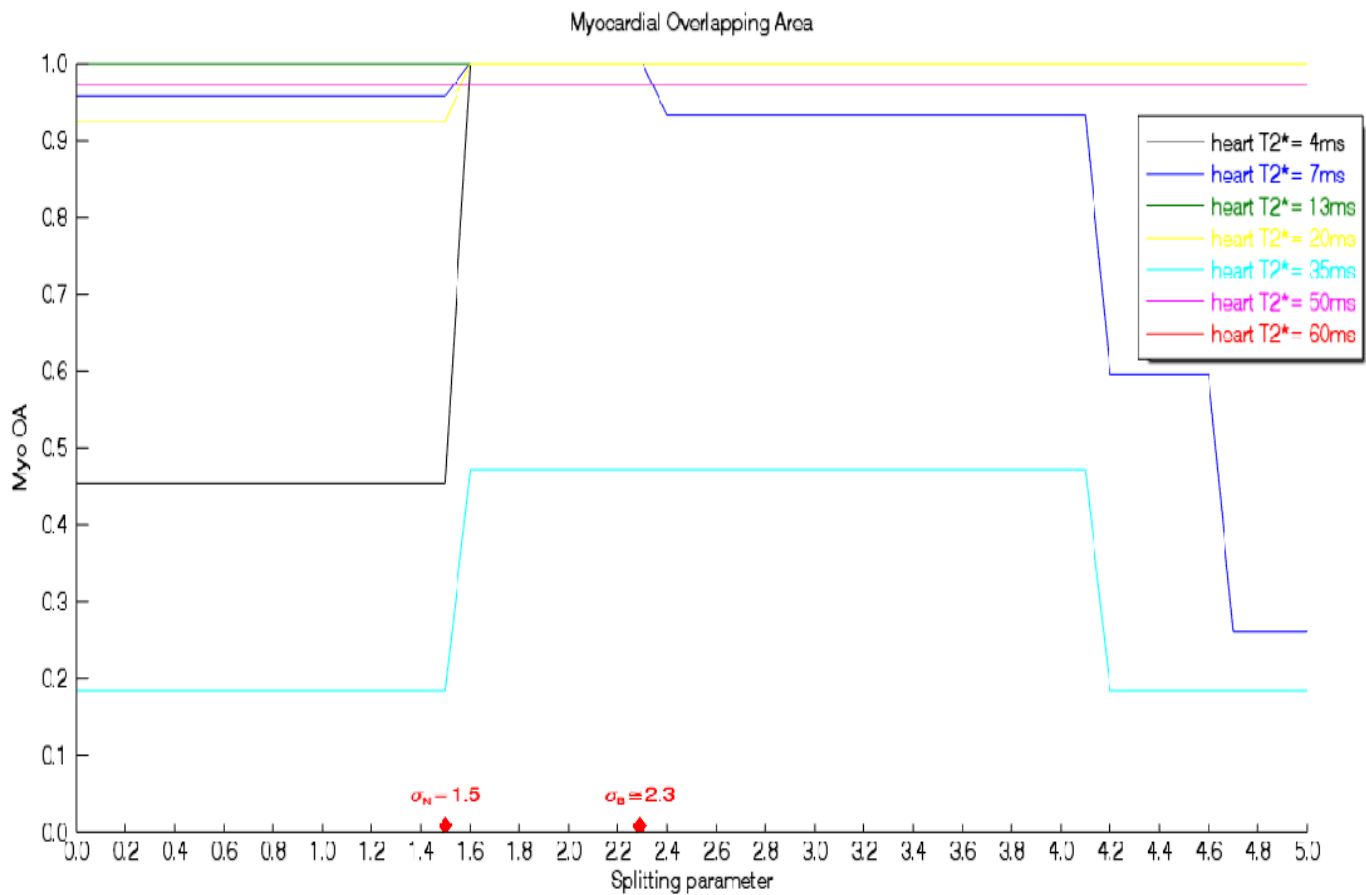


Fig 5.53 Andamento dell' OA del miocardio variare di θ_s per i valori di $T2^*$ cardiaco esaminati

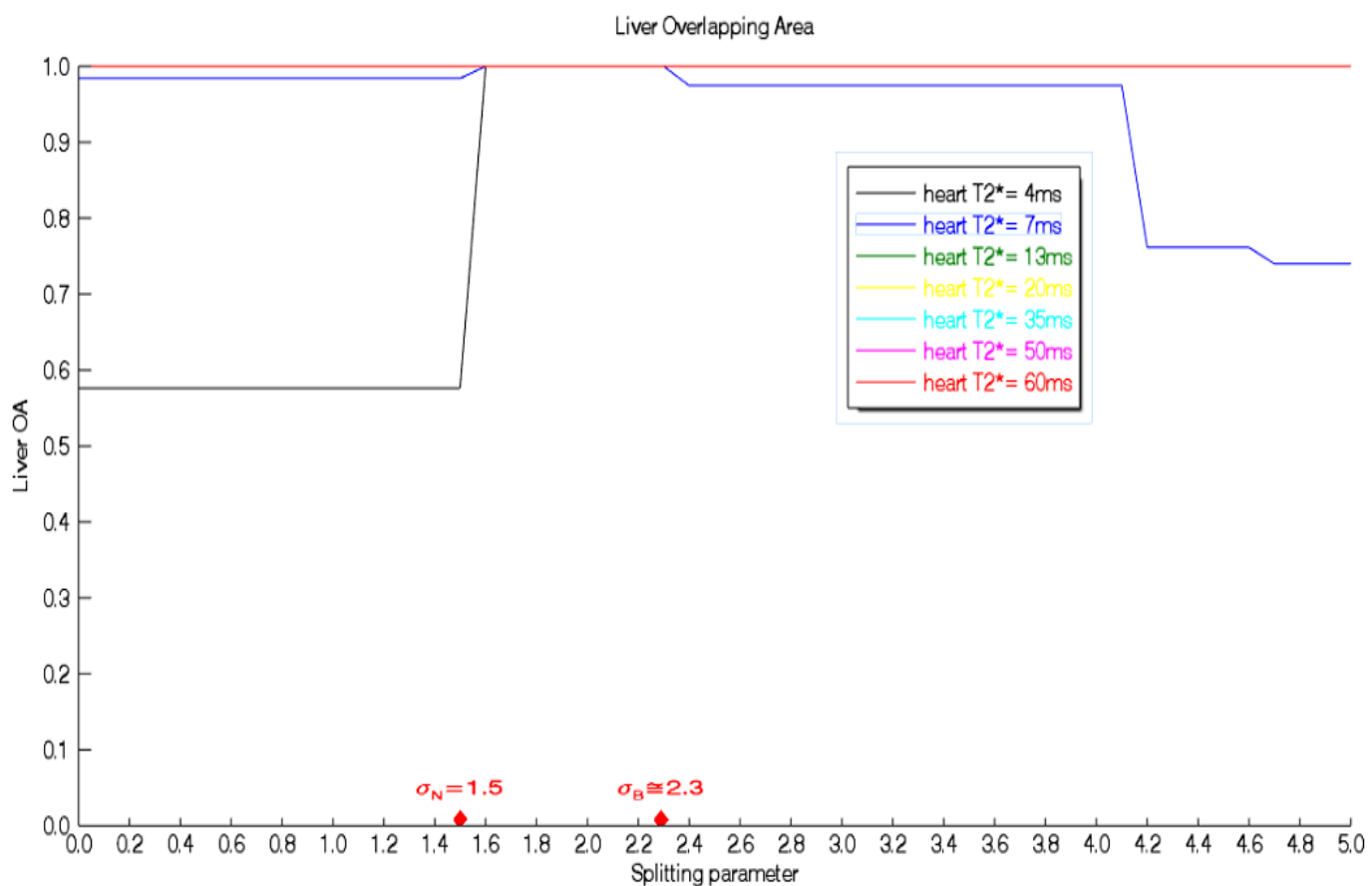


Fig 5.54 Andamento dell' OA del fegato variare di θ_s per i valori di $T2^*$ cardiaco esaminati

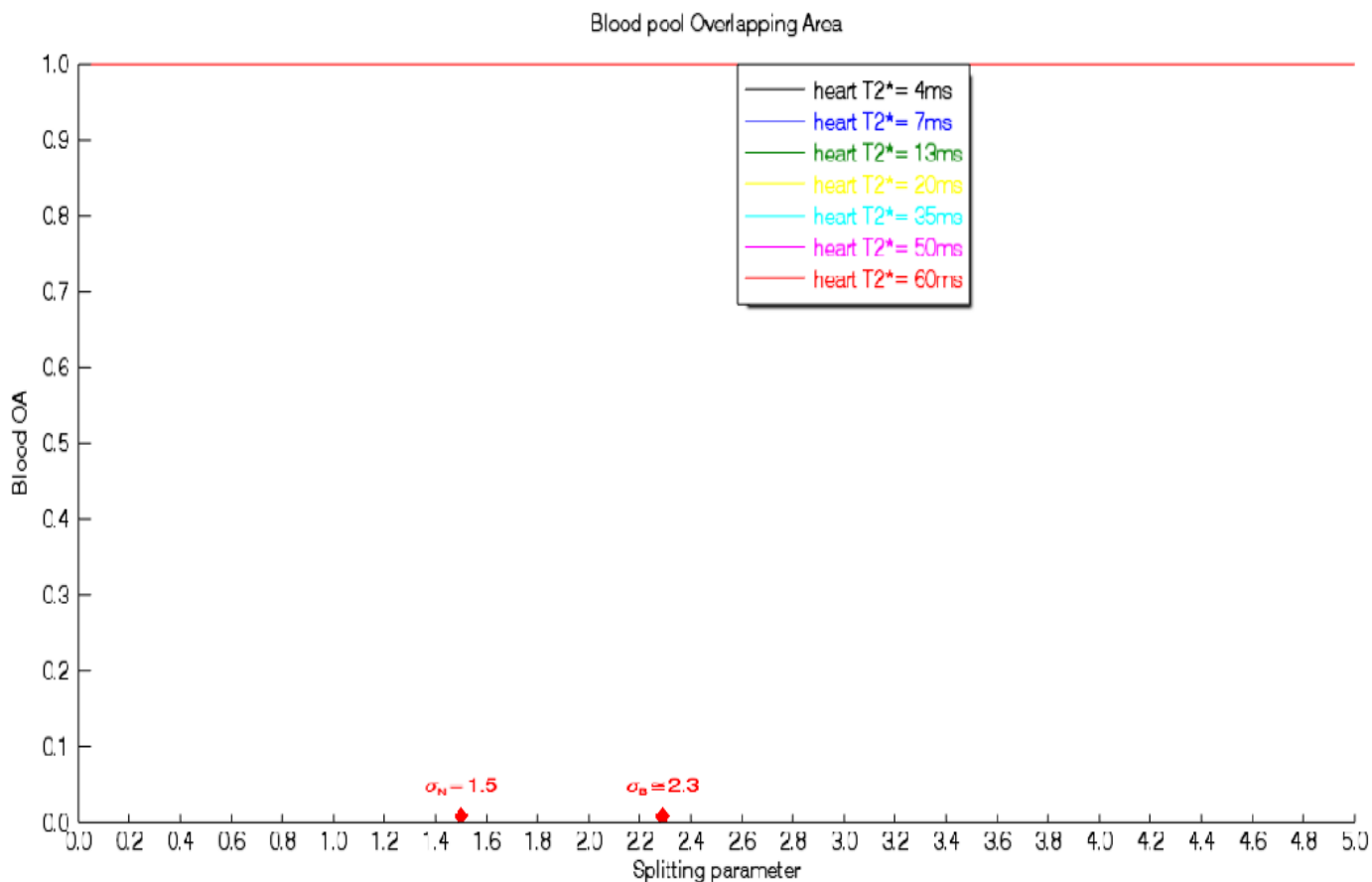


Fig 5.55 Andamento dell' OA del 'blood pool' variare di θ_s per i valori di T2* cardiaco esaminati

Come si nota dalla figura 5.51, il numero di cluster individuati è pari 6 in tutto il range analizzato, ad eccezione dei valori di T2*= 7ms e 35ms. Si potrebbe pensare che valori di θ_s troppo bassi possano portare l'algoritmo a suddividere troppo i cluster di volta in volta individuati; tuttavia l'importanza di questo parametro diventa cruciale quando l'algoritmo, nel corso della sua evoluzione, si avvicina alla condizione di regime dove le SD dei cluster si assestano intorno alla SD del rumore. Nelle prime iterazioni dell'algoritmo infatti le SD dei cluster saranno molto elevate, con valori di diversi ordini di grandezza superiori al valore di θ_s , in quanto l'algoritmo è lontano dalla convergenza. Di conseguenza, pur impostando valori superiori per θ_s , i cluster lontani dalla condizione di regime saranno sempre suddivisi, ma una corretta impostazione dei parametri θ_N e θ_L porterà i nuovi cluster che si sono formati ad essere scartati perchè troppo piccoli, oppure ad essere raggruppati negli step successivi di 'merging'. Quando invece i cluster si avvicinano alla loro conformazione finale, assestando le loro SD interne, l'importanza del parametro θ_s diventa fondamentale ai fini di una corretta segmentazione. Facendo girare l'algoritmo con valori bassi di θ_s si nota che, nonostante i cluster vengano tutti riconosciuti, si ha una quota di pixel spuri che vengono erroneamente associati al miocardio, pur appartenendo in realtà ad altritessuti, in particolare a fegato e tessuto muscolare (figure 5.56 e 5.57). Tali tessuti sono per l'appunto i tessuti 'critici' rispetto al miocardio stesso, ovvero

quelli con valori di segnale simili ad esso e quindi più difficili da distinguere da quest'ultimo. Si potrebbe inoltre pensare che valori troppo elevati di θ_s inibiscano invece le capacità di 'splitting' dell' algoritmo, portando all'identificazione di un numero troppo basso di cluster. Tale comportamento non viene esibito nella figura 5.50, ad eccezione del caso di $T2^* = 7\text{ms}$, dove per $\theta_s > 4.7$ il numero di cluster scende a 5; il motivo di ciò è da ricondurre semplicemente al fatto che il range analizzato è troppo basso per poter apprezzare tale comportamento, come sarà invece esemplificato in seguito quando si analizzerà il caso di SD del rumore variabili e superiori a 1.5. In questi casi verrà infatti usato un range molto più ampio per θ_s . Per $T2^* = 35\text{ms}$ invece il numero di cluster raggiunge il valore atteso solo per $\theta_s > 1.5$, per poi scendere a 5 quando $\theta_s > 4.1$. Il limite inferiore e quello superiore della SD del rumore (denotati rispettivamente con σ_N e σ_B , e con valori pari a 1.5 e 2.289) sono evidenziati in tutti i grafici.



Fig 5.56 Esempio di theme map per valori troppo bassi di θ_s ; si nota la presenza all'interno del fegato(bianco) di pixels spuri che vengono invece attribuiti al miocardio (blu).

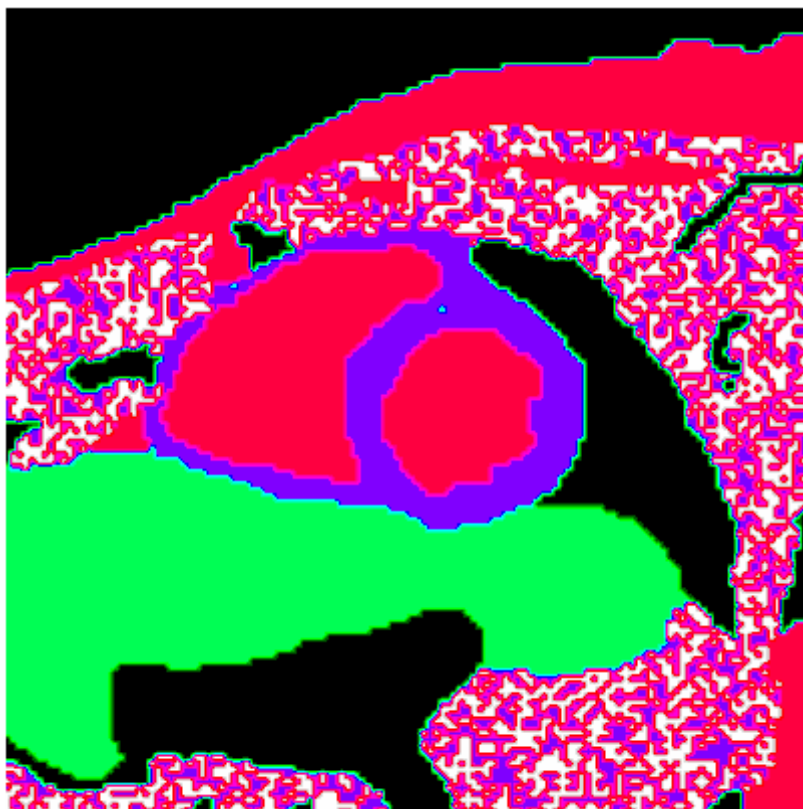


Fig 5.57 Esempio di theme map per valori troppo bassi di θ_s ; si nota la presenza all'interno del tessuto muscolare (bianco) di pixels spuri che vengono invece attribuiti al miocardio (blu).

Nonostante la presenza di pixels spuri, il valore di RMSE (fig. 5.52) nella maggior parte dei casi è molto basso e costante su tutto il range di θ_s ; il comportamento più evidente può essere apprezzato per $T2^*=13\text{ms}$, dove il valore di RMSE si riduce drasticamente da circa 120 a poco più di 1 per $\theta_s > \sigma_N$. Per $T2^*=7\text{ms}$ il valore di RMSE cresce leggermente una volta superato il limite superiore della SD del rumore (σ_B), mentre per $T2^*=35\text{ms}$ cresce una volta superata la soglia inferiore σ_N ; in questo caso, nonostante il superamento della soglia comporti la corretta segmentazione di tutti i cluster, rimarrà ugualmente una quota di pixels spuri appartenenti al tessuto muscolare che vengono invece associati al miocardio. Per i valori di $T2^*=13\text{ms}$, 50ms , 60ms le OA del miocardio (fig. 5.53) sono pari a 1 o molto vicine ad 1, e si mantengono tali in tutto il range di θ_s . Per $T2^*=20\text{ms}$ tale valore sale da poco più di 0.9 a 1 per $\theta_s > \sigma_N$, mentre per $T2^*=7\text{ms}$ tale valore sale da circa 0.95 a 1 superata tale soglia, per scendere poi nuovamente al valore iniziale una volta superata la soglia σ_B , e continuare a decrescere per valori superiori di θ_s . La crescita più evidente si ha per $T2^*=4\text{ms}$, dove la OA del miocardio cresce da circa 0.45 a 1 al superamento di σ_N ; per $T2^*=35\text{ms}$ si ha pure una crescita in corrispondenza di tale soglia, anche se il valore di regime raggiunto è ancora una volta inferiore a quello ideale (circa la metà). Le OA del fegato (fig. 5.54) sono invece costanti e pari ad 1 in quasi tutti i casi, mentre per

$T2^*=4ms,7ms$ raggiungono tale massimo solo al superamento di σ_N . Si può infine notare come anche in questo caso il valore delle OA del 'blood pool' (fig. 5.55) sia massimo e indipendente dal parametro θ_s analizzato.

Si può quindi concludere che, sulla base dei risultati ottenuti, un'impostazione ottimale di tale parametro vada ricercata nel range compreso tra i valori di σ_N e σ_B , ($\sigma_B = 1.526 \sigma_N$) con maggiore propensione verso il limite superiore di questo range.

Per investigare ulteriormente l'influenza di questo parametro sul funzionamento dell'algoritmo ISODATA e per valutarne il legame con il rumore presente sulle immagini, la SD del rumore applicato sulle immagini fantoccio è stata variata in seguito da 2 a 6 con passo unitario, avvicinando quindi le immagini fantoccio a quelle reali, dove la SD del rumore si assesta solitamente a valori compresi tra 5 e 6. Per effettuare tale studio è stato selezionato un solo valore di $T2^*$, pari a 4ms, mentre il parametro di splitting è stato variato da 0 a 15 con passo 0.1 al fine di ottenere un range più che doppio rispetto al valore massimo di SD analizzato. Per ogni valore di SD e di θ_s i risultati sono stati mediati su $n=10$ prove e calcolati in termini di media e deviazione standard; anche in questo caso la variabilità dei risultati è stata nulla (deviazioni standard pari a 0 in tutti i casi).

Per queste analisi l'impostazione degli altri parametri critici è stata la seguente:

- $\theta_N=800$;
- $\theta_L=8$;
- $dim=6$.

Si riportano di seguito solo i grafici relativi all'andamento degli indici performance su tutto il range di θ_s analizzato, quotati per i vari valori di SD del rumore impostata sul dataset di immagini fantoccio.

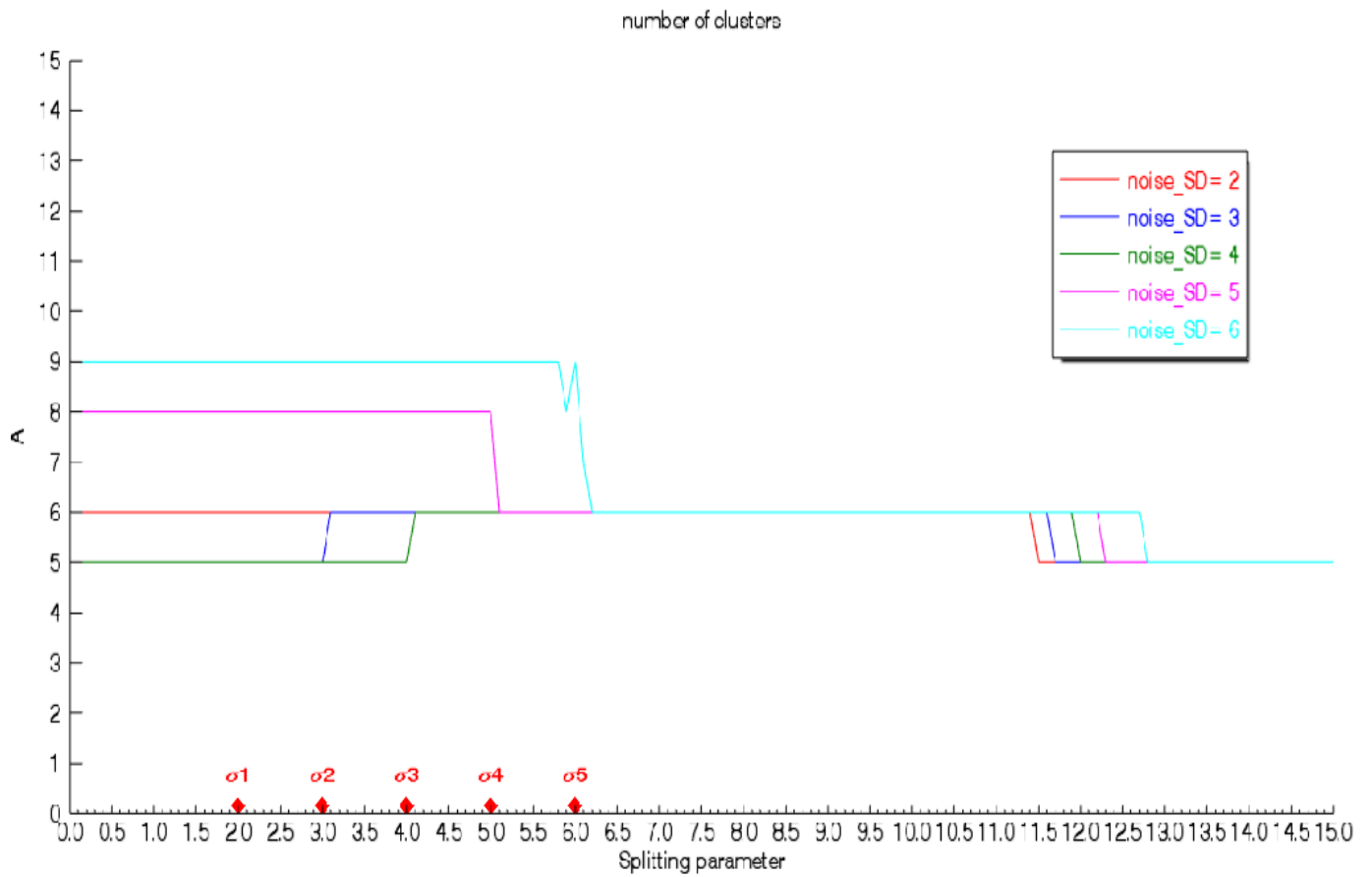


Fig 5.58 Andamento del numero di clusters (A) al variare di θ_s per i valori di SD del rumore impostati

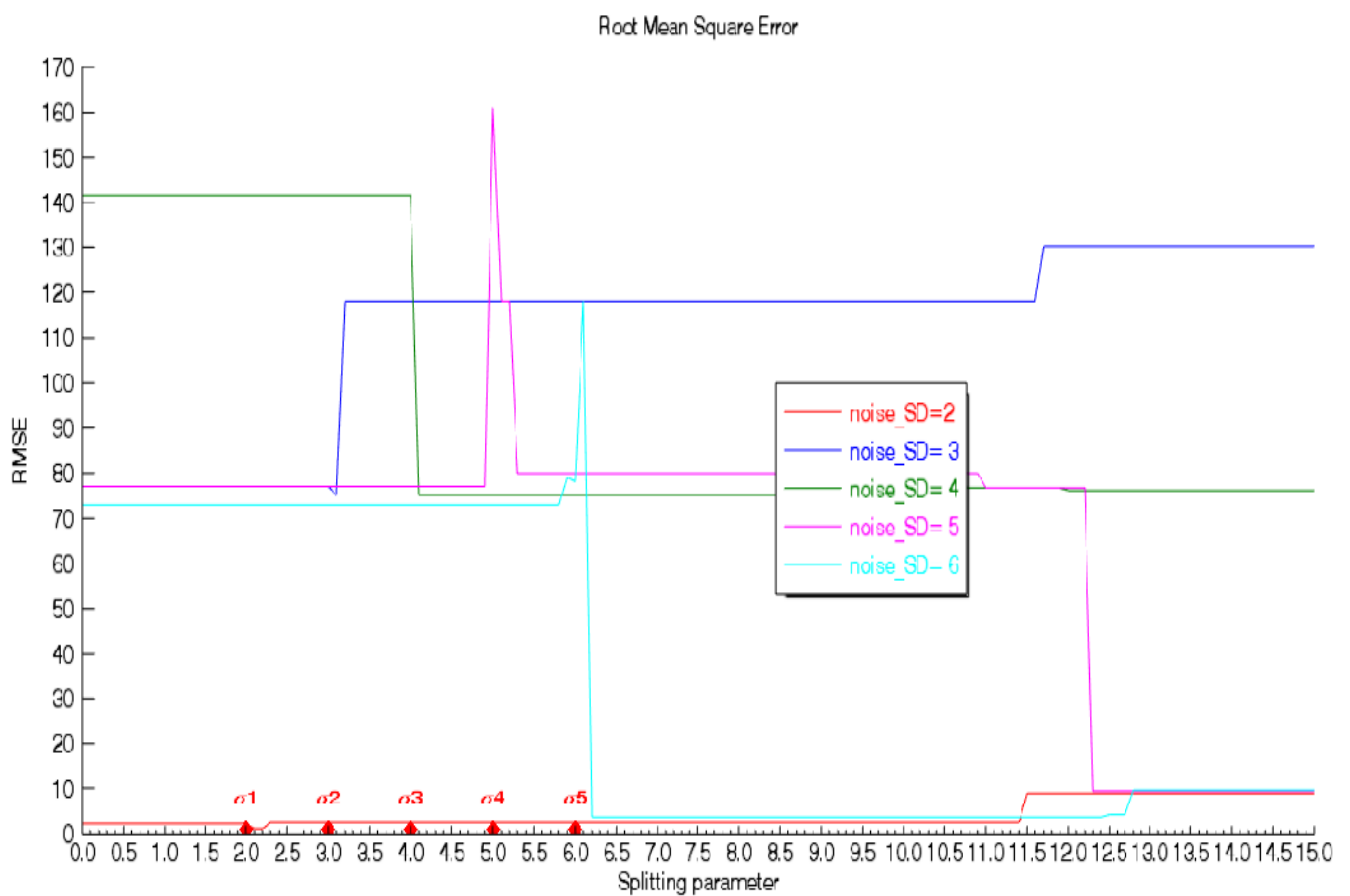


Fig 5.59 Andamento dell' RMSE al variare di θ_s per i valori di SD del rumore impostati

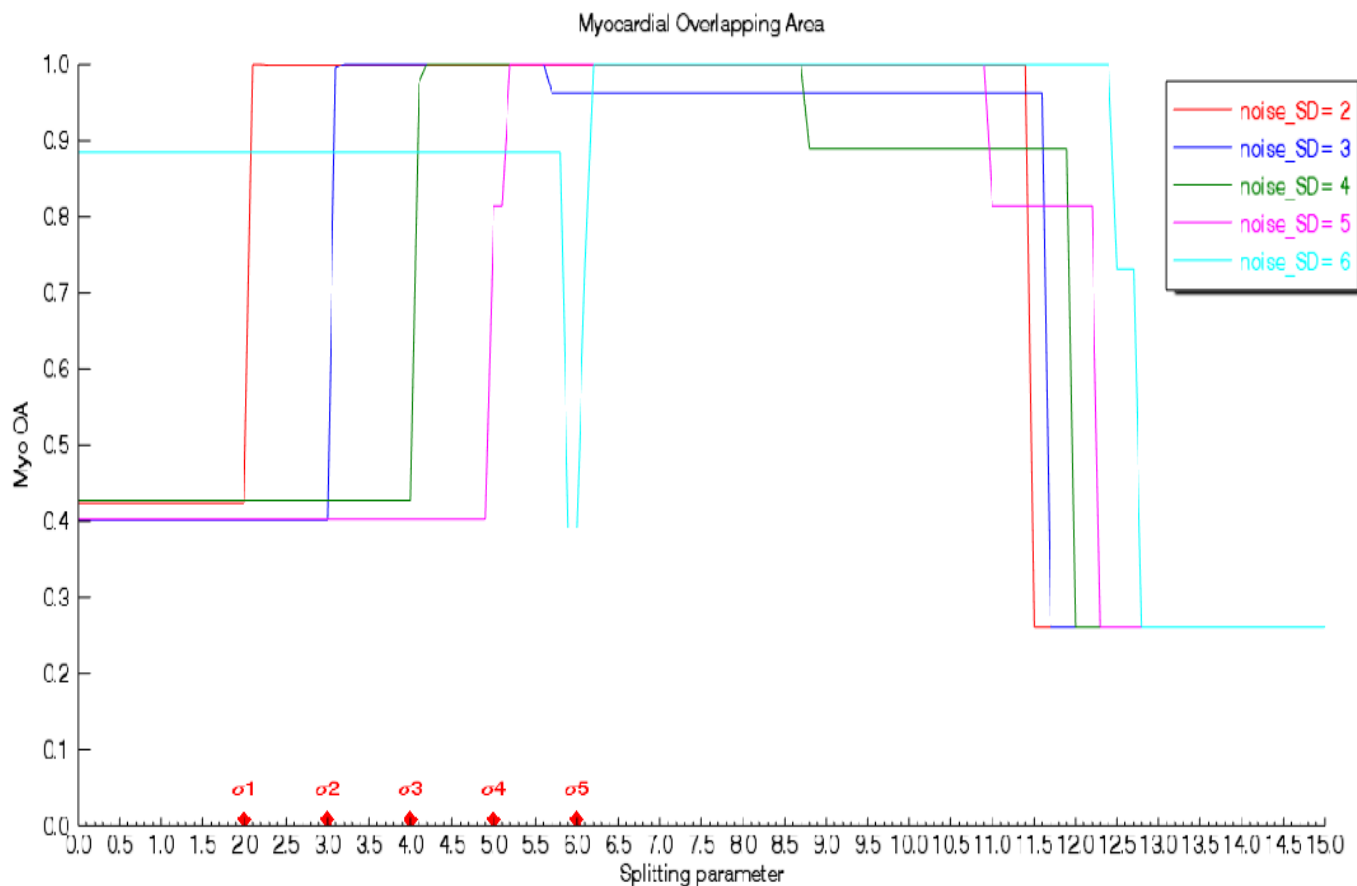


Fig 5.60 Andamento dell' OA del miocardio al variare di θ_s per i valori di SD del rumore impostati

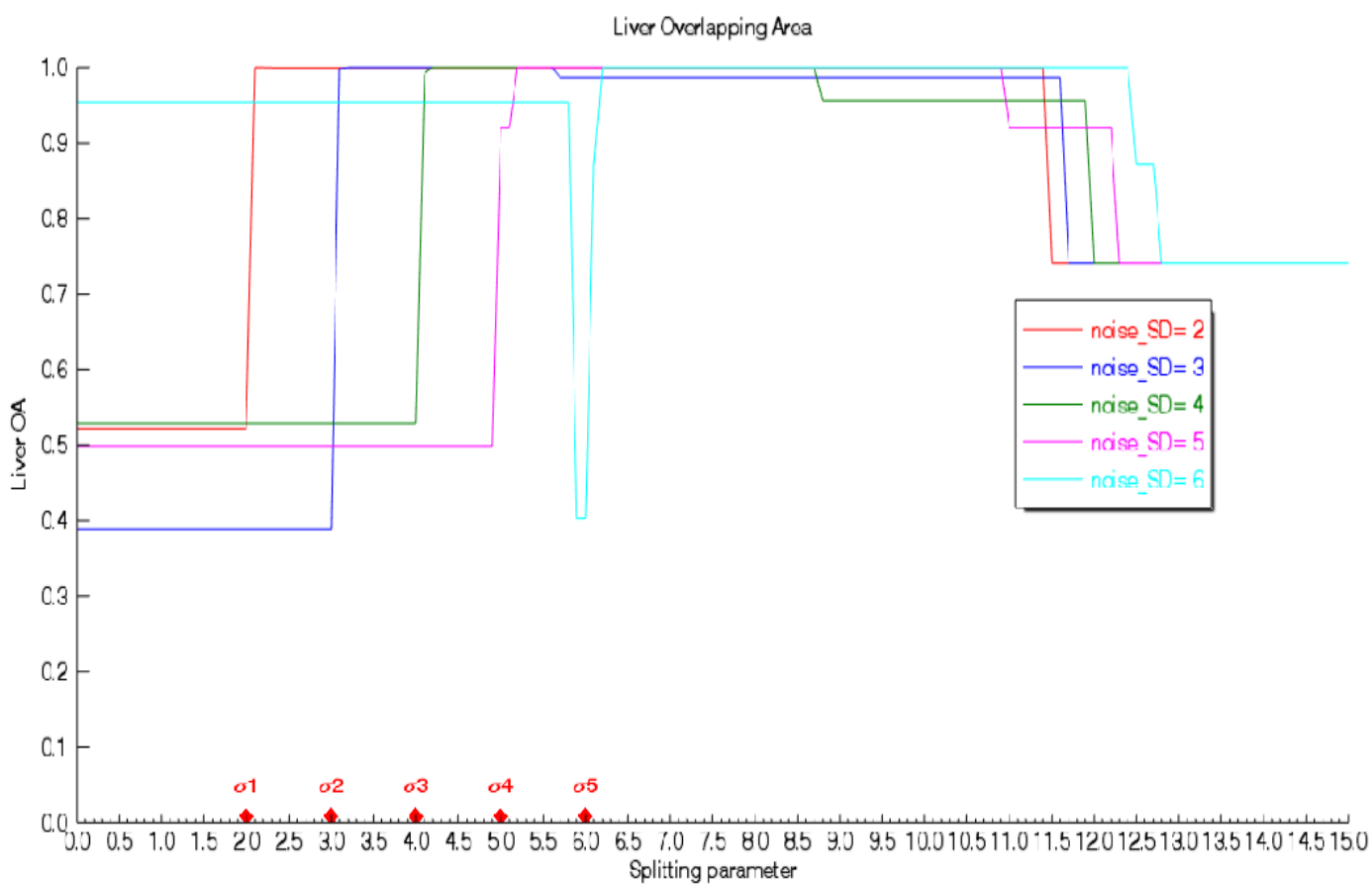


Fig 5.61 Andamento dell' OA del fegato al variare di θ_s per i valori di SD del rumore impostati

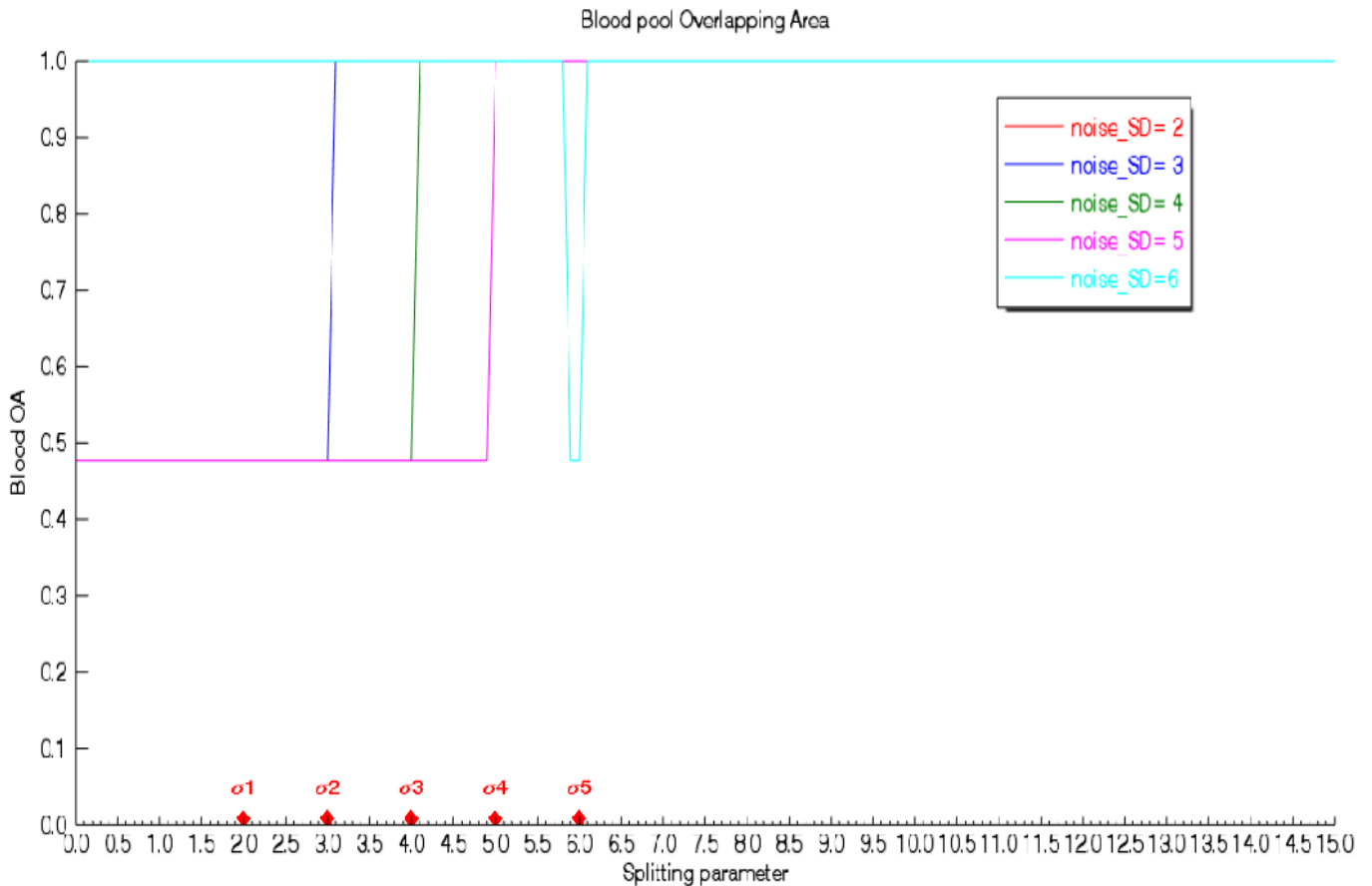


Fig 5.62 Andamento dell' OA del 'blood pool' al variare di θ_s per i valori di SD del rumore impostati

I valori delle varie SD usate sono stati riportati sull'asse x di tutti i grafici, denotandoli rispettivamente con σ_1 , σ_2 , σ_3 , σ_4 e σ_5 . In figura 5.58 si nota come per SD= 2 il numero di cluster individuati è pari sempre a 6 e decresce a 5 solo per valori elevati di θ_s (> 11.4), mentre per SD=3 e SD=4 il numero di cluster passa da 5 a 6 solo al superamento da parte di θ_s dei rispettivi valori di deviazione standard. Per le SD maggiori (5 e 6) si nota invece come per valori di θ_s inferiori a tali valori di SD l'algoritmo effettui uno splitting eccessivo, portando alla formazione di un numero di cluster maggiore di quello atteso (rispettivamente 8 e 9); al crescere del parametro oltre il valore di SD impostato il n° di cluster individuati si assesta sul valore atteso. Per tutti i valori di SD si nota infine che, aumentando troppo θ_s , il numero di cluster si riduce a 5, a testimonianza del fatto che valori di θ_s troppo grandi inibiscono la corretta capacità di splitting dell'algoritmo.

Il comportamento dell'indice RMSE risulta più complesso (fig. 5.59); per SD = 2 tale valore è molto basso e costante, ed aumenta leggermente solo per $\theta_s > 11.4$. Per SD=3 invece il valore di RMSE cresce per $\theta_s > SD$, mentre per SD=4 decresce significativamente al superamento di tale valore deviazione standard.

Per SD= 5 il valore di RMSE è circa costante, fatta eccezione per un overshoot centrato su $\theta_s=5$; per SD=6 infine l'errore si riduce quasi a zero dopo un overshoot centrato stavolta su $\theta_s=6$.

L'andamento variabile dell'errore per le varie SD impostate (ed in particolare la sua

crescita come per $SD=3$) è da ricercarsi nel fatto che la differenza quadratica tra i valori di segnale dei pixels appartenenti ai tessuti a basso segnale, come quelli del background, aumenta al crescere del rumore. Nelle immagini fantoccio infatti lo sfondo ha segnale nullo, mentre sulle immagini ottenute in seguito alla segmentazione ha un valore diverso da zero, tanto più grande quanto più grande è il rumore applicato. Tutto ciò conduce a valori di RMSE più elevati ma che non corrispondono a perdite di qualità nel processo di segmentazione, come si può ben vedere nelle figure seguenti. Nelle figure 5.60 e 5.61 si può infatti notare come le OA di miocardio e fegato raggiungano il valore 1 quando θ_s supera il valore corrispondente alla SD in esame, per poi decrescere se si aumenta troppo questo parametro. Per quanto riguarda il 'blood pool' (fig. 5.62), per il valore inferiore di SD ($=2$) il valore di OA è sempre pari ad 1 ed indipendente da θ_s , mentre per SD superiori presenta un andamento del tutto analogo alle overlapping area di miocardio e fegato, con l'eccezione data dal fatto che stavolta il valore di OA non decresce aumentando troppo θ_s .

Variando la SD del rumore applicato si è potuto ulteriormente constatare la presenza di un legame stretto tra il valore di θ_s e quello della SD del rumore presente sulle immagini; in particolare quest'ultima analisi ha messo in evidenza come per ottenere una segmentazione corretta ed accurata occorranò valori di θ_s superiori al valore di SD misurato sui tessuti basso SNR (background), ma che allo stesso tempo valori troppo grandi compromettano la normale capacità dell'algoritmo di suddividere i cluster. Integrando queste informazioni con quelle ottenute in precedenza si può rafforzare la tesi di partenza, ovvero che il valore ottimale di θ_s vada impostato all'interno del range compreso tra σ_N e $\sigma_B = 1.526 \cdot \sigma_N$.

5.6 Impostazione ottimale dei parametri ed analisi dei casi critici

Una volta completata l'analisi di tutti i parametri è stato possibile ultimare la caratterizzazione del funzionamento dell'algoritmo ISODATA per quanto riguarda la sua applicazione ad un modello di immagini reali, ovvero al dataset multiecho di immagini fantoccio. E' infatti possibile trarre delle conclusioni sull'influenza dei parametri considerati critici sull'efficacia dell'algoritmo e sul loro legame con le caratteristiche delle immagini RM oggetto della segmentazione.

Il parametro θ_N (minima dimensione dei cluster) risulta infatti legato con le dimensioni delle immagini usate, ed in particolare con le dimensioni (n° di pixels) delle varie strutture/tessuti presenti nelle immagini in esame. Conoscendo il segnale esibito da ciascun tessuto nelle immagini fantoccio il valore di tale dimensioni è stato facilmente calcolato, mentre tale calcolo risulta molto meno fattibile nel caso di immagini RM reali. Come si è visto, la struttura con n° minore di pixels è il miocardio con 1083 pixels. Superando tale soglia di dimensione il numero di cluster correttamente individuati scende, ed il miocardio viene inglobato insieme ad un altro cluster; questo comportamento si ripete ogni volta che la dimensione di un dato tessuto viene superata. Allo stesso tempo il parametro θ_N deve essere sufficientemente grande da impedire la formazione di micro-cluster senza alcuna corrispondenza con la realtà, come verificatosi in alcuni casi.

Tenendo conto di tutti queste esigenze il valore $\theta_N=800$ è stato selezionato come valore ottimale per questo parametro.

Il parametro di splitting (θ_s) è invece strettamente legato con la deviazione standard del rumore presente sulle immagini; in particolare si nota che l'algoritmo segmenta in maniera accurata i vari tessuti per $\theta_s > \sigma_N$, deviazione standard del rumore nelle regioni dell'immagine ad alto SNR. Tale valore non è altro che la SD del rumore gaussiano presente in aggiunta ai segnali di fase e quadratura, a partire dai quali si ottiene l'immagine RM; per come è stato modellato il rumore sulle immagini fantoccio esso vale 1.5. In alcuni casi inoltre si nota che l'accuratezza della segmentazione si riduce per $\theta_s > \sigma_B$, con $\sigma_B = 1.526 \cdot \sigma_N$, valore di SD del rumore nelle regioni dell'immagine a basso SNR, come lo sfondo. In tutti i casi si nota infine che aumentando troppo il parametro θ_s si riduce la normale capacità di splitting dell'algoritmo. Di conseguenza, un valore corretto per θ_s è da ricercarsi nel range compreso fra σ_N e $\sigma_B = 1.526 \cdot 1.5 = 2.2890$, con tendenza a spostarsi verso il limite superiore di tale range. Considerato il valore assunto da σ_B nelle immagini fantoccio il valore ottimale impostato per θ_s è stato pari a 2.2.

Analizzando il comportamento del parametro dim (n° di immagini/ TE da fornire in input all'algoritmo) si nota che per ogni valore di $T2^*$ esaminato esiste una dimensione minima del dataset oltre la quale l'algoritmo funziona in maniera corretta e precisa. Solo in alcuni casi si nota invece come l'uso di un dataset troppo

grosso possa risultare inutile o addirittura controproducente ai fini della segmentazione, in quanto può accadere che nelle immagini relative agli ultimi TE molti tessuti possiedano un segnale basso e quindi l'influenza del rumore a tali echi sia rilevante; tale effetto è tanto più marcato quanto maggiore è la velocità di rilassamento dei tessuti (bassi valori di $T2^*$). Tenendo conto di tutto ciò, dai risultati ottenuti si nota come una dimensione pari a 6 rappresenti il valore ottimo per poter mantenere un'elevata qualità ed accuratezza della segmentazione in tutti i casi. Analizzando infine il parametro di lumping (θ_L) si nota come risulti più difficile trovare un legame tra questo parametro ed una o più caratteristiche delle immagini; essendo una soglia minima di distanza euclidea inter-cluster, esso sarà di sicuro legato alle differenze di segnale tipiche per i vari tessuti in esame, in particolare ai valori minimi di tali differenze. Tali differenze vanno però considerate non su una singola immagine, ma attraverso i vari TE, e sono dunque dipendenti dai diversi valori $T2^*$ tipici dei vari tessuti e dai diversi valori di $T2^*$ che uno stesso tessuto può assumere in caso fisiologico o patologico; in quest'ultimo caso si fa ovvio riferimento a miocardio e fegato. E' quindi chiaro come risulti complicato trovare un legame tra θ_L e le caratteristiche intrinseche delle immagini fantoccio; tale ricerca si complica ulteriormente quando applicata ad immagini reali. In questo caso l'analisi di tutti i dati ottenuti risulta un aiuto fondamentale, dimostrando come un valore di θ_L compreso fra 3 e 4 risulti un valore adatto per mantenere un'alta accuratezza nella segmentazione in tutti i casi, anche in quelli più critici (per questo parametro i casi $T2^*=4\text{ms}$ e soprattutto $T2^*=7\text{ms}$). Il valore ottimale di θ_L è stato quindi fissato a 3.5.

Si potrebbe pensare di caratterizzare i parametri θ_N e θ_L sulla base dell'istogramma dell'immagine, impostando θ_N sulla base dell'altezza minima dei picchi (frequenze d'occorrenza) e θ_L sulla base della distanza fra picchi. Si deve tuttavia considerare che le fonti di disturbo presenti nelle immagini reali discostano molto l'aspetto dell'istogramma rispetto al caso ideale. Il rumore, ad esempio, allarga ed abbassa la distribuzione dei picchi relativi al segnale esibito da tessuti distinti, fino a confondere tra loro pixel appartenenti a tessuti diversi quanto più basso è il valore di SNR; l'effetto volume parziale introduce invece nuovi livelli di grigio tra i picchi e riduce l'altezza dei picchi stessi. Inoltre la variabilità dei valori di $T2^*$ tipici dei vari tessuti (e di uno stesso tessuto in condizioni diverse) sposta in maniera più o meno significativa la distribuzione dei picchi corrispondenti lungo i vari TE; tessuti con rilassamento lento manterranno un valore pressochè costante al crescere del TE, mentre tessuti con basso $T2^*$ esibiranno un segnale che decadrà rapidamente al crescere di TE. Tutti questi fattori rendono l'analisi dell'istogramma un mezzo molto difficile e poco rigoroso ai fini della caratterizzazione di questi 2 parametri. Utilizzando come input il set ottimo di parametri impostato, si è deciso di procedere ad una nuova nuova analisi per tutti i valori $T2^*$ già esaminati, andando

nuovamente a tabulare i risultati ottenuti per i vari indici di performance. Anche in questo caso tutti i dati sono stati mediati su 10 prove, fornendo come al solito una variabilità nulla. I risultati ottenuti sono riportati nella tabella seguente.

Heart T2*	Min cluster size	Splitting parameter	Lumping parameter	n° TE	A	RMSE	Myocardial OA	Liver OA	Blood OA
4.00000	800.00000	2.20000	3.50000	6.00000	6.00000	2.43612	1.00000	1.00000	1.00000
7.00000	800.00000	2.20000	3.50000	6.00000	6.00000	1.10271	1.00000	1.00000	1.00000
13.00000	800.00000	2.20000	3.50000	6.00000	6.00000	2.43798	0.99723	1.00000	1.00000
20.00000	800.00000	2.20000	3.50000	6.00000	6.00000	8.88145	1.00000	1.00000	1.00000
35.00000	800.00000	2.20000	3.50000	6.00000	6.00000	8.79792	0.47148	1.00000	1.00000
50.00000	800.00000	2.20000	3.50000	6.00000	6.00000	2.52933	0.98365	1.00000	1.00000
60.00000	800.00000	2.20000	3.50000	6.00000	6.00000	2.52933	0.97656	1.00000	1.00000

Fig 5.63 Tabella degli indici di performance calcolati usando il set ottimo di parametri critici per tutti i valori di T2* analizzati.

Utilizzando il set ottimo di parametri si può notare dalla fig. 5.63 come, per tutti i valori di T2*, il numero di cluster individuati sia sempre pari a quello atteso e i valori di RMSE siano molto bassi, con punte massime di poco superiori a 8 nei casi di T2*=20ms e T2*=35ms. I valori delle overlapping area di fegato e sangue sono sempre pari a 1; per quanto riguarda il miocardio invece tali valori di OA sono pari ad 1 o vicinissimi a tale valore massimo, tranne per il caso di T2*=35ms, evidenziato in rosso in fig.5.63. In questo caso il valore di OA del miocardio è considerevolmente più basso, pari a 0.47148. Come già ripetuto più volte in precedenza, questo valore di molto inferiore a 1 è dato dal fatto che, per T2*=35ms, vi è una quota di pixels spuri appartenenti al tessuto muscolare che viene invece assegnata erroneamente al miocardio; tale errore è dovuto al fatto che per tale valore di T2* miocardio e muscolo possiedono eguale rilassamento, cioè il miocardio viene considerato un muscolo a tutti gli effetti. Tale situazione è da considerarsi rappresentativa di tutti quei casi in cui il miocardio si trova in condizioni fisiologiche di non accumulo di ferro, con valori di T2* inclusi nel limite inferiore di normalità secondo [55]) e molto vicini al valore di T2* tipico del tessuto muscolare.

Si può tuttavia notare che l'algoritmo ISODATA è comunque in grado in tutti i casi di segmentare correttamente il tessuto miocardico riconoscendo la parete cardiaca, che nelle immagini RM ha la tipica forma ad anello ed è posta al centro dell'immagine, a prescindere dalla presenza o meno di una quota di pixel spuri. Per formalizzare questa capacità è necessario modificare in parte il calcolo della overlapping area del miocardio, modificando la procedura per il calcolo della maschera del miocardio sulla theme map, da confrontare poi con la corrispondente maschera ideale ottenuta sul fantoccio.

Nel calcolo fino ad ora implementato la maschera del miocardio post-segmentazione veniva ottenuta selezionando il cluster sulla theme map che presentava il maggiore grado di 'overlap' con la maschera ideale del miocardio; la modifica introdotta in tale procedura è stata quella di sottoporre tale maschera ad un algoritmo di labeling. Poichè, in ultima analisi, l'algoritmo ISODATA è un algoritmo di segmentazione a soglia, esso non è in grado di distinguere oggetti topologicamente diversi ma ai quali è associato lo stesso livello di segnale. Questo è un limite intrinseco della segmentazione a soglia, che può essere superato elaborando i dati della segmentazione stessa.

Il metodo più diretto è scomporre la segmentazione usando un algoritmo detto 'label region' ; l'algoritmo lavora su una immagine binaria (quindi una maschera) e funziona nel modo di seguito descritto. Per ogni pixel dell'immagine:

1) se è il primo pixel, crea un gruppo (blob) e aggiunge il pixel al blob;

2) per tutti i pixel dell'intorno:

- a) controlla se sono già stati assegnati a un blob. Se si, va a 2;
- b)controlla se appartengono allo stesso blob del pixel di partenza. Se si, li aggiunge al blob e va a 2.

Completato il primo blob, si prende un pixel non appartenente al blob e si ritorna al punto 1, creando un nuovo blob. Il procedimento viene iterato fino a quando tutti i pixels sono stati assegnati. Il risultato di tale algoritmo di labeling è un immagine delle stesse dimensioni della maschera di partenza, in cui ogni pixel possiederà un valore pari all'indice attribuito alla regione. Un indice pari a 0 indica i pixels con valore nullo nella maschera, mentre valori non nulli indicheranno gli indici attribuiti ai vari blob individuati. Tali indici sono valori interi, il cui numero è pari al numero di regioni individuate sulla maschera di input. Calcolando l'istogramma dell'immagine ottenuta in uscita dall'algoritmo di labeling si può quindi identificare la regione con il maggior numero di pixels, che rappresenterà il miocardio, eliminando i blob rimanenti di dimensioni inferiori, se presenti. Nel fare ciò bisogna avere cura non conteggiare i pixel con 'region index' pari a 0, i quali rappresenteranno i pixels non appartenenti al miocardio.

Le figure seguenti mostrano l'effetto dell'algoritmo di labeling per vari i casi, dall'assenza di pixels spuri fino alla presenza di una quota significativa degli stessi.

maschera miocardio su theme map

maschera miocardio post-labeling



Fig 5.64 Effetto dell' algoritmo di labeling nel caso di assenza di pixels spuri attributi al miocardio



Fig 5.65 Effetto dell' algoritmo di labeling nel caso di moderata presenza di pixels spuri attributi al miocardio

maschera miocardio su theme map

maschera miocardio post-labeling



Fig 5.66 Effetto dell' algoritmo di labeling nel caso di significativa presenza di pixels spuri attributi al miocardio.

L'applicazione dell'algoritmo di labeling fa dunque sparire la quota di pixels spuri attribuiti per errore al miocardio, se presenti. Calcolando ora la overlapping area del miocardio per tutti i valori di T2* si ottengono i seguenti valori (sempre mediati su 10 prove per ogni caso):

Heart T2*	Myocardial OA
4.00000	1.00000
7.00000	1.00000
13.00000	0.99723
20.00000	1.00000
35.00000	0.98009
50.00000	0.99908
60.00000	0.99908

Fig 5.67 Valori di OA del miocardio ottenuti in seguito all'applicazione dell'algoritmo di labeling

Si nota come tale valore risulti molto maggiore per $T_2=35\text{ms}$ (ed anche leggermente maggiore per $T_2^*=50\text{ms}$ e $T_2^*=60\text{ms}$, si confronti con fig 5.63); il valore raggiunto per $T_2^*=35\text{ms}$ si discosta leggermente da 1 per la presenza di alcuni pixels spuri molto vicini al miocardio che vengono attribuiti al blob maggiore dall' algoritmo di labeling. Quest'ultima analisi è quindi volta a dimostrare che, anche nel caso critico di T_2^* cardiaco pari a 35ms , l'algoritmo è in grado di riconoscere correttamente la parete cardiaca nonostante la presenza di pixels spuri in altre regioni dell'immagine, con valori di OA pari ad 1 o molto vicini ad esso. L'uso del set ottimo di parametri sarà utilizzato come punto di partenza per valutare il funzionamento dell'algoritmo su un set preliminare di immagini reali RM- T_2^* multiecho di pazienti che si sono sottoposti in passato al protocollo di ricerca MIOT.

CAPITOLO 6

Risultati ottenuti su immagini reali

6.1 Prove preliminari su immagini reali

Per le prove preliminari sulle immagini reali è stato utilizzato un set costituito da 6 immagini 'demo' relative ad altrettanti pazienti che si sono sottoposti in passato ad imaging RM all'interno del protocollo di ricerca MIOT. I dati dei pazienti e i risultati ottenuti in seguito all'indagine RM non sono ovviamente disponibili per motivi di privacy; questo ha reso impossibile conoscere a priori la condizione clinica dei pazienti, e di conseguenza i valori di $T2^*$ di miocardio e fegato. Ciò ha permesso di valutare preliminarmente la capacità di funzionamento dell'algorithmo in funzione della variabilità clinica sulle immagini reali, nello stesso modo fatto in precedenza per il modello costituito dal dataset di immagini fantoccio. Per ogni paziente è stata scelta la slices media sulle 3 slices in asse corto cardiaco disponibili (basale, media, apicale). Le immagini reali, di dimensione originale 256×256 , sono state ridotte a 128×128 , prendendo la porzione centrale contenente il cuore; ciò ha permesso di ridurre la complessità delle immagini reali e di renderle di dimensioni simili alle immagini fantoccio finora utilizzate (127×133). Ciò ha permesso inoltre di mantenere il parametro θ_N vicino al valore ottimale (800) usato nelle prove precedenti, nonostante le prove effettuate abbiano mostrato l'esigenza di innalzare il valore di questo parametro al di sopra del range ottimale individuato sul modello.

Il parametro di splitting θ_S è stato impostato andando a misurare, per ogni paziente, la SD del rumore sullo sfondo dell'immagine relativa al primo TE; è stata quindi tracciata una ROI sufficientemente grande sul background dell'immagine ed è stata calcolata la SD dei pixel appartenenti a tale ROI, ottenendo quindi il valore σ_N . Tale valore è stato poi moltiplicato per il fattore correttivo 1.526, ottenendo il valore σ_B , andando infine a settare il parametro di splitting ad un valore leggermente inferiore ad esso (ad esempio all'arrotondamento per difetto del valore di σ_B ottenuto, o anche a valori inferiori). Il numero di immagini/TE usati è stato posto uguale al valore ottimale scelto per le immagini fantoccio, cioè 6. Per quanto riguarda infine il valore del parametro di lumping, si è usato come punto di partenza il valore ottimo selezionato dopo le prove sul modello; tale valore è stato tuttavia variato sperimentalmente, tenendo conto della maggiore complessità delle immagini reali, e dunque delle maggiore variabilità nei valori di segnale assunti dai singoli tessuti. Le immagini seguenti mostrano i risultati ottenuti su tutti e 6 i pazienti 'demo', riportando le 'theme map' ottenute in seguito alla segmentazione ISODATA.

I risultati ottenuti evidenziano il buon funzionamento dell'algoritmo in queste prove preliminari, con una eccezione data dall'immagine in figura 6.4, in cui si nota una porzione di miocardio che viene erroneamente assegnata invece ad un altro cluster; è plausibile ipotizzare in questo caso un'assenza di accumulo di ferro cardiaco, con valori di $T2^*$ cardiaco molto vicini a quelli del normale tessuto muscolare. I risultati raggiunti confermano il legame tra parametro di splitting e rumore; ciò rappresenta un vantaggio poichè rende semplice l'impostazione di tale parametro, dal momento che il rumore su un'immagine RM può essere facilmente misurato sul background dell'immagine stessa. Le deviazioni standard misurate sullo sfondo delle immagini (σ_N) hanno assunto valori compresi fra 3 e ≈ 4.5 , portando a valori di σ_B compresi fra 5 e 7, tipici della SD del rumore in acquisizioni MRI; ciò ha portato all'impostazione del parametro θ_S a valori molto simili a σ_B . Il valore del parametro θ_N è stato invece innalzato rispetto al valore ottimo usato sulle immagini fantoccio, assumendo valori compresi fra 1000 e 1200 pixels. L'impostazione del parametro di lumping rappresenta senza dubbio la situazione più complicata e distante dal range ottimale trovato in precedenza sul modello, con valori impostati di θ_L variabili da 30 a 40.

Tutti questi risultati lasciano ben sperare per quanto riguarda l'applicazione dell'algoritmo ISODATA alla segmentazione delle immagini reali, considerando le numerosi fonti di variabilità e di disturbo in esse contenute e lo scarso contrasto intrinseco di tale metodica di imaging RM.

Dai risultati ottenuti è evidente la capacità dell'algoritmo di distinguere il sangue ('blood pool') dal miocardio in tutti i casi analizzati, nonostante nelle immagini reali il sangue sia in movimento all'interno delle camere cardiache; ciò rende molto semplice ottenere i contorni dell'endocardio. Per quanto riguarda l'epicardio risulta invece evidente come possano essere necessarie ulteriori procedure che agiscano come supporto alla segmentazione ISODATA per riconoscere correttamente tali contorni, separando il miocardio dai tessuti circostanti. Da una prima analisi si può ipotizzare che tali procedure possano essere costituite ad esempio da algoritmi di segmentazione a contorni che utilizzano gli 'snakes', oppure da algoritmi di tipo 'region growing'. Nel primo caso si potrebbe pensare di utilizzare una curva ('snake') di forma circolare opportunamente definita che, evolvendosi, delimiti il miocardio dalle zone adiacenti. Nel secondo caso si dovrebbe invece utilizzare un pixel 'seed', scelto all'interno del miocardio, da utilizzare come punto di partenza per una segmentazione di quel tipo, che attribuisca al pattern relativo al miocardio tutti i pixels aventi una differenza di livello di grigio rispetto al 'seed' inferiore ad una soglia prefissata.

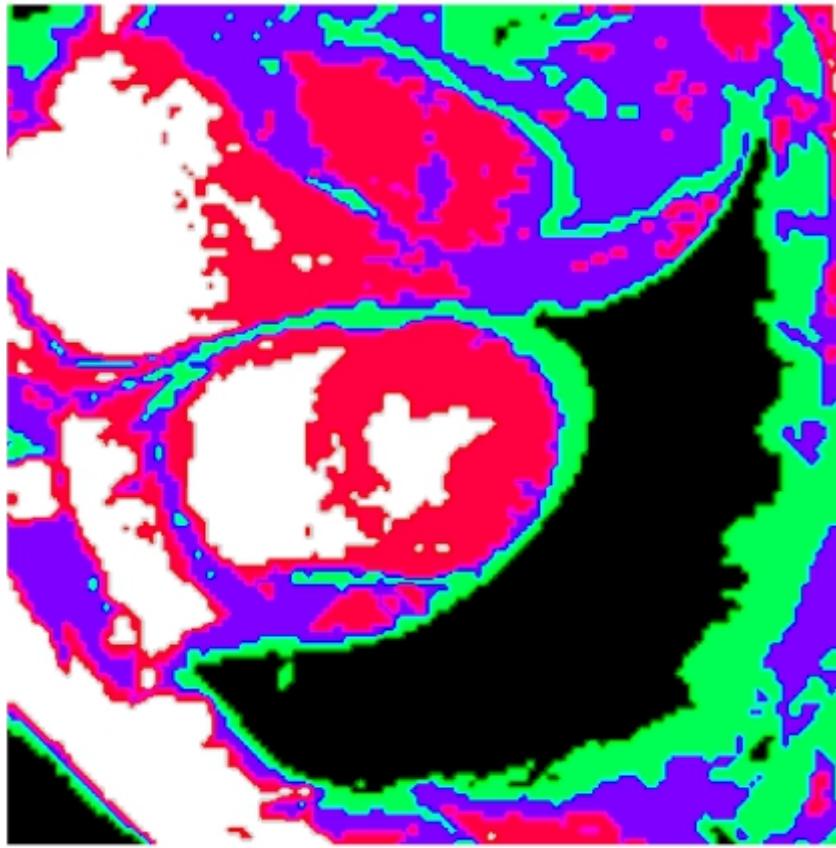


Fig 6.1 Theme map paziente 'demo' 1

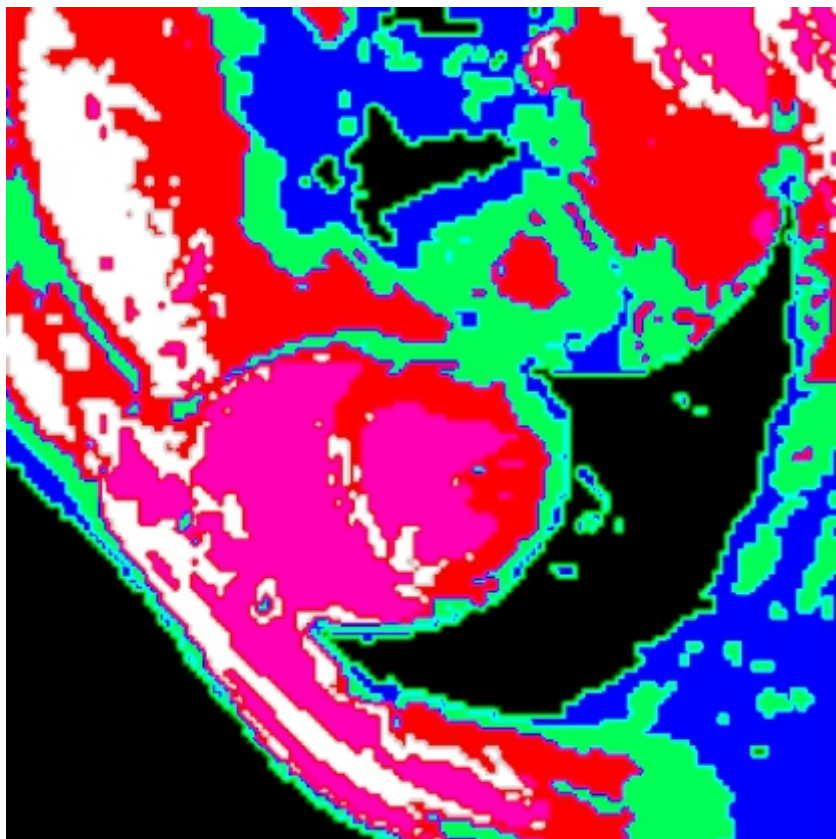


Fig 6.2 Theme map paziente 'demo' 2

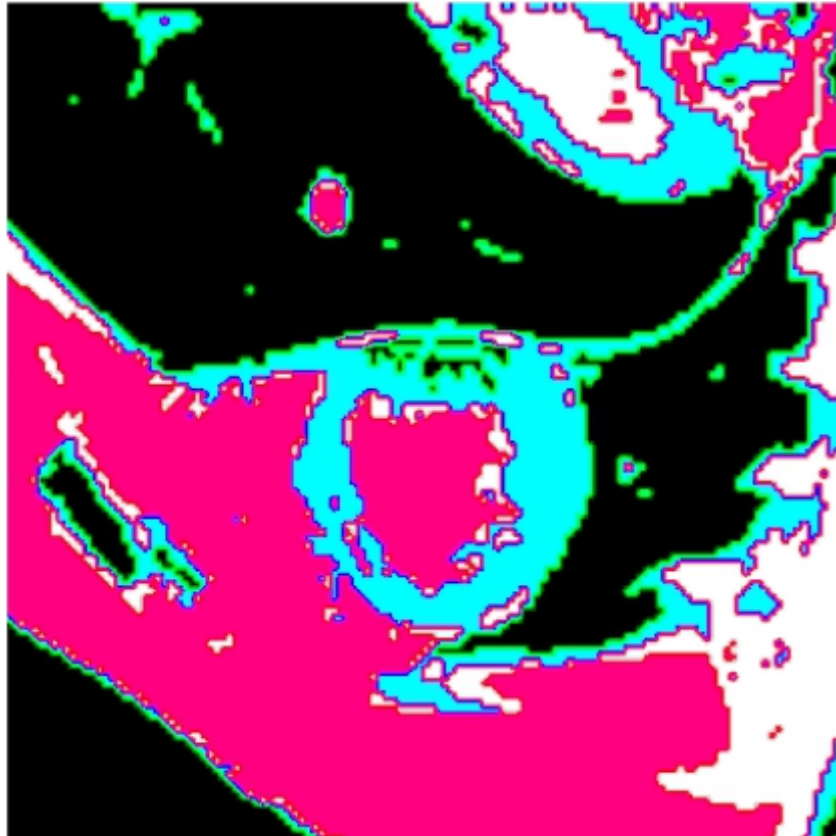


Fig 6.3 Theme map paziente 'demo' 3

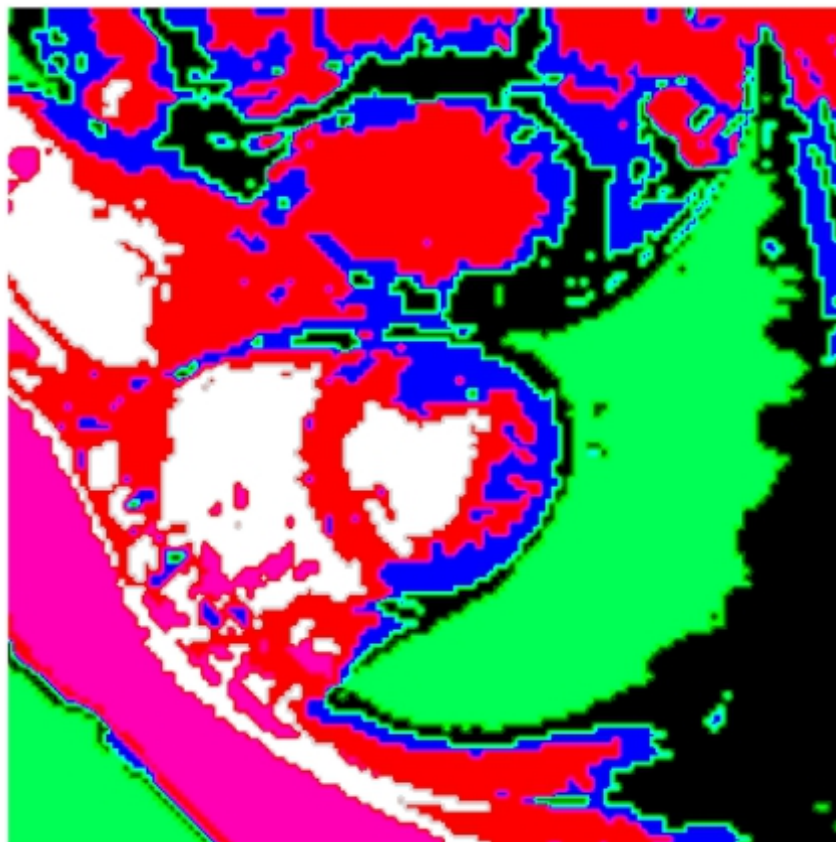


Fig 6.4 Theme map paziente 'demo' 4



Fig 6.5 Theme map paziente 'demo' 5

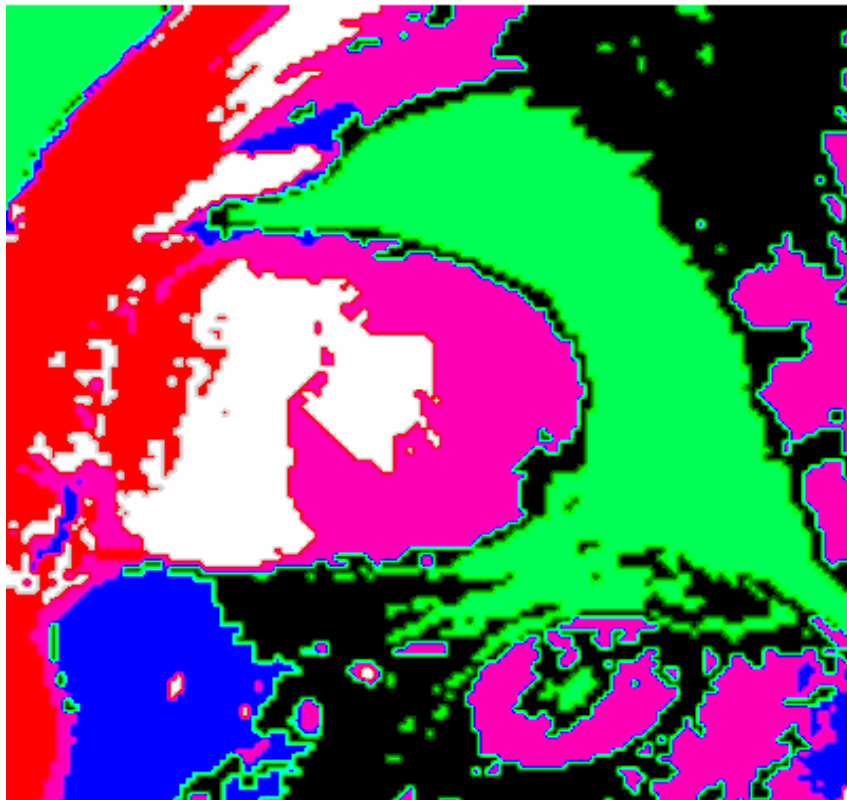


Fig 6.6 Theme map paziente 'demo' 6

Per una corretta localizzazione anatomica le immagini andrebbero ribaltate lungo l'asse y, cioè lungo le righe (nelle immagini infatti si nota come il fegato si trovi al di sopra del miocardio); le immagini riportate hanno infatti il solo scopo di valutare preliminarmente l'efficacia della segmentazione ISODATA applicata ad immagini reali.

Osservando tali immagini si nota come la qualità globale della segmentazione sia inferiore rispetto alle prove precedenti sulle immagini fantoccio, ma data la complessità e variabilità delle immagini reali, le numerosi fonti di disturbo che corrompono l'immagine e lo scarso contrasto della metodica di imaging RM in esame tale risultato risulta ampiamente attendibile. Con particolare riguardo alla segmentazione del miocardio, questa perdita di qualità si traduce in una maggiore quota di pixels spuri appartenenti ad altri tessuti (in particolare muscolo e fegato) che vengono invece attribuiti al miocardio. Nonostante ciò, e nonostante il movimento del sangue all'interno del ventricolo sinistro, risulta possibile in tutte le immagini esaminate riconoscere il miocardio, in particolar modo i contorni endocardici.

Come affermato in precedenza, l'impostazione dei parametri θ_L e θ_N si discosta in alcuni casi in maniera più o meno evidente dall'impostazione ottimale ottenuta in seguito alle prove eseguite sulle immagini fantoccio.

Cercando un legame tra questi parametri e le caratteristiche delle immagini esaminate, per tutte le immagini sono stati analizzati gli istogrammi relativi al primo TE, dove è lecito supporre che il decadimento del segnale assunto dai vari tessuti sia molto basso e di conseguenza l'influenza del rumore sia minore.

Gli istogrammi analizzati hanno tutti un andamento molto simile a quello riportato in figura 6.7.

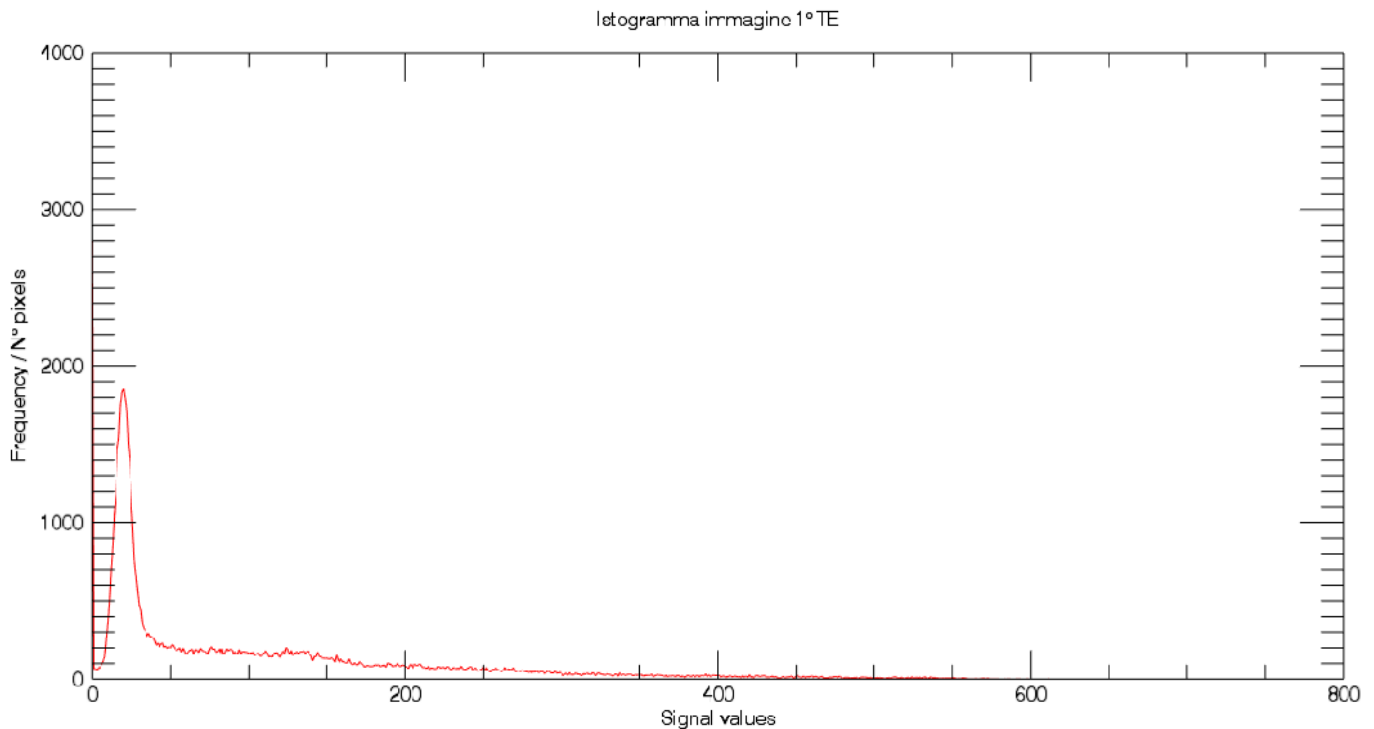


Fig 6.7 Esempio di istogramma di un immagine RM cardiaca, relativa al 1° TE (paziente 'demo' 6)

Il valore minimo sulle immagini è sempre 0 a causa dei pixels dati dallo zero padding, mentre quello massimo varia da immagine ad immagine; nel caso visualizzato in fig 6.7 il valore massimo è pari a 611.

L'istogramma calcolato presenta bins unitari in numero pari alla differenza tra valore minimo e massimo calcolati, anche se per una visualizzazione più pulita viene rappresentato con bins di dimensioni maggiori (50 in figura).

Come si può notare l'istogramma presenta un primo picco per il valore 0, dovuto ai pixels dati dallo zero padding, ed un secondo picco per valori intorno a 20, dovuto al rumore sul background dell'immagine. L'istogramma poi scende in maniera abbastanza costante senza presentare picchi altrettanto evidenti e riconoscibili. Da un'andamento del genere risulta evidente come sia molto difficile e poco rigoroso riuscire a caratterizzare i parametri θ_L e θ_N , in quanto non si riesce a discriminare con certezza i picchi relativi ai valori tipici dei vari tessuti, e quindi la loro altezza e distanza.

Vale la pena notare infine che tutte le segmentazioni effettuate riconoscono un numero di cluster pari a quello atteso (6), ad eccezione della figura n° 6.3, dove i cluster individuati sono invece solo 4. Aumentando i valori dei parametri θ_L θ_N si nota una comprensibile riduzione della capacità dell'algoritmo di riconoscere tutti i tessuti; un valore elevato di θ_L comporta infatti una maggiore tendenza all'aggregazione dei cluster, mentre un valore maggiore di θ_N porta alla formazione di cluster più grossi. Questo comportamento in certi casi ha ripercussioni positive sulla capacità dell'algoritmo di identificare più facilmente il miocardio, a discapito dell'accuratezza globale della segmentazione, come è possibile evidenziare ad esempio anche per il paziente 'demo' 6 (fig 6.8).

In questo caso i parametri θ_N e θ_L sono stati impostati rispettivamente a 1300 e 40 (nella fig. 6.3 erano invece 1100 e 30), portando all'identificazione di soli 4 cluster ma ad una segmentazione visivamente migliore della parete cardiaca.

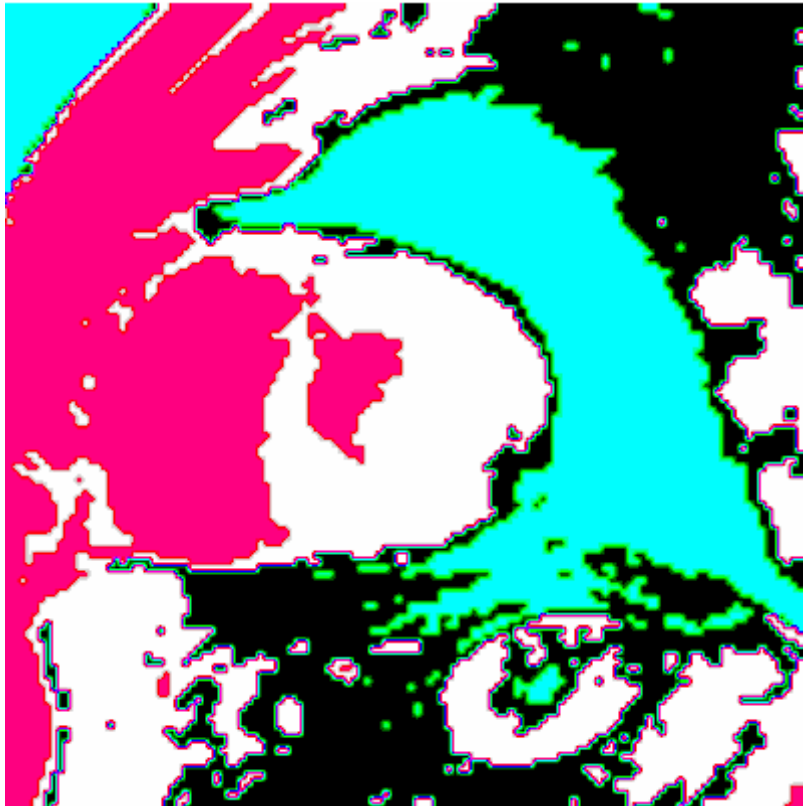


Fig 6.8 Theme map paziente 'demo' 6 utilizzando valori maggiori per i parametri θ_N e θ_L ;come si può notare vengono identificati solo 4 cluster e non 6 (4 colori diversi in figura), ma si ha un'ottima identificazione del miocardio (in bianco).

6.2 Validazione

La validazione di un metodo di analisi automatico o semi-automatico comporta il confronto delle misure ottenute con il metodo in oggetto con un 'gold standard' clinico. In questo caso come 'gold standard' è stata utilizzata la segmentazione manuale delle parete cardiaca, effettuata mediante il tracciamento manuale dei contorni dell'endocardio e dell'epicardio. Per realizzare la validazione sono state analizzate le immagini RM di un set di 30 pazienti, già suddivisi in base alla gravità dell'accumulo di ferro cardiaco (10 pazienti con accumulo severo, 10 con accumulo moderato e 10 con accumulo assente). A ciascuna classe di accumulo di ferro è associata una classe di valori di T2* cardiaco:

- accumulo severo : $T2^* < 10\text{ms}$;
- accumulo moderato : $10\text{ms} \leq T2^* < 20\text{ms}$;
- accumulo assente: $T2^* \geq 20\text{ms}$.

Ciò permette di valutare il funzionamento dell'algoritmo su immagini reali in tutto il range clinico dei valori di T2* cardiaco. Per effettuare la procedura di validazione l'algoritmo è stato integrato nel software HIPPO-MIOT, inserendo una nuova voce nel menù principale, costituita da 3 voci attraverso le quali si realizza la procedura (fig.6.9).

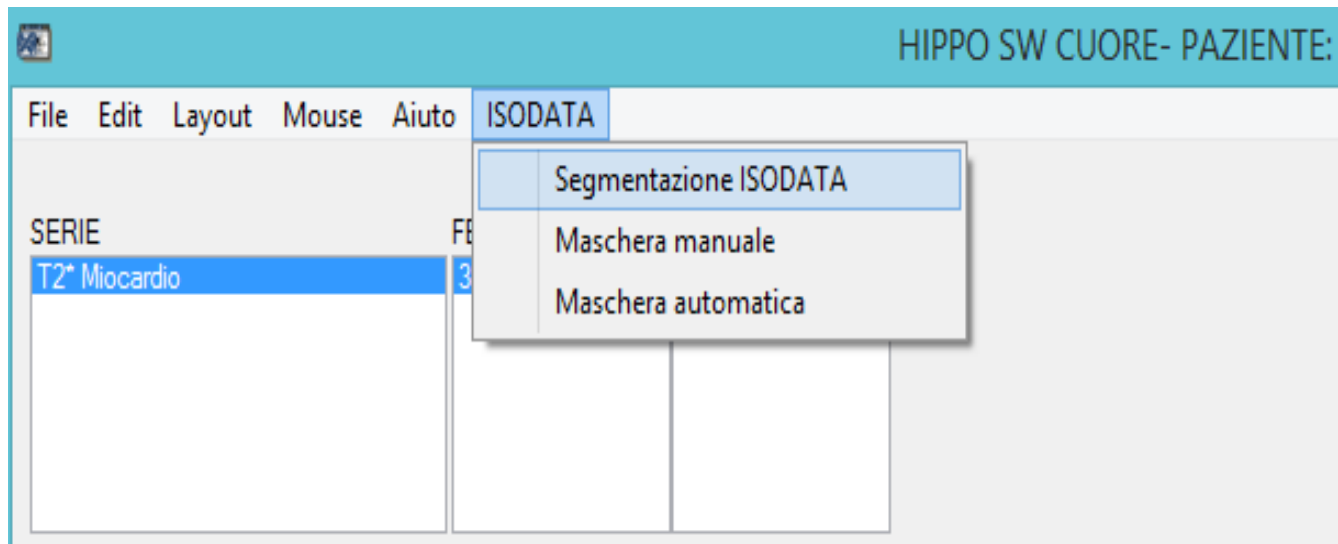


Fig 6.9 : Inserimento delle nuove funzionalità nel software HIPPO-MIOT

1) '*Segmentazione ISODATA*': esegue l'algoritmo ISODATA utilizzando come input la serie di immagini multiecho relative alla slices corrente.

L'algoritmo ISODATA viene eseguito utilizzando un set di parametri di input univoco, andando a modificare direttamente da codice l'impostazione dei parametri stessi nei casi in cui i risultati della segmentazione risultino insoddisfacenti. Non è infatti corretto, da un punto di vista clinico, chiedere ad operatore che sta usando il software di inserire dall'esterno i valori di parametri di cui non conosce bene il funzionamento e quindi anche i valori corretti da impostare. Per tale motivo è stato adottato un set univoco di parametri, la cui impostazione è stata influenzata dai risultati ottimi ottenuti sul modello e dalle modifiche/rivisitazioni di tali risultati in seguito alle analisi preliminari su immagini reali. Il set di parametri utilizzato è stato il seguente:

- $\theta_N = 1100$; valore aumentato rispetto al valore ottimale usato sul modello (800);
- $\theta_S = 7.0$; valore tipico della deviazione standard del rumore in acquisizioni MRI, ottenuto anche misurando preliminarmente la SD del rumore su alcune immagini analizzate, attraverso il tracciamento di una ROI sul background delle stesse per il calcolo della SD. Non è stata quindi calcolata la SD del rumore per ogni immagine analizzata, bensì è stato usato un valore di θ_S che possa contemplare la maggior parte delle acquisizioni MRI;
- $\theta_L = 4.0$; valore interno al range ottimo calcolato sul modello;
- Dimensione dataset (dim) =6 ; valore ottimo calcolato sul modello.

Una volta eseguito l'algoritmo viene visualizzata la 'theme map' fornita in uscita; la procedura va ripetuta per tutte le slices del paziente in esame.

2) '*Maschera manuale*': una volta tracciati manualmente i contorni di endocardio ed epicardio per la slices corrente, calcola e visualizza la maschera del miocardio. Per calcolarla è sufficiente calcolare la maschera interna all'epicardio e quella interna all'endocardio ed in seguito sottrarre la seconda alla prima, per ottenere come risultato la maschera della parete del ventricolo sinistro (LV). La procedura va ripetuta per tutte le slices del paziente in esame.

3)'*Maschera automatica*': a partire dai risultati della segmentazione ISODATA, calcola la maschera automatica del miocardio, attribuendo a tale maschera il cluster, tra quelli individuati, che presenta il massimo grado di 'overlap' con la maschera manuale del miocardio. Una volta ottenuta questa maschera intermedia, applica ad essa un algoritmo di labeling per eliminare l'eventuale quota di pixels spuri attribuiti erroneamente al miocardio presenti in altre regioni dell'immagine. Come già detto, tale eventualità è molto più frequente nelle immagini reali rispetto a quelle 'phantom', data la maggiore variabilità e complessità delle immagini reali e dato lo scarso contrasto intrinseco nella metodica di acquisizione RM impiegata. L'algoritmo di labeling ha quindi lo scopo di eliminare tali regioni spurie, che influenzerebbero negativamente il valore del grado di 'overlap' finale tra la misura manuale e quella automatica, e di mantenere solo la zona centrale dell'immagine corrispondente all' 'anello' relativo alla parete del LV. Una volta calcolata e visualizzata la maschera del miocardio post-labeling, viene calcolato il grado di 'overlap' tra quest'ultima e la maschera manuale precedentemente calcolata.

Il valore usato è ancora quello della 'Overlapping Area' (OA), calcolata con le stesse modalità descritte nel paragrafo 4.4. La procedura va ripetuta per tutte le slices del paziente in esame, ottenendo come risultato finale il valore di OA per ciascuna slice.

I risultati ottenuti sono riportati in figura 6.10; per ogni paziente è stata riportata la OA relativa a ciascuna delle 3 fette in asse corto cardiaco e quella globale, ottenuta come media delle precedenti. E' stato inoltre riportato il valore di T2* cardiaco globale ottenuto in seguito alla segmentazione manuale del ventricolo sinistro, noto a priori.

Ciascun gruppo di pazienti è evidenziato con colori diversi; in giallo sono evidenziati i pazienti del gruppo n°1 ('No IO', dove 'IO' sta per 'Iron Overload'; assenza di accumulo di ferro), in arancione quelli del gruppo n°2 ('Middle IO', accumulo di ferro moderato) e in rosso quelli del gruppo n°3 ('Severe IO', accumulo di ferro severo). Per ogni gruppo sono riportate in giallo la media e la deviazione standard dei valori di OA ottenuti per ciascuna fetta e quelli globali, mentre alla fine sono riportati (in blu) media e deviazione standard ottenuti su tutto il set di pazienti, sia per ciascuna fetta che globalmente.

Patient's n°	Basal OA	Medium OA	Apical OA	Global OA (mean)	Heart T2* (ms)
Group 1 (No IO)					
1	0,493	0,436	0,486	0,472	39,6
2	0,623	0,693	0,526	0,614	40,0
3	0,489	0,548	0,396	0,478	26,4
4	0,553	0,357	0,406	0,439	37,8
5	0,459	0,387	0,557	0,467	38,2
6	0,650	0,477	0,475	0,534	32,2
7	0,648	0,539	0,414	0,534	30,0
8	0,583	0,518	0,415	0,505	31,4
9	0,429	0,541	0,435	0,468	30,2
10	0,402	0,585	0,508	0,498	37,2
Mean(Group 1)	0,533	0,508	0,462	0,501	
Dev Std (Group 1)	0,091	0,096	0,565	0,086	
Group 2 (Middle IO)					
1	0,344	0,333	0,329	0,335	11,4
2	0,437	0,514	0,456	0,469	13,4
3	0,532	0,587	0,491	0,537	14,9
4	0,623	0,632	0,428	0,561	19,6
5	0,606	0,472	0,555	0,544	15,8
6	0,507	0,464	0,460	0,477	18,7
7	0,634	0,714	0,438	0,595	14,7
8	0,522	0,453	0,538	0,504	15,5
9	0,517	0,593	0,554	0,555	17,6
10	0,537	0,405	0,480	0,474	15,7
Mean(Group 2)	0,526	0,517	0,473	0,505	
Dev Std (Group 2)	0,088	0,114	0,069	0,092	
Group 3 (Severe IO)					
1	0,575	0,536	0,422	0,511	9,2
2	0,577	0,600	0,484	0,554	5,5
3	0,520	0,523	0,702	0,582	8,8
4	0,631	0,691	0,614	0,645	7,9
5	0,621	0,485	0,623	0,576	3,9
6	0,735	0,606	0,654	0,665	5,7
7	0,675	0,540	0,557	0,590	5,0
8	0,659	0,515	0,665	0,613	7,6
9	0,630	0,592	0,601	0,608	9,0
10	0,510	0,654	0,573	0,579	8,9
Mean(Group 3)	0,613	0,574	0,589	0,592	
Dev Std (Group 3)	0,069	0,066	0,085	0,073	
Mean(All groups)	0,557	0,533	0,508	0,533	
Dev Std (All Groups)	0,090	0,096	0,090	0,093	

Fig 6.10 Risultati della validazione realizzata sul set di 30 pazienti.

A partire da tali risultati è stata effettuata un'analisi della varianza (ANOVA, test di Fisher) per valutare l'eventuale presenza di differenze significative nei risultati ottenuti nelle varie classi di accumulo di ferro e sulle diverse slices cardiache. La procedura canonica corretta prevede dapprima un'analisi della varianza per valutare se le osservazioni sono compatibili con l'ipotesi nulla (H_0) che tutti i campioni provengano dalla stessa popolazione. Se, in base ai risultati del test F dell'analisi della varianza, H_0 viene rifiutata, si utilizza successivamente una procedura per confronti multipli tramite il cosiddetto test t di Bonferroni, in grado di isolare il gruppo o i gruppi che producono risultati diversi da quelli attesi. La statistica del test F viene calcolata dividendo la cosiddetta 'varianza tra gruppi' con la cosiddetta 'varianza entro i gruppi'; la prima rappresenta una stima della varianza della popolazione sulla base delle varianze dei singoli campioni (gruppi), la seconda rappresenta invece una stima della varianza della popolazione ottenuta sulla base delle medie campionarie. Se tutti i campioni fossero tratti dalla stessa popolazione i due metodi usati per la stima dovrebbero produrre approssimativamente lo stesso risultato. Quando ciò accade, si può concludere che, probabilmente, i campioni sono tratti da un'unica popolazione e che le differenze sono attribuibili alla casualità dei campioni stessi; in caso contrario questa ipotesi andrà rifiutata.

Per quanto riguarda l'analisi relativa alle diverse fette cardiache (basale, media, apicale) la statistica del test F ottenuta è:

$$F_{\text{slices}} = 2.14$$

Tale valore va confrontato con un opportuno valore critico della distribuzione F, ottenuto scegliendo il livello di significatività (α) e calcolando i gradi di libertà del test effettuato. La dipendenza dei valori critici dalla numerosità di ciascun gruppo e dal numero dei gruppi a confronto è espressa da due parametri detti gradi di libertà (v). Per questo genere di analisi il numero di gradi di libertà v_m 'tra gruppi' (chiamati gradi di libertà del numeratore, poiché la varianza 'tra gruppi' è il numeratore di F) è:

$$v_m = m$$

dove m = numero dei gruppi.

Il numero dei gradi di libertà v_n 'entro i gruppi' (chiamati gradi di libertà del denominatore, poiché la varianza 'entro i gruppi' è il denominatore di F) è:

$$v_n = m \cdot (n-1)$$

dove: m = numero dei gruppi e n = numerosità di ciascun gruppo (caso di campioni di uguali dimensioni).

Per l'analisi della varianza sulle diverse fette cardiache abbiamo $m=3$ e $n=30$, per cui i g.d.l sono $v_m = 3$ e $v_n = 3 \cdot (30-1) = 87$.

Il livello di significatività scelto per queste analisi è stato pari a 0.05 (5%) , in quanto tale valore rappresenta la soglia classifica per le analisi statistiche in studi di medicina. Analizzando la tabella dei valori critici F per $\alpha= 0.05$ (riportata in parte nella figura 6.11) si nota che il valore critico è compreso tra 2.76 ($v_n = 60$) e 2.68 ($v_n = 120$) per $\alpha= 0.05$. Di conseguenza la statistica del test F calcolata è sicuramente inferiore al valore critico per tale livello di significatività.

Ciò porta ad affermare che non vi sono differenze significative nel funzionamento dell'algoritmo sulle diverse fette in asse corto cardiaco.

ν_d	ν_n-1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	15	20
1	161.45	199.50	215.71	224.58	230.16	233.99	236.77	238.88	240.54	241.88	245.95	248.01
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.43	19.45
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.70	8.66
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.86	5.80
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.62	4.56
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	3.94	3.87
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.51	3.44
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.22	3.15
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.01	2.94
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.85	2.77
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.72	2.65
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.62	2.54
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.53	2.46
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.46	2.39
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.40	2.33
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.35	2.28
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.31	2.23
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.27	2.19
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.23	2.16
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.20	2.12
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.18	2.10
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.15	2.07
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.13	2.05
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.11	2.03
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.09	2.01
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.07	1.99
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25	2.20	2.06	1.97
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	2.04	1.96
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.03	1.94
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.01	1.93

Fig 6.11 Tabella valori critici di F corrispondenti a $P=0.05$

Analizzando in seguito i diversi gruppi di accumulo di ferro, i gradi di libertà diventano $v_m = 3$ (3 gruppi) e $v_n = 27$ (3 gruppi, 10 pazienti per ciascun gruppo). La statistica del test F in questo caso è:

$$F_{\text{groups}} = 3.75$$

Il valore critico per i g.d.l in esame vale 2.96 per $\alpha = 0.05$. La statistica è quindi superiore al valore critico, di conseguenza per tale livello di significatività vi è una differenza nei risultati ottenuti.

Dopo un'analisi della varianza che, come in quest'ultimo caso, porti alla decisione di rifiutare l'ipotesi di appartenenza dei gruppi alla stessa popolazione, è necessario procedere con tutti possibili confronti multipli (detti 'post-hoc') a coppie. In ogni confronto si dovrà tener conto della disuguaglianza di Bonferroni che prevede, come valore critico di riferimento, quello associato ad una frazione (pari al numero totale di confronti da effettuare) del livello globale di significatività. Nel nostro caso è necessario effettuare 3 confronti, per cui il livello di significatività sarà $\alpha = 0.05/3 \approx 0,016$. Se si effettuano infatti K confronti usando per ciascuno il valore critico associato ad un livello di significatività α , c'è una probabilità circa $K\alpha$ di commettere almeno un errore di tipo I (falso positivo). Pertanto, se nel nostro caso vogliamo fare 3 confronti col test t di Student, per mantenere il rischio globale di commettere uno o più errori di tipo I sotto il 5% dovremo considerare, in ogni confronto, il valore critico di t corrispondente ad un livello di significatività $\alpha = (5/3)\% \approx 1,6\%$.

Per i confronti 'post-hoc' il test generalmente più utilizzato è quello di Bonferroni. Esso è meno conservativo del classico test t di Student perché, nel calcolo della statistica t, utilizza la stima della varianza entro i gruppi (vedi analisi di varianza) in luogo della stima combinata della varianza. In questo modo i gradi di libertà risultano più numerosi di quelli di un semplice test t. Il fatto che il valore critico di t decresce all'aumentare dei gradi di libertà, compensa lo svantaggio derivato dall'applicazione della disuguaglianza di Bonferroni e permette di rilevare una differenza, con grado prefissato di significatività, anche in presenza di minori differenze assolute fra le medie.

Per effettuare i confronti multipli abbiamo quindi calcolato la statistica t del test di Bonferroni per ciascun confronto, confrontando rispettivamente il gruppo di accumulo severo con quello di accumulo assente e con quello di accumulo moderato; infine abbiamo confrontato i gruppi di accumulo moderato ed accumulo assente.

I valori della statistica t, denominati rispettivamente t_{31} , t_{32} e t_{21} , sono:

- $t_{31} = 2.43$;
- $t_{32} = 2.31$

- $t_{21} = 0.11$

Il valore critico di questo test può essere facilmente calcolato come la radice quadrata del valore critico del test F per lo stesso livello globale di significatività (5%), usando gli stessi g.d.l 'entro i gruppi' (27) ma il valore 1 per i g.d.l 'tra gruppi'. Il valore critico per il test t di Bonferroni è quindi:

$$t_{crit} = \sqrt{4.21} \approx 2.05$$

Come si può notare i valori t_{31} e t_{32} sono superiori al valore critico; ciò indica che vi sono differenze significative tra i risultati ottenuti per il gruppo di pazienti con accumulo severo di ferro ed i gruppi con accumulo moderato e assente; in entrambi i casi l'algoritmo ISODATA fornisce risultati migliori (maggiore livello di 'overlap' con le misure manuali) per i pazienti con accumulo di ferro severo, e dunque per bassi valori di T2* cardiaco, inferiori a 10ms.

Non vi è invece differenza significativa tra il gruppo con accumulo moderato e quello con accumulo assente ($t_{21} < t_{crit}$); ciò implica che l'algoritmo non differisce in maniera significativa nel funzionamento per le due classi di pazienti, dunque per $T2^* > 10ms$.

Questo comportamento può essere apprezzato da un punto di vista visivo nelle figure da 6.13 a 6.19. Nelle figure 6.13, 6.14 e 6.15 viene riportato l'andamento dei valori di overlapping area misurati in funzione dei valori di T2* cardiaco dei vari pazienti analizzati per le diverse slices cardiache (rispettivamente basali, medie ed apicali). Le figure 6.16, 6.17 e 6.18 riportano invece i valori di OA medi (media sulle 3 fette cardiache) per le varie classi di accumulo di ferro cardiaco (rispettivamente severo, moderato ed assente). La figura 6.19 cerca di riassumere il comportamento generale, riportando i valori di OA medi in funzione del valore di T2* cardiaco di tutti i pazienti analizzati durante la validazione. I valori di T2* cardiaco sono ordinati in senso crescente sull'asse delle ascisse in tutti i grafici.

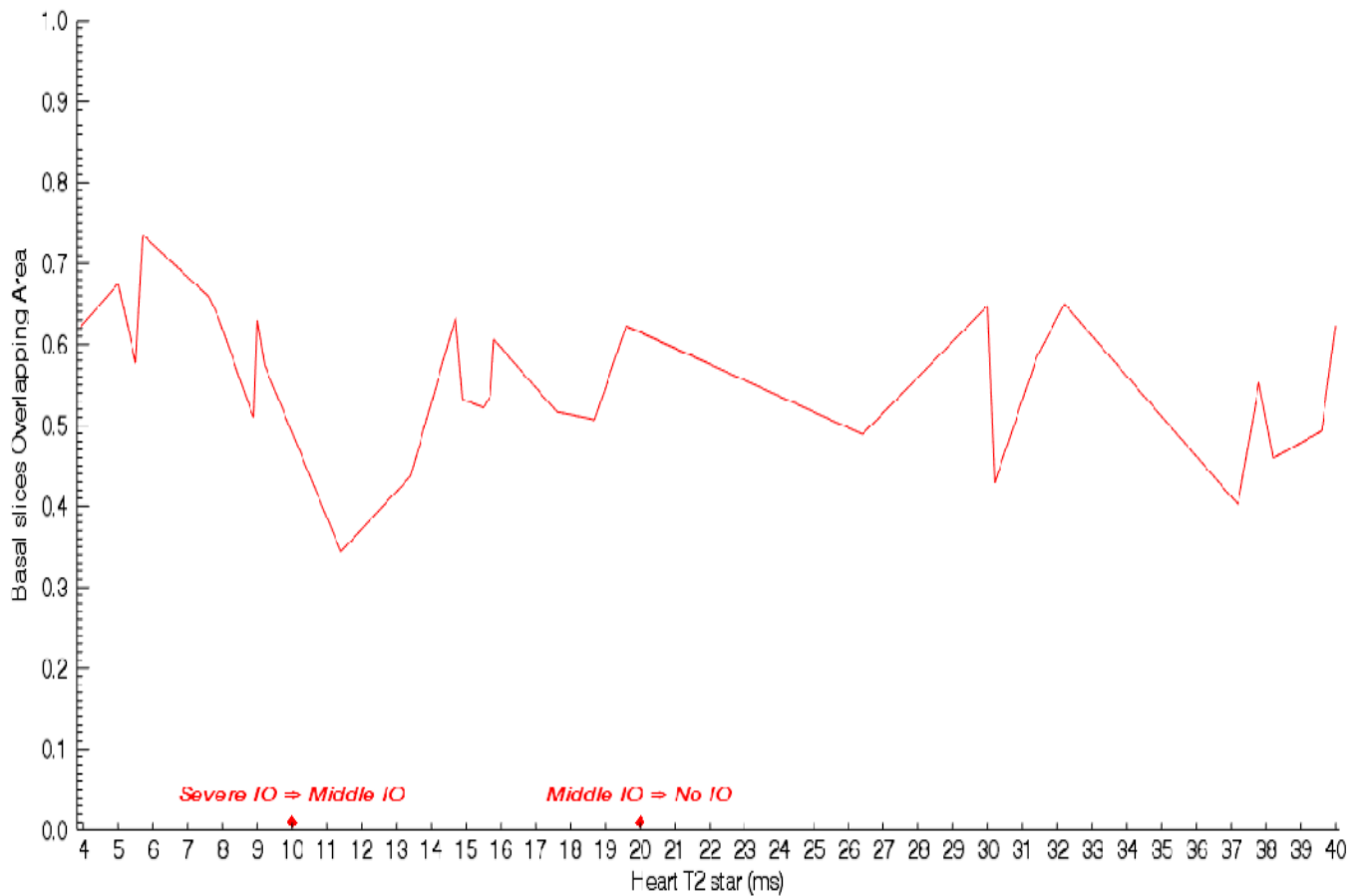


Fig 6.13 Andamento dei valori di OA al variare dei valori di T2* cardiaco dei pazienti analizzati per le fette cardiache basali.

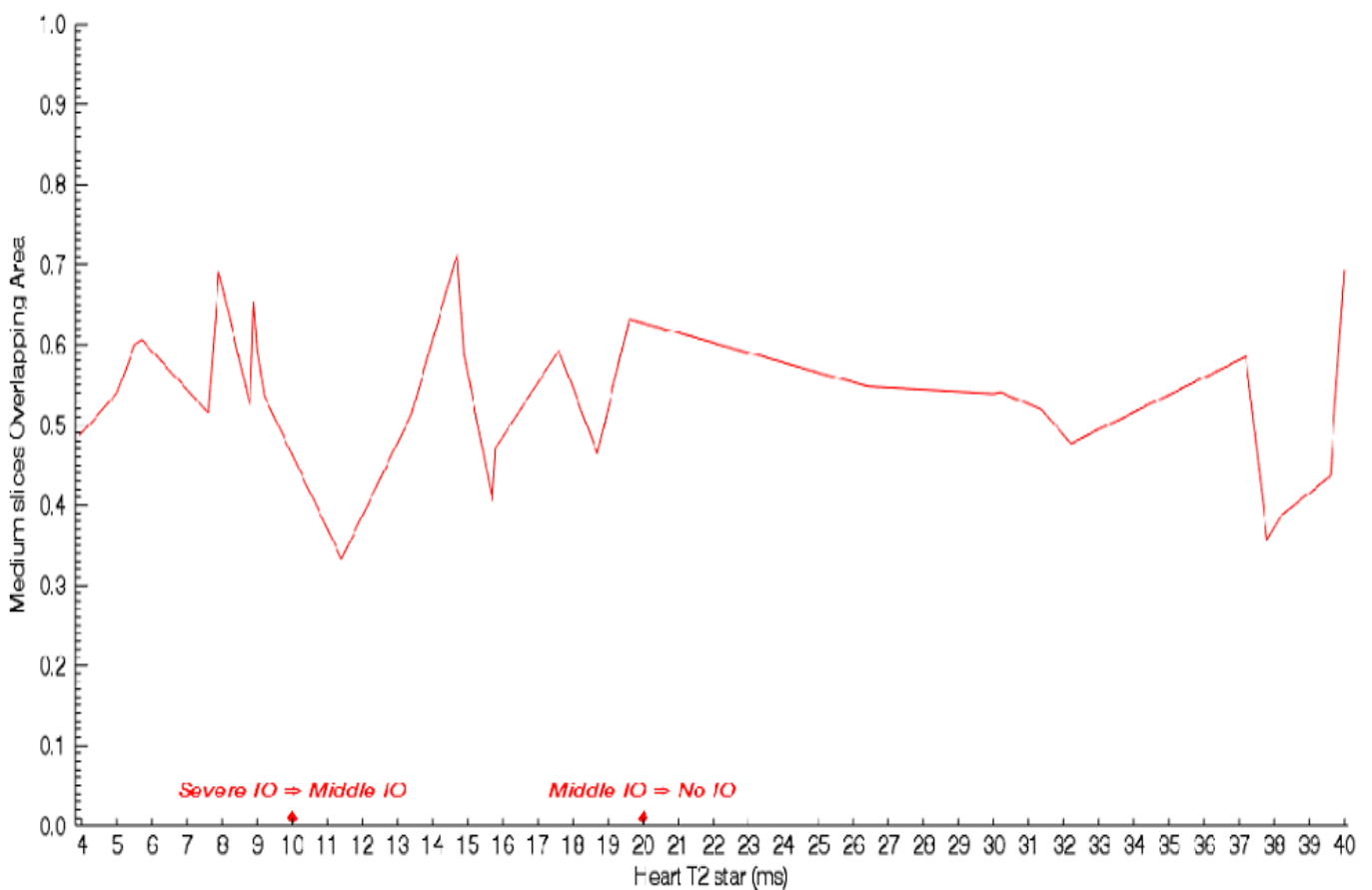


Fig 6.14 Andamento dei valori di OA al variare dei valori di T2* cardiaco dei pazienti analizzati per le fette cardiache medie.

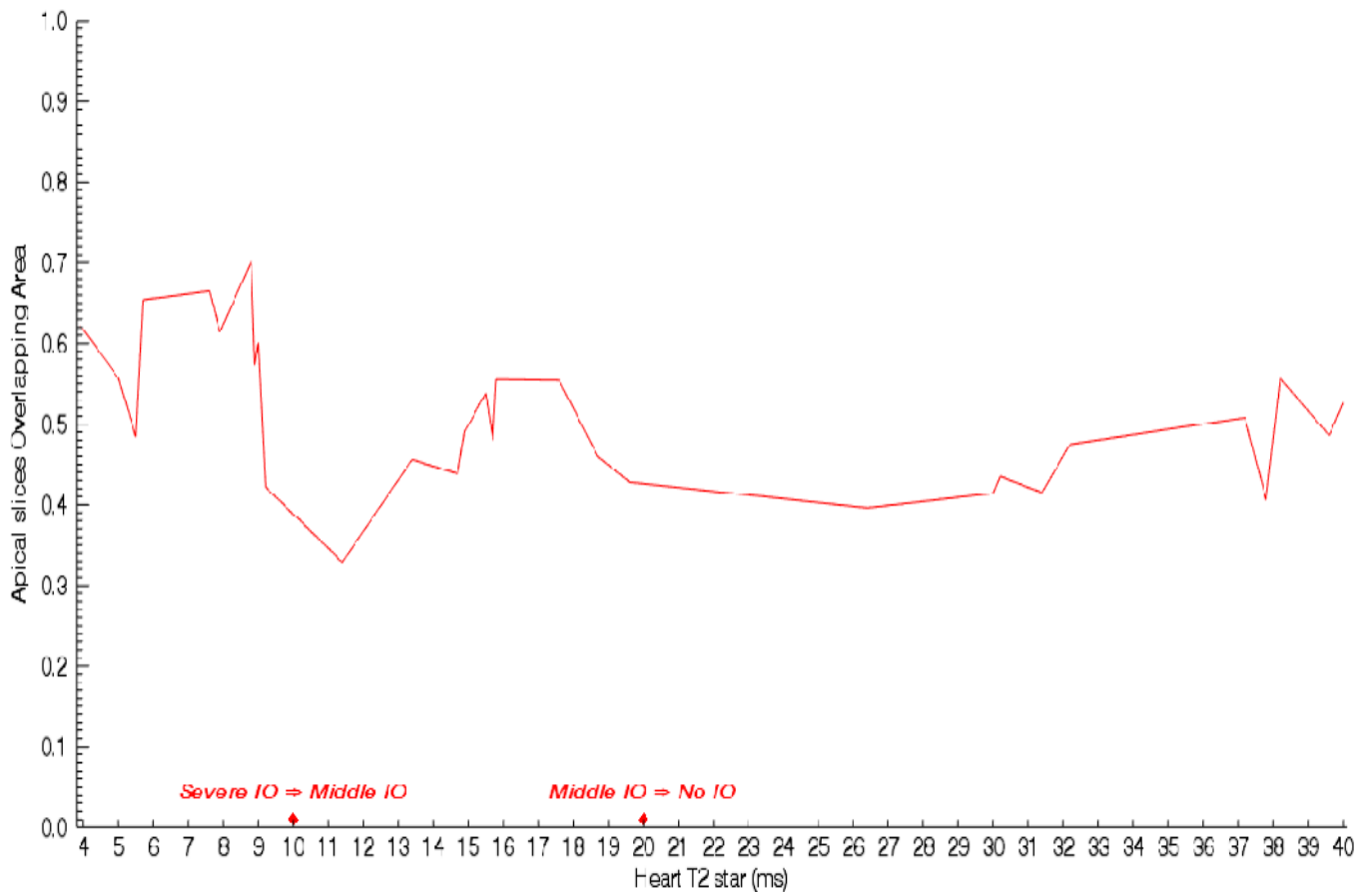


Fig 6.15 Andamento dei valori di OA al variare dei valori di T2* cardiaco dei pazienti analizzati per le fette cardiache apicali.

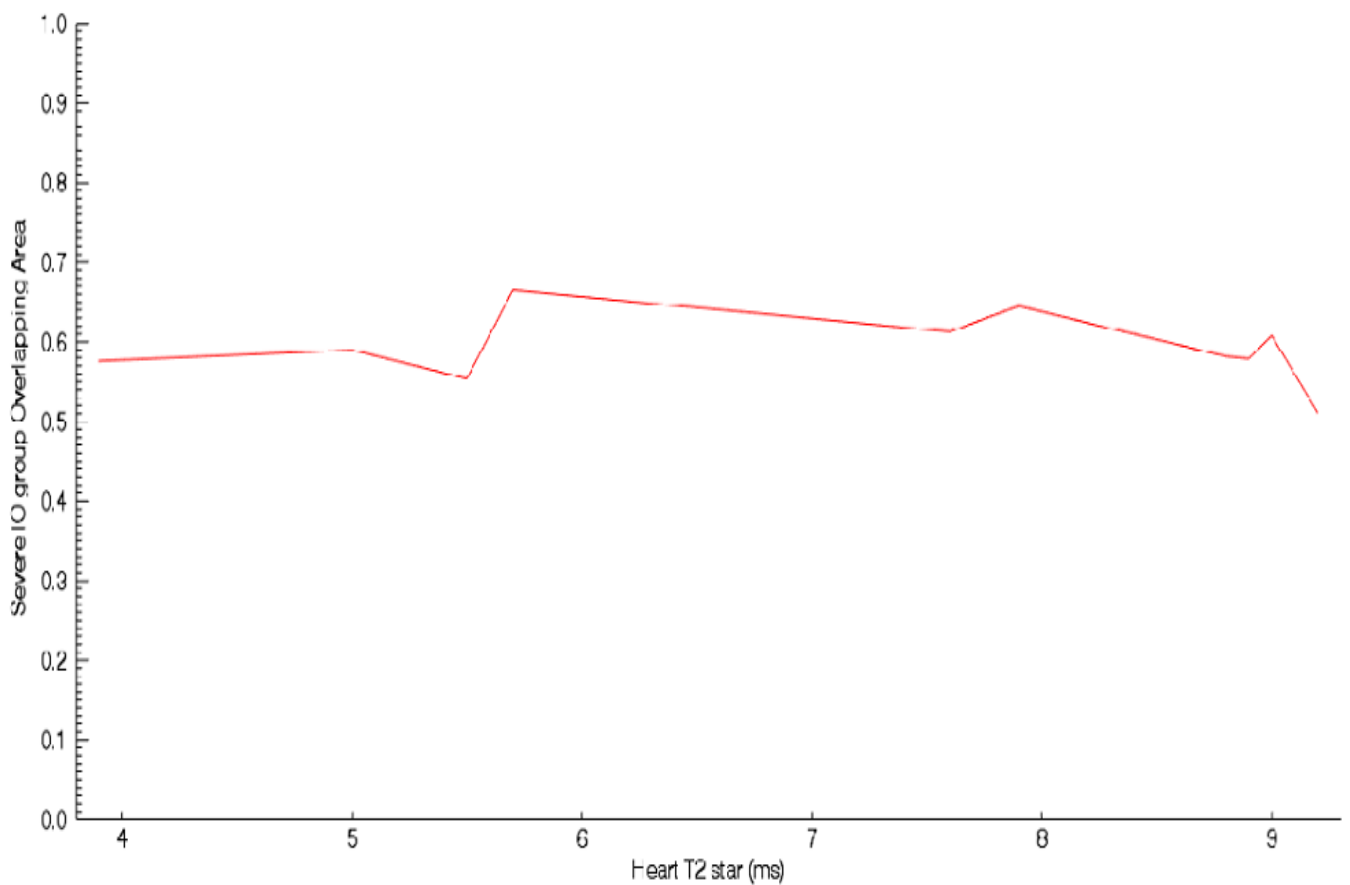


Fig 6.16 Andamento dei valori medi di OA al variare dei valori di T2* cardiaco dei pazienti appartenenti al gruppo con accumulo di ferro cardiaco severo.

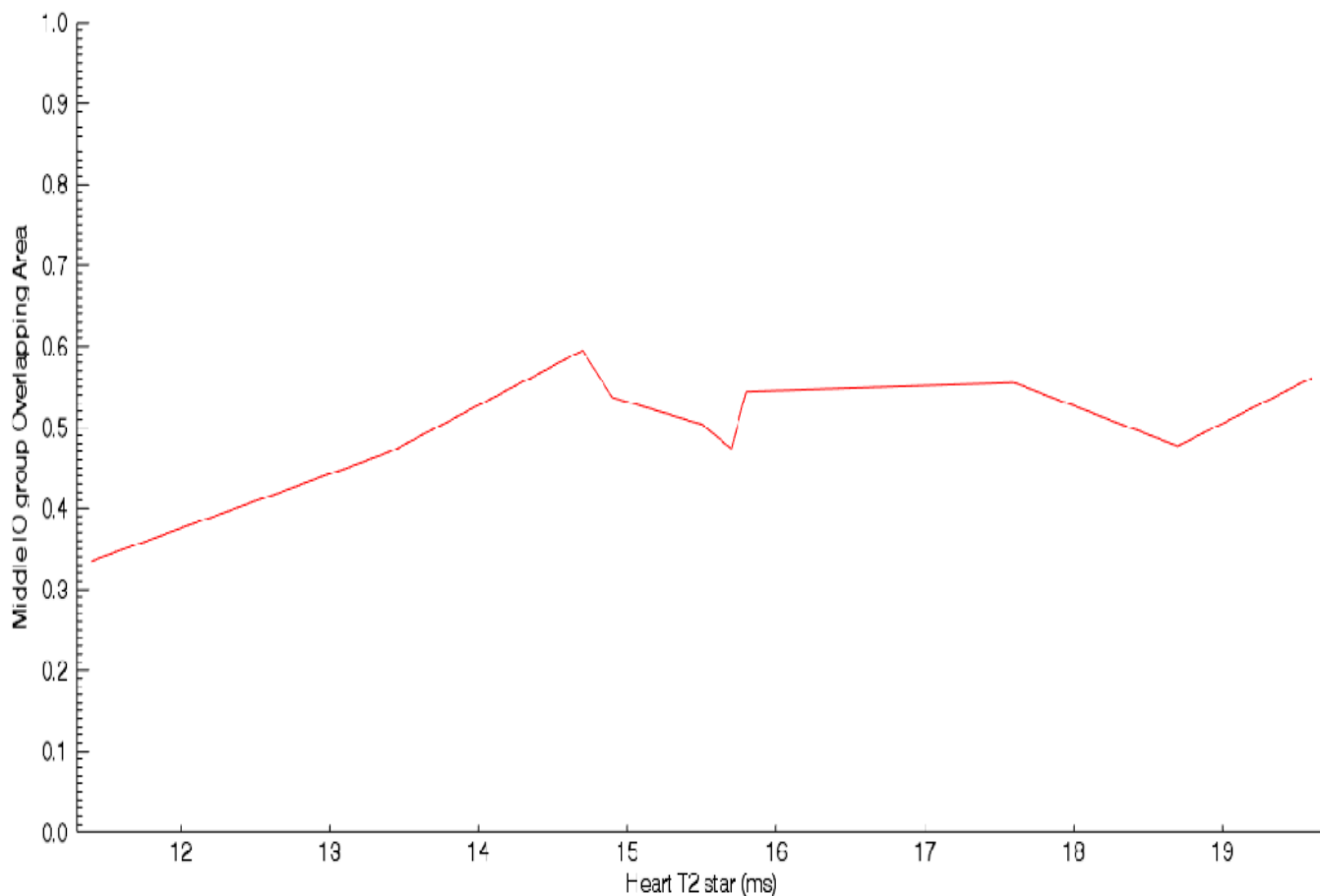


Fig 6.17 Andamento dei valori medi di OA al variare dei valori di T2 cardiaco dei pazienti appartenenti al gruppo con accumulo di ferro cardiaco moderato.*

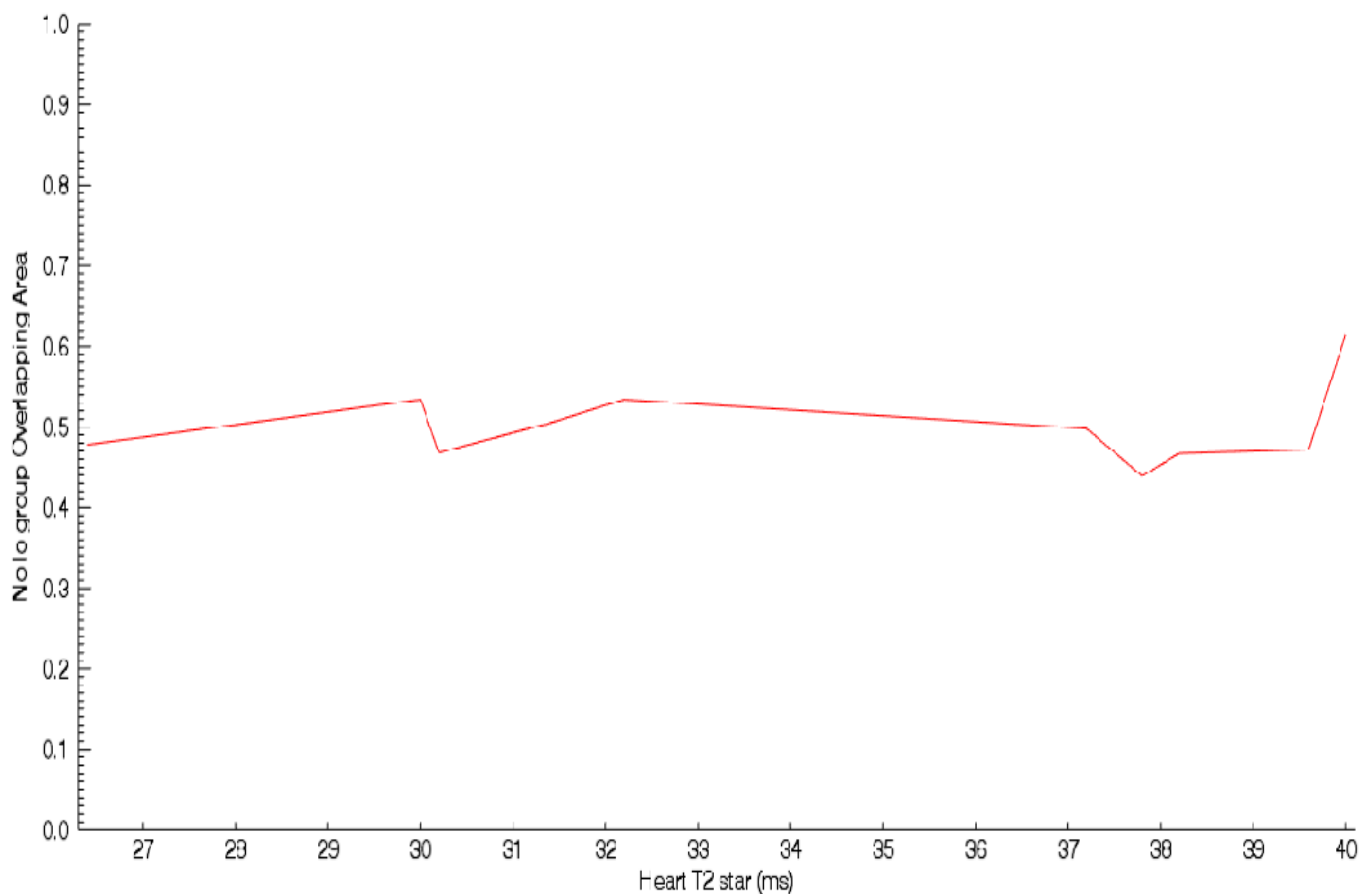


Fig 6.18 Andamento dei valori medi di OA al variare dei valori di T2 cardiaco dei pazienti appartenenti al gruppo con accumulo di ferro cardiaco assente.*

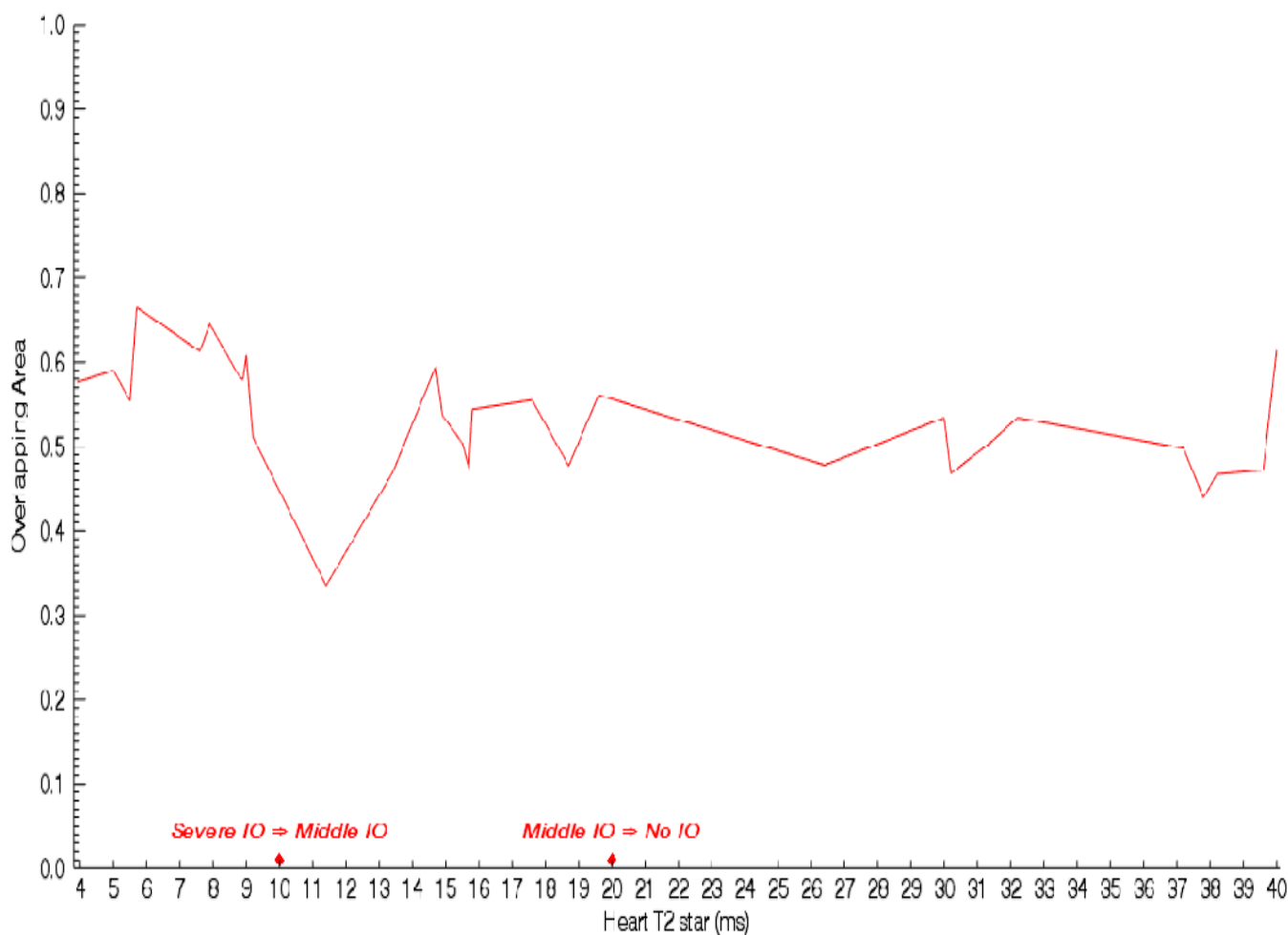


Fig 6.19 Andamento dei valori medi di OA al variare dei valori di T2* cardiaco per tutti i pazienti analizzati.

Dalla figura 6.19 si nota come il valore medio di OA assume i valori più elevati per valori di T2* cardiaco inferiori a 10ms, per poi decrescere in maniera brusca ed infine assestarsi in un range ristretto di valori per valori di T2* > 10ms, senza variazioni significative per i valori di T2* relativi alle categorie di accumulo di ferro moderato e assente. Il comportamento di tale misura può essere apprezzato nel dettaglio per le singole classi di accumulo di ferro, e quindi per i rispettivi range di valori di T2* cardiaco, nelle figure 6.16, 6.17 e 6.18.

Una spiegazione di tale comportamento può essere ricercata nelle seguenti motivazioni:

1. alcune limitazioni intrinseche nella procedura di validazione realizzata, che saranno descritte nel prossimo capitolo; tali limitazioni influenzano i valori di OA calcolati e le analisi statistiche effettuate su di essi.
2. Per bassi valori di T2* il miocardio esibisce un segnale RM che decresce rapidamente lungo gli echi, assumendo valori molto più bassi dei tessuti circostanti, in particolare tessuto muscolare e 'blood pool'. Ciò probabilmente aiuta ad una migliore identificazione del miocardio rispetto ai casi di

accumulo moderato ed assente, dove i valori di T2* cardiaco sono maggiori, portando ad intensità di segnale più elevate e più simili ad altri tessuti, in particolare a quello muscolare. Il 'blood pool' assume solitamente valori di segnale molto maggiori rispetto al miocardio poiché possiede un rilassamento molto lento; di conseguenza, pur tenendo conto del fattore di disturbo dato dal movimento del sangue all'interno del LV nelle acquisizioni reali, risulta meno complicato distinguerlo dal miocardio, ottenendo un'immediata identificazione dei contorni endocardici. Permane invece il problema dato dalla differenziazione del miocardio dal tessuto epatico. Per bassi valori di T2* infatti il miocardio possiede un rilassamento simile a quello del fegato, poiché nella maggior parte delle acquisizioni cliniche i pazienti presentano solitamente un accumulo di ferro epatico e quindi valori di T2* epatico altrettanto bassi.

7 Conclusioni e sviluppi futuri

L'imaging RM ha sostituito nel corso degli anni diverse metodiche utilizzate per la valutazione del ferro circolante e di quello accumulato, grazie ai suoi numerosi vantaggi rispetto alle limitazioni di tali metodiche. In particolare, grazie a tali vantaggi, ha preso il posto di una tecnica storicamente considerata il 'gold standard' nella valutazione dell'accumulo di ferro corporeo: la biopsia epatica. L'accumulo di ferro epatico è considerato da sempre un precursore dell'accumulo in altri organi, specialmente nel cuore; tramite la biopsia epatica è possibile misurare la LIC ('Liver Iron Concentration') ed utilizzarla come valore rappresentativo dell'accumulo corporeo di ferro. La biopsia è tuttavia una tecnica invasiva, poco ripetibile e difficilmente estendibile al caso cardiaco; inoltre, se il campione prelevato non è sufficientemente grande, fornisce risultati poco correlati con la reale condizione clinica del paziente. L'imaging di risonanza magnetica rappresenta invece ad oggi l'unica tecnica in grado di realizzare una valutazione quantitativa accurata, affidabile e non invasiva dell'accumulo di ferro multiorgano, in particolare a livello cardiaco; tale valutazione viene effettuata sfruttando il legame esistente tra accumulo di ferro e valore del T2* del tessuto/organo sotto esame. Nell'imaging cardiaco, l'analisi T2* richiede come primo passo il tracciamento manuale dei contorni della parete cardiaca (endocardio ed epicardio) del ventricolo sinistro (LV); a partire da tali contorni è possibile suddividere la parete cardiaca in 16 segmenti, secondo il modello proposto dalla AHA, calcolando poi i vari valori dei T2* segmentali e quello globale della parete cardiaca, che vengono poi correlati con la corrispondente classe di accumulo di ferro (severo, moderato, lieve/assente). Le limitazioni principali di questa tecnica di analisi risiedono nel fatto che il tracciamento manuale dei contorni endocardici ed epicardici deve essere eseguito da un radiologo esperto, e che tale operazione comporta l'introduzione nella procedura di variabilità intra-osservatore ed inter-osservatore, che limitano la riproducibilità della metodica. Queste limitazioni hanno spinto alla ricerca di un algoritmo di segmentazione applicabile a dataset RM multidimensionali, in grado di segmentare in maniera automatica le immagini RM cardiache acquisite, ed in particolare la parete cardiaca. L'analisi della letteratura scientifica presente ad oggi ha portato alla scelta dell'algoritmo ISODATA e alla sua applicazione in un nuovo ambito clinico, ovvero la segmentazione di immagini RM multiecho cardiache. Le limitazioni nel tempo di acquisizione dovute alla necessità del triggering ECG riducono la qualità delle immagini cardiache rispetto a quelle acquisite su organi non soggetti a movimento; si è quindi scelto di affrontare il problema della segmentazione di immagini cardiache in quanto i risultati ottenuti sono estendibili ad altri tipi di immagini.

L'algoritmo ISODATA, acronimo per 'Iterative Self-Organizing Data Analysis Technique', è un algoritmo di segmentazione di tipo 'unsupervised' applicabile a

dati multidimensionali. A differenza degli algoritmi di clustering comunemente applicati nella segmentazione di immagini biomediche (K-means e Fuzzy c-means), l'algoritmo ISODATA possiede degli steps ulteriori che comportano l'abilità di tale algoritmo di aggiustare in maniera automatica il numero di cluster individuati. I vantaggi principali di tale algoritmo stanno dunque nel fatto di non necessitare né di nessuna procedura di 'training' precedente alla segmentazione né di alcuna conoscenza a priori del numero esatto di clusters in cui suddividere i dati. Il principale svantaggio dell'algoritmo risiede invece nell'elevato numero di parametri di input che devono essere impostati; alcuni di essi sono stati riconosciuti come parametri critici, e sono stati quindi ottimizzati per ottimizzare il funzionamento dell'algoritmo stesso. Per ottimizzarne il funzionamento, l'algoritmo è stata in una prima fase testato su un dataset di immagini 'phantom' opportunamente create per simulare numero, morfologia, collocazione spaziale, segnale e valore di T2* tipici dei tessuti solitamente visualizzati nelle immagini RM cardiache. L'uso di tale modello ha permesso di impiegare un opportuno set di indici di performance attraverso i quali valutare qualità ed accuratezza della segmentazione realizzata.

Ciascun parametro critico è stato variato all'interno di un range opportuno di valori, mantenendo fissa l'impostazione degli altri parametri critici, e per ogni valore assunto è stato valutato l'andamento dei vari indici di performance; i risultati sono stati mediati per ogni caso su 10 prove, per valutare anche l'eventuale presenza di una componente random dell'algoritmo. Le prove sono state eseguite utilizzando come variabile principale del problema il valore di T2* del miocardio; nei pazienti che si sottopongono ad imaging RM non sono infatti note a priori le condizioni cliniche, e quindi il valore di T2* del miocardio può assumere valori variabili da frazioni di ms in casi di accumulo severo di ferro fino a valori > 60-65ms in condizioni fisiologiche. I risultati ottenuti sul modello indicano che l'algoritmo non presenta componenti random; ciò implica che, una volta impostato un set di parametri d'ingresso, l'algoritmo fornisce sempre lo stesso risultato su prove ripetute. I risultati ottenuti sul modello hanno permesso di notare l'esistenza di relazioni più o meno strette fra diversi parametri critici e alcune caratteristiche delle immagini analizzate. E' stata dimostrata l'esistenza di una dimensione minima del dataset da fornire come input all'algoritmo ISODATA, necessaria a fornire una segmentazione corretta in tutti i casi analizzati. E' stata dimostrata un relazione molto evidente tra il parametro di splitting e la deviazione standard del rumore presente sulle immagini; ciò rende immediata l'impostazione di questo parametro, poiché la SD del rumore è facilmente misurabile sul background delle immagini RM. E' stata infine dimostrata l'esistenza di una relazione fra il parametro relativo alla minima dimensione ammessa per i cluster e le dimensioni delle strutture/tessuti presenti nelle immagini, espresse in n° di pixels. La misura delle dimensioni dei

tessuti è fattibile ed immediata solo sul modello, ma lo stesso non vale per le immagini reali; questo legame può essere generalizzato legando questo parametro alle dimensioni delle immagini usate. Il parametro di lumping rappresenta invece il caso in cui è risultata meno chiara l'individuazione di un legame con una o più caratteristiche delle immagini; la misura della differenza minima di segnale tra tutti i vari tessuti dipende infatti da svariati fattori, come la dimensione del dataset analizzato, il valore tipico dei vari tessuti e il loro tempo di pseudorilassamento. I risultati ottenuti sul modello hanno portato infine all'individuazione di un range ottimo per ogni parametro critico analizzato.

Tutti i risultati ottenuti hanno mostrato la capacità dell' algoritmo di riconoscere in ogni caso analizzato la parete cardiaca, anche con l'aiuto di algoritmi di labeling che eliminano eventuali quote di pixels spuri che vengono erroneamente attribuiti al miocardio. I risultati ottenuti sul modello hanno inoltre messo a nudo le principali criticità nel funzionamento dell'algoritmo. L'algoritmo ISODATA infatti incontra maggiori difficoltà nel differenziare il miocardio dal tessuto muscolare quando il miocardio non presenta accumulo di ferro e quindi, da un punto di vista del segnale RM, esibisce il segnale tipico di un muscolo in condizioni fisiologiche. Questa condizione si verifica per valori di $T2^*$ cardiaco (e quindi di segnale) uguali o comunque molto vicini a quelli tipici del tessuto muscolare. Un'altra difficoltà riguarda la differenziazione fra miocardio e fegato; nella maggior parte delle acquisizioni cliniche i pazienti presentano già un accumulo di ferro epatico, con valori di $T2^*$ epatico di solito bassi. Nel caso vi sia anche un significativo accumulo di ferro nel cuore, il valore di $T2^*$ cardiaco sarà altrettanto basso; ciò può portare a delle difficoltà nel distinguere i due tessuti poichè essi possiedono una velocità di rilassamento $T2^*$ molto simile.

Nella seconda fase, successiva alle prove sul modello, l'algoritmo è stato applicato su immagini RM multiecho reali. Le prove preliminari hanno mostrato una buona efficacia nel funzionamento, considerando le varie limitazioni nella qualità delle immagini usate; tali prove hanno altresì mostrato la necessità di modificare in certi casi l'impostazione ottimale di alcuni parametri critici ottenuta sul modello per ottenere una segmentazione sufficientemente accurata. La necessità di tali modifiche risiede nella maggiore complessità e variabilità delle immagini reali, nelle numerose fonti di disturbo presenti in esse e nello scarso contrasto intrinseco nella metodica di acquisizione RM impiegata.

L'implementazione dell' algoritmo ISODATA in linguaggio IDL ha permesso di integrare l'algoritmo sviluppato nel software HIPPO-MIOT, in modo da effettuare un test sperimentale in ambiente clinico.

La procedura di validazione implementata ha dimostrato l'assenza di differenze significative nel funzionamento dell'algoritmo ISODATA sulle diverse slices in asse corto cardiaco (basale, media e apicale) analizzate per ciascun paziente del set

di validazione, mentre ha mostrato invece delle differenze nel funzionamento sulle diverse classi di accumulo di ferro (severo, moderato, assente), e quindi al variare del valore di $T2^*$ cardiaco dei pazienti. Tali differenze sono state rilevate usando un livello di significatività α pari al 5%.

Le differenze evidenziate portano ad affermare che l'algoritmo proposto fornisce risultati migliori (maggiore livello di 'overlap' con le misure manuali) per i pazienti con accumulo di ferro cardiaco severo ($T2^* < 10\text{ms}$) rispetto a quelli con accumulo moderato ($10\text{ms} \leq T2^* < 29\text{ms}$) ed assente ($T2^* > 20\text{ms}$). Non vi è invece alcuna differenza significativa tra il gruppo con accumulo moderato e quello con accumulo assente, e ciò implica che l'algoritmo non differisce in maniera significativa nel funzionamento per le due classi di pazienti, dunque per $T2^* > 10\text{ms}$. Osservando le figure 6.10 e 6.13 si può notare come il confronto tra misura automatica e misura manuale della parete cardiaca fornisca risultati nel complesso buoni, con valori di Overlapping Area compresi fra 0.5 e 0.7, con punte di poco superiori a 0.7. Tali valori sono tuttavia abbastanza distanti dal caso ideale di OA pari a 1, in cui vi è cioè la totale uguaglianza tra la maschera del miocardio manuale e quella automatica. La procedura di validazione proposta presenta infatti delle limitazioni, che possono influire sui valori di OA ottenuti e sulle successive indagini statistiche.

In primo luogo è necessario considerare che il tracciamento manuale dei contorni di endocardio ed epicardio, dal quale deriva la maschera manuale del miocardio, non è stato effettuato da un radiologo esperto; ciò riduce la qualità e la precisione della misura manuale, influenzando il confronto con la misura automatica fornita da ISODATA. La segmentazione automatica realizzata dall'algoritmo ISODATA riconosce tutto il tessuto miocardico, mentre la segmentazione manuale segmenta solo la parete cardiaca attorno al ventricolo sinistro. Pur applicando algoritmi di labeling che eliminano eventuali regioni di pixels spuri attribuiti per errore al miocardio, l'operazione di labeling non può tuttavia eliminare la parete del miocardio attorno all'atrio sinistro. Tale zona è infatti contigua alla parete del ventricolo sinistro e non topologicamente distinta da esso; ciò comporta nella maggior parte dei casi una riduzione del valore di OA calcolato.

La segmentazione automatica tramite ISODATA è stata inoltre realizzata impiegando un set univoco di parametri, andando a modificare tale impostazione direttamente da codice nei casi in cui i risultati forniti dalla segmentazione risultassero insoddisfacenti. Come già detto in precedenza, da un punto di vista operativo non è infatti corretto richiedere all'operatore che sta usando il software di inserire dall'esterno parametri di cui non conosce l'esatto significato e funzionamento; non è però detto che la medesima impostazione dei parametri utilizzata sia quella migliore per le immagini relative ad ogni paziente ed anche per le diverse slices di un singolo paziente, nonostante in quest'ultimo caso i test

statistici abbiano mostrato l'assenza di differenze significative nel funzionamento sulle diverse slices cardiache. Una procedura più corretta ed accurata dovrebbe prevedere una fase di 'auto-tuning' dei parametri critici, che sia in grado di adattare tali parametri con le caratteristiche di ciascun dataset di immagini analizzato di volta in volta, sfruttando le relazioni individuate sul modello delle immagini reali. Una procedura di questo genere dovrebbe condurre ad una migliore qualità nella segmentazione automatica per le singole immagini, e porterebbe ad una crescita dei valori di OA misurati. Per attuare una procedura di tale genere sarebbe quindi consigliabile condurre ulteriori ricerche che approfondiscano il legame tra i parametri θ_N e θ_L e le corrispondenti caratteristiche sulle immagini reali, dal momento che per essi è stata rilevata in diversi casi una sostanziale differenza con i risultati ottenuti sul modello.

Un altro punto importante nella valutazione di un software di analisi dell'immagine biomedica è la misura della riproducibilità, cioè della capacità del software di assicurare un bassa variabilità inter- ed intra-osservatore. Poichè, nella procedura di validazione effettuata, il 'gold standard' con cui si confronta la misura automatica è dato dalla segmentazione manuale della parete cardiaca, tale misura comporta l'introduzione di variabilità intra ed inter-osservatore. Una valutazione molto interessante sarebbe quindi quella di confrontare i risultati della segmentazione automatica fornita da ISODATA con quelli manuali ottenuti da 2 o più operatori diversi; questo confronto dovrebbe portare ad affermare che l'algoritmo ISODATA si comporta esattamente con un altro operatore. In altre parole, un utente esterno, osservando i risultati di una segmentazione manuale e di quella fornita da ISODATA, non dovrebbe essere in grado di distinguere il risultato automatico da quello manuale.

8 Bibliografia

1. Govind B. Chavhan, MD, Paul S. Babyn, Bejoy Thomas, Manohar M. Shroff, E. Mark Haacke. *Principles, Techniques, and Applications of T2*-based MR Imaging and its Special Applications*. *RadioGraphics* 2009;29:1433–1449
2. Reichenbach JR, Venkatesan R, Schillinger DJ, Kido DK, Haacke EM. *Small vessels in the human brain: MR venography with deoxyhemoglobin as an intrinsic contrast agent*. *Radiology* 1997;204:272–277.
3. Reichenbach JR, Haacke EM. *High-resolution BOLD venographic imaging: a window into brain function*. *NMR Biomed* 2001;14:453–467
4. Yamada N, Imakita S, Sakuma T, Takamiya M. *Intracranial calcification on gradient-echo phase image: depiction of diamagnetic susceptibility*. *Radiology* 1996;198:171–178.
5. Cha S, Knopp EA, Johnson G, Wetzel SG, Litt AW, Zagzag D. *Intracranial mass lesions: dynamic contrast-enhanced susceptibility-weighted echo-planar perfusion MR imaging*. *Radiology* 2002;223:11–29.
6. Alsop D. *Perfusion imaging of the brain*. In: Edelman RR, Hesselink JR, Zlatkin MB, Crues JV, eds. *Clinical magnetic resonance imaging*. 3rd ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier, 2006; 333–376.
7. Uludag K, Dubowitz DJ, Buxton RB. *Basic principles of functional MRI*. In: Edelman RR, Hesselink JR, Zlatkin MB, Crues JV, eds. *Clinical magnetic resonance imaging*. 3rd ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier, 2006; 249–287.
8. Moritz C, Haughton V. *Functional MR imaging: paradigms for clinical preoperative mapping*. *Magn. Reson Imaging Clin N Am* 2003;11:529–542.
9. *Conoscere le talassemie. Una guida su terapia, qualità della vita e strutture di assistenza. Meta (meeting per le associazioni per la talassemia)*

10. Vincenzo Positano, Alessia Pepe, Maria Filomena Santarelli, Barbara Scattini, Daniele De Marchi, Anna Ramazzotti, Gianluca Forni, Caterina Borgna-Pignatti, Maria Eliana Lai, Massimo Midiri, Aurelio Maggio, Massimo Lombardi and Luigi Landini. Standardized T2* map of normal human heart in vivo to correct T2*segmental artefacts. *NMR Biomed*
11. A. Melonia A. Ramazzotti, V. Positano, C. Salvatori, M. Mangione, P. Marcheschi, B. Favilli, D. De Marchi, S. Prato, A. Pepe, G. Sallustio, M. Centra, M.F. Santarelli, M. Lombardi, L. Landini. Evaluation of a web-based network for reproducible T2* MRI assessment of iron overload in thalassemia. *Elsevier ;international journal of medical informatics* 78 (2009)503–512
12. Anna Ramazzotti, Alessia Pepe, Vincenzo Positano, Giuseppe Rossi, Daniele De Marchi, Maria Gabriella Brizi, Antongiulio Luciani, Massimo Midiri, Giuseppina Sallustio, Gianluca Valeri, Vincenzo Caruso, Michele Centra, Paolo Cianciulli, Vincenzo De Sanctis, Aurelio Maggio ad Massimo Lombardi. Multicenter Validation of the Magnetic Resonance T2* Technique for Segmental and Global Quantification of Myocardial Iron. *Journal of magnetic risonance imaging* 30:62–68 (2009).
- 13 L.P. Clarke, R.P Velthuisen, M.A. Chamacho, J.J Heine, M. Vaidyanathan, L.O Hall, R.W. Tatche and M.L Silibiger. MRI segmentation: methods and applications. *Elsevier;Magnetic Resonance Imaging, Vol 13, N° 3,1995, 343-368*
14. Michael A. Jacobs, Ronald Ouwerkerk, Antonio C. Wolff, Vered Stearns, Paul A. Bottomley, Peter B. Barker, Pedram Argani, Nagi Khouri, Nancy E. Davidson, Zaver M. Bhujwalla and David A. Bluemke. Multiparametric and Multinuclear Magnetic Resonance Imaging of Human Breast Cancer: Current Applications. *Technol Cancer Res Treat* 2004 3: 543
15. Rosenberg, R. D., Hunt, W. C., Williamson, M. R., et al. Effects of Age, Breast Density, Ethnicity, and Estrogen Replacement Therapy on Screening Mammographic Sensitivity and Cancer Stage at Diagnosis: Review of 183,134 Screening Mammograms in Albuquerque, New Mexico. *Radiology* 209, 511-518 (1998).
16. Poplack, S. P., Tosteson, A. N., Grove, M. R., Wells, W. A., and Carney, P. A. Mammography in 53,803 Women from the New Hampshire Mammography Network. *Radiology* 217, 832-840 (2000).

17. Mandelson, M. T., Oestreicher, N., Porter, P. L., et al. *Breast Density as a Predictor of Mammographic Detection: Comparison of Interval- and Screen detected Cancers. J. Natl. Cancer. Inst.* 92,1081-1087 (2000).
18. Feig, S. A. *Decreased Breast Cancer Mortality through Mammographic Screening: Results of Clinical Trials. Radiology* 167, 659-665 (1988).
19. Fischer, U., Kopka, L., and Grabbe, E. *Breast Carcinoma: Effect of Preoperative Contrast-enhanced MR Imaging on the Therapeutic Approach. Radiology* 213, 881-88 (1999).
20. Kacal, G. M., Liu, P., Debatin, J. F., Garzoli, E., Caduff, R. F., and Krestin, G. P. *Detection of Breast Cancer with Conventional Mammography and Contrast enhanced MR Imaging. Eur. Radiol.* 8,194-200 (1998).
21. Baker, J. A. and Soo, M. S. *Breast US: Assessment of Technical Quality and Image Interpretation. Radiology* 223, 229-238 (2002).
22. Heywang-Kobrunner, S. H., Haustein, J., Pohl, C., et al. *Contrast-enhanced MR Imaging of the Breast: comparison of two different doses of gadopentetate dimeglumine. Radiology* 191,639-646 (1994).
23. Gribbestad, I. S., Nilsen, G., Fjosne, H. E., Kvinnsland, S., Haugen, O. A Rinck, P. A. *Comparative Signal Intensity Measurements in Dynamic Gadolinium enhanced MR Mammography. J. Magn. Reson. Imaging* 4, 477-480 (1994).
24. Orel, S. G., Schnall, M. D., LiVolsi, V. A., and Troupin, R. H. *Suspicious Breast Lesions: MR Imaging with Radiologic-pathologic Correlation. Radiology* 190, 485-93 (1994).
25. Sinha, S. and Sinha, U. *Functional Magnetic Resonance of Human Breast Tumors: Diffusion and Perfusion Imaging. Ann. NY Acad. Sci.* 980, 95-115 (2002).
26. Guo, Y., Cai, Y. Q., Cai, Z. L., et al. *Differentiation of Clinically Benign and Malignant Breast Lesions Using Diffusion-weighted Imaging. J. Magn. Reson. Imaging* 16, 172-178 (2002).
27. Sinha, S., Lucas-Quesada, F. A., Sinha, U., DeBruhl, N., and Bassett, L. W. *In Vivo Diffusion-weighted MRI of the Breast: Potential for Lesion Characterization. J. Magn. Reson. Imaging* 15, 693-704 (2002).

28. Lucas-Quesada FA, Sinha U, Sinha S. Segmentation strategies for breast tumors from dynamic MR images. *J Magn Reson Imaging* 1996; 6:753–763.
29. Gilhuijs KGA, Giger ML, Bick U. Computerized analysis of breast lesions in three dimensions using dynamic magnetic resonance imaging. *Med Phys* 1998; 25: 1647–1654.
30. Kuhl CK, Mielcareck P, Klaschik S, et al. Dynamic breast MR imaging: are signal intensity time course data useful for differential diagnosis of enhancing lesions? *Radiology* 1999; 211:101–110.
31. Orel SG. Differentiating benign from malignant enhancing lesions identified at MR imaging of the breast: are time-signal intensity curves an accurate predictor? *Radiology* 1999; 211:5–7.
32. Sinha S, Lucas-Quesada FA, DeBruhl ND, et al. Multifeature analysis of Gd-enhanced MR images of breast lesions. *J Magn Reson Imaging* 1997; 7:1016–1026.
33. Lucht RE, Knopp MV, Brix G. Classification of signal-time curves from dynamic MR mammography by neural networks. *Magn Reson Imaging* 2001; 19:51–57.
34. Michael A. Jacobs, Peter B. Barker, David A. Bluemke, Cindy Maranto, Cheryl Arnold, Edward H. Herskovits, Zaver Bhujwalla. Benign and Malignant Breast Lesions: Diagnosis with Multiparametric MR Imaging. *Radiology* 2003; 229:225–232
35. Arturo Brunetti, Alfredo Postiglione, Enrico Tedeschi, Andrea Ciarmiello, Mario Quarantelli, Eugenio M. Covelli, Graziella Milan, Michele Larobina, Andrea Soricelli, Antonio Sodano, and Bruno Alfano. Measurement of Global Brain Atrophy in Alzheimer's Disease With Unsupervised Segmentation of Spin-Echo MRI Studies. *Journal of magnetic resonance imaging* 11:260–266 (2000)
36. McKhann G, Drachman D, Folstein M, et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA WorkGroup under the auspices of the Department of Health and Human Service Task Force on Alzheimer's disease. *Neurology* 1984;34:934–944.
37. Blessed G, Tomlinson BE, Roth M. The association between quantitative measures of dementias and senile change in the cerebral grey matter of elderly subjects. *Br J Psychol* 1968;114:797–811.

38. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PRJ. Mini-Mental State. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Psychol Res* 1975;12:189–198.
39. Reisberg B, Ferris RH, de Leon MJ, Crook T. The global deterioration scale for the assessment of primary degenerative dementia. *Am J Psychol* 1982;139: 1136–1139.
40. Hamilton M. Development of a rating scale for primary depressive illness. *J Soc Clin Psychol* 1967;6:278–296.
41. Guangliang Ding, Quan Jiang, Lian Lia, Li Zhang, Zheng Gang Zhang, Hamid Soltanian-Zadeh, Qingjiang Li, Polly A. Whitton, James R. Ewing, Michael Chopp. Characterization of cerebral tissue by MRI map ISODATA in embolic stroke in rat. Elsevier; *Brain Research* (2006) 202-209.
42. Michael A. Jacobs, Zheng G. Zhang, Robert A. Knight, Hamid Soltanian-Zadeh, Anton V. Goussev, Donald J. Peck and Michael Chopp. A Model for Multiparametric MRI Tissue Characterization in Experimental Cerebral Ischemia With Histological Validation in Rat: Part 1. *Stroke* 2001;32:943-949
43. Guangliang Ding, Quan Jiang, Li Zhang, Zhenggang Zhang, Robert A. Knight, Hamid Soltanian-Zadeh, Mei Lu, James R. Ewing, Qingjiang Li, Polly A. Whitton, Michael Chopp Multiparametric ISODATA analysis of embolic stroke and rt-PA intervention in rat. *Journal of the Neurological Sciences* 223 (2004), 135– 143
44. Michael A. Jacobs, Panayiotis Mitsias, Hamid Soltanian-Zadeh, Sunitha Santhakumar, Amir Ghanei, Rabih Hammond, Donald J. Peck, Michael Chopp and Suresh Patel. Multiparametric MRI Tissue Characterization in Clinical Stroke With Correlation to Clinical Outcome: Part 2. *Stroke*; 2001;32:950-957
45. Tong DC, Yenari MA, Albers GW, O'Brien M, Marks MP, Moseley ME. Correlation of perfusion- and diffusion-weighted MRI with NIHSS score in acute (<6.5 hour) ischemic stroke. *Neurology*. 1998;50:864–870.
46. Yuh WT, Crain MR, Loes DJ, Greene GM, Ryals TJ, Sato Y. MR imaging of cerebral ischemia: findings in the first 24 hours. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1991;12:621– 629.

47. Allegrini PR, Sauer D. Application of magnetic resonance imaging to the measurement of neurodegeneration in rat brain: MRI data correlate strongly with histology and enzymatic analysis. *Magn Reson Imaging*. 1992;10:773–778.
48. Quast MJ, Huang NC, Hillman GR, Kent TA. The evolution of acute stroke recorded by multimodal magnetic resonance imaging. *Magn Reson Imaging*. 1993;11:465–471.
49. Sauer D, Allegrini P, Cosenti A, Pataki A, Amacker H, Fagg G. Characterization of the cerebroprotective efficacy of the competitive NMDA receptor antagonist CGP40116 in a rat model of focal cerebral ischemia: an in vivo magnetic resonance imaging study. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1993;13:595–602.
50. Panayiotis D, Mitsias, Michael A. Jacobs, Rabih Hammoud, Mamatha Pasnoor, Sunitha Santhakumar, Nikolaos I.H. Papamitsakis, Hamid Soltanian-Zadeh, Mei Lu, Michael Chopp and Suresh C. Patel. Multiparametric MRI ISODATA Ischemic Lesion Analysis: Correlation With the Clinical Neurological Deficit and Single-Parameter MRI Techniques. *Stroke*. 2002;33:2839-2844
51. Panayiotis D, Mitsias, James R. Ewing, Mei Lu, Mohammed M. Khalighi, Mamatha Pasnoor, Hassan B. Ebadian, Qingming Zhao, Sunitha Santhakumar, Michael A. Jacobs, Nikolaos Papamitsakis, Hamid Soltanian-Zadeh, David Hearshen, Suresh C. Patel, and Michael Chopp. Multiparametric Iterative Self-Organizing MR Imaging Data Analysis Technique for Assessment of Tissue Viability in Acute Cerebral Ischemia *AJNR Am J Neuroradiol* 25:1499–1508, 2004
52. Geoffrey H. Ball And David J. Hall. ISODATA, a novel method of data analysis and pattern classification. Stanford research institute, Menlo Park, California, 1965.
53. Michael A. Jacobs, Robert A. Knight, Hamid Soltanian-Zadeh, Zhang G. Zheng, Anton V. Goussev, Donald J. Peck, Joe P. Windham and Michael Chopp. Unsupervised Segmentation of Multiparameter MRI in Experimental Cerebral Ischemia With Comparison to T2, Diffusion, and ADC MRI Parameters and Histopathological Validation. *Journal of magnetic resonance imaging* 11:425–437 (2000)
54. Geoffrey H. Ball And David J. Hall. A clustering technique for summarizing multivariate data. Stanford research institute, Menlo Park, California, 1966.

55. Anderson LJ, Holden S, Davis B, et al. Cardiovascular T2-star magnetic resonance for the early diagnosis of myocardial iron overload. *Eur Heart J* 2001; 22:2171-2179