



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PALERMO

Dottorato di Ricerca in
Medicina Molecolare e Clinica

Identificazione ed Ottimizzazione del Target di Trattamento
Mediante Parcellizzazione Talamica Basata su Tecniche di Risonanza
Magnetica Avanzate Applicata a Procedure di Talamotomia Trans-Cranica
Tramite Ultrasuoni Focalizzati Guidati da Risonanza Magnetica

Coordinatore:

Prof. Antonino Tuttolomondo

Dottoranda:

Eleonora Bruno

Tutor:

Prof. Cesare Gagliardo

INDICE

(Segnaposto1)

1. PREMESSA	4
1.1 Talamotomia ad Ultrasuoni Focalizzati guidati da Imaging di Risonanza Magnetica Nucleare per il trattamento dei tremori essenziali	8
1.2 DTI-Diffusion Tensor Imaging	15
1.3 Trattografia	24
2. SCOPO DELLO STUDIO	34
3. MATERIALI E METODI	35
3.1 Protocollo MRI	36
3.2 Procedura tcMRgFUS	37
3.3 software utilizzati per l'analisi dati	43
4. RISULTATI	48
4.1 parcellizzazione talamica	48
Segmentazione della corteccia cerebrale.....	48
Analisi di trattografia probabilistica.....	52
Individuazione delle regioni nel talamo	54
4.2 Studio retrospettivo per la verifica della posizione del target	56
Analisi delle dimensioni delle lesioni indotte durante il trattamento	60
Analisi delle dimensioni della regione individuata dalla parcellizzazione talamica e dell'overlap con la lesione post-trattamento	64
Analisi delle correlazioni dei risultati delle analisi precedenti con gli outcome clinici.....	68
Analisi dell'overlap della regione individuata dalla parcellizzazione talamica con la lesione post-trattamento includendo anche il nucleo dentato	72
5. DISCUSSIONE	75

6. LIMITAZIONI DELLO STUDIO76

7. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE76

8. BIBLIOGRAFIA80

1. PREMESSA

La talamotomia trans-cranica tramite ultrasuoni focalizzati guidati da risonanza magnetica (tcMRgFUS) è una metodica, sebbene chirurgica, assolutamente non invasiva, in quanto si basa infatti sull'impiego di ultrasuoni ad alta frequenza che vengono focalizzati nel target terapeutico mediante un trasduttore curvo posto sul cranio del paziente. L'effetto che ne deriva è un surriscaldamento del tessuto cerebrale tale da indurre un'ablazione termica focale generando così millimetriche lesioni. La risonanza magnetica (MRI) permette di definire il target, pianificare il trattamento, calibrare la quantità di energia erogata e misurare la temperatura raggiunta a livello del tessuto cerebrale. Tale procedura, ad oggi, è una valida scelta, riconosciuta e certificata dall'FDA, per il trattamento di disturbi del movimento, primo fra tutti il tremore essenziale (TE).

Il TE, sebbene non abbia influenza sull'aspettativa di vita dei pazienti, è una condizione neurologica cronica altamente invalidante che nel nostro Paese colpisce circa 400.000 individui; chi ne soffre, è affetto da un tremore continuo di uno o più arti (più spesso della mano), e meno diffusamente, del collo, del busto e delle gambe. Ancora oggi, il trattamento chirurgico elettivo per questi pazienti è rappresentato dalla *Deep Brain Stimulation (DBS)*, che si basa sull'inserimento, attraverso un'incisione del cranio, di elettrodi che inviano impulsi elettrici al talamo alterando il cortocircuito neuronale da cui si pensa abbia origine il tremore. La DBS è estremamente invasiva e, attualmente, non sempre è affiancata da una guida intraprocedurale e, quindi,

la riuscita del trattamento è basata sulle abilità del neurochirurgo nell'individuare la regione del talamo in cui effettuare l'impianto.

La *tcMRgFUS* permette, invece, in maniera non invasiva (a tavolo cranico intatto), di raggiungere con precisione millimetrica bersagli delle zone più profonde del cervello, come il talamo. Inoltre, durante tutta la procedura il paziente è sveglio ed un suo feedback, riportato tra una sonicazione e la successiva, è fondamentale per identificare il target lesionale migliore per il controllo dei sintomi oltre che per individuare tempestivamente eventuali complicanze prima di effettuare ablazioni irreversibili. Tutto ciò permette l'esecuzione del trattamento a paziente vigile e cosciente, senza ausilio di alcun tipo di anestesia (se non quella locale in fase di posizionamento del casco stereotassico), caratteristica di primaria importanza quando si opera l'encefalo poiché anche un minimo errore di localizzazione della sede da operare può creare gravi e irreversibili lesioni con successiva invalidità del paziente. Il dispositivo che viene utilizzato per il trattamento prevede l'uso di un casco stereotassico in cui sono presenti dei trasduttori piezoelettrici che modulano la potenza del fascio e focalizzano gli ultrasuoni nella zona da ablate, che nel caso dei pazienti affetti da TE è rappresentato da un'area all'interno del talamo.

Il talamo rappresenta un centro di fondamentale importanza per il controllo degli stimoli sensitivi e della motilità volontaria a causa delle sue numerose connessioni corticali e sottocorticali svolgendo un ruolo fondamentale in diverse patologie neurologiche, come i disordini del movimento, tra cui il tremore essenziale.

L'anatomia strutturale talamica è estremamente complessa, in relazione alla presenza

di numerosi nuclei con funzioni e connessioni cerebrali altamente specifiche ed in particolare, tra i vari nuclei talamici, il nucleo ventrale intermedio (ventral intermediate nucleus, VIM) rappresenta il principale target terapeutico per il trattamento chirurgico dei pazienti affetti da TE, con le sue connessioni con la corteccia motoria e con il nucleo dentato del cervelletto attraverso le vie extrapiramidali. Attualmente, la procedura risulta essere piuttosto lunga poiché inizialmente la regione del VIM da colpire viene individuata attraverso atlanti di anatomia stereotassica. Il punto preciso e definitivo viene invece trovato basandosi sul *feedback* dato dal paziente durante la procedura.

Il trattamento mediante tcMRgFUS ad oggi consta di:

1. fase di pianificazione, dove si stabilisce il target di trattamento basandosi su coordinate stereotassiche standard;
2. fase di allineamento del fascio HIFU, mediante sonicazioni a bassa potenza e di breve durata con raggiungimento di una temperatura massima nel target di 40-45°C (range sub-ablativo);
3. fase di verifica ed ottimizzazione del target di trattamento, mediante l'utilizzo di fasci HIFU con potenze intermedie e raggiungimento di temperature di 45-50°C nell'area target, volte a indurre uno stupor neuronale transitorio che consente di valutare in tempo reale, dopo ogni sonicazione, gli effetti clinici o eventuali effetti collaterali;
4. fase di trattamento, mediante sonicazioni ad alta potenza con picchi di temperatura superiori a 50°C che consentono di creare la lesione definitiva tramite termoablazione con conseguente stabilizzare dell'effetto terapeutico.

La scelta del target di ablazione rappresenta il punto cruciale del trattamento; in relazione alla variabilità anatomica talamica interindividuale, il target potrebbe potenzialmente discostarsi dalle coordinate stereotassiche convenzionali, senza considerare, inoltre, che nella pratica clinica la pianificazione, che consente una prima identificazione del target, e la verifica, che ne permette la calibrazione in funzione dei feedback del paziente, rappresentano le fasi più delicate e del trattamento con una durata della procedura che mediamente può variare da 2 a 4 ore.

Pertanto, l'obiettivo di questo progetto di ricerca è volto allo sviluppo ed all'implementazione di un protocollo di individuazione predittiva del target, al fine di ridurre nettamente il tempo di identificazione e di verifica del target lesionale e conseguentemente la durata del trattamento. Si è cercato di soddisfare quell'esigenza di medicina personalizzata, cioè adattata alle variabilità individuali di ogni singolo paziente; a tal proposito, sono state realizzate analisi di trattografia probabilistica per mezzo delle quali sono stati ricostruiti i fasci di fibre che arrivano al VIM, processo che prende il nome di parcellizzazione talamica.

Infine, è stata condotta un'analisi retrospettiva sui dati dei pazienti con TE già sottoposti al trattamento tcMRgFUS presso l'Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico di Palermo. È stata stimata l'intersezione tra il target individuato tramite la parcellizzazione talamica e la sede della lesione post-trattamento.

Successivamente, considerando i risultati clinici ottenuti sui pazienti con tremore essenziale trattati con tcMRgFUS, il grado di sovrapposizione tra il target individuato con la parcellizzazione talamica e la lesione è stato correlato con l'esito del trattamento.

Questo lavoro risulta fondamentale per l'obiettivo che l'equipe sanitaria (medici e fisici medici) coinvolta si pongono sul medio e lungo termine e cioè l'utilizzo della procedura qui sviluppata con finalità predittive per una più rapida ed accurata identificazione del target.

1.1 Talamotomia ad Ultrasuoni Focalizzati guidati da Imaging di Risonanza Magnetica Nucleare per il trattamento dei tremori essenziali

La terapia chirurgica mediante ultrasuoni focalizzati guidati da risonanza magnetica (Magnetic Resonance guided Focused Ultrasounds Surgery - MRgFUS) è una tecnica di termoablazione non invasiva che si sta sempre più diffondendo come valida metodica alternativa o complementare ad altre opzioni terapeutiche convenzionali quali la chirurgia, la radiochirurgia, l'ablazione con radiofrequenze, laser o microonde, e la crioablazione [1].

L'tcMRgFUS combina il dettaglio anatomico e il monitoraggio termico in tempo reale della risonanza magnetica (MRI) con il potere ablativo degli ultrasuoni focalizzati ad alta intensità (High Intensity Focused Ultrasounds - HIFU) [1; 2]. Questi sono in grado di depositare, nel punto in cui vengono fatti convergere, una quantità di energia tale da indurre un aumento di temperatura locale con conseguente termoablazione del tessuto bersaglio.

Grazie all'utilizzo di nuovi trasduttori HIFU phased-array ed algoritmi in grado di correggere la fase dei singoli elementi dei trasduttori HIFU, oggi è possibile

focalizzare un fascio HIFU attraverso il tavolo cranico integro con precisione sub-millimetrica.

Le terapie basate sugli HIFU hanno dimostrato il loro grande potenziale sin dalla loro iniziale scoperta e sperimentazione negli anni 40', quando venne eseguita la prima ablazione mirata ad aree cerebrali di mammiferi [3] e solo un decennio dopo iniziarono le prime applicazioni sperimentali per il trattamento di disturbi del movimento, disturbi psichiatrici e tumori cerebrali [4; 5; 6]

L'avvento della Risonanza Magnetica nella pratica clinica comune ha permesso di dare un'importante svolta a questa metodica, rendendola di fatto non invasiva; fino ad allora, infatti, le fasi preliminari alla somministrazione delle HIFU era necessaria una craniectomia per convogliare gli ultrasuoni focalizzati direttamente nel parenchima cerebrale. Inizialmente, comunque, il più grande limite della metodica rimaneva proprio la focalizzazione degli ultrasuoni all'interno della scatola cranica, in quanto lo scalpo, soprattutto attraverso le ossa del tavolo cranico, devia e altera notevolmente la propagazione degli ultrasuoni: processi di attenuazione, aberrazione e assorbimento possono ridurre in modo sostanziale il rilascio di calore nel punto desiderato. Questo limite ad oggi è stato in parte superato grazie all'utilizzo di nuovi e più potenti trasduttori HI-FU phased array allocati all'interno di un casco dedicato (figura 1), dotato di un apposito sistema di raffreddamento in modo da fornire abbastanza energia termica in un focus piccolo e nitido attraverso cute e cranio intatto direttamente alle strutture cerebrali profonde per indurre un'ablazione termica controllata [7].

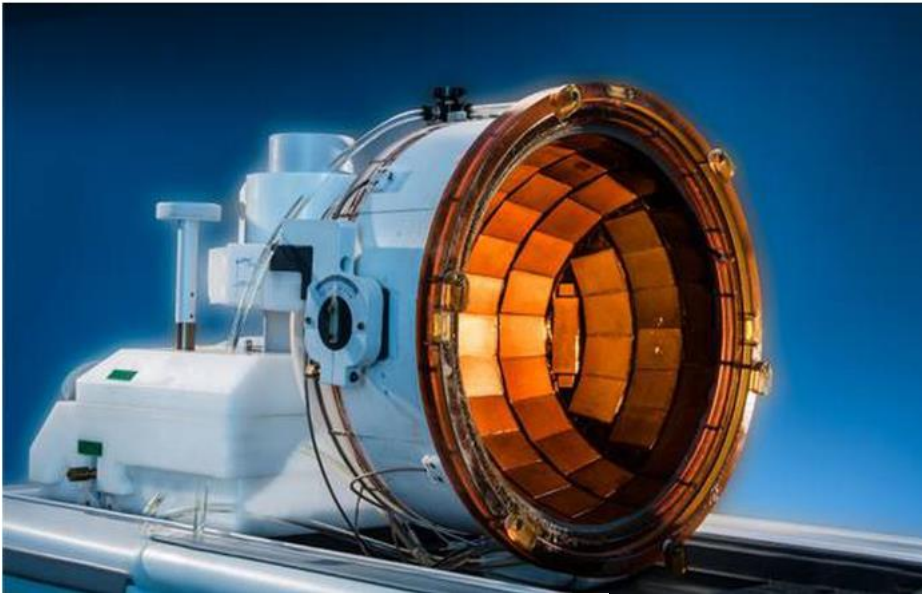


Figura 1: Casco utilizzato per la terapia MRgFUS

L' MRI risulta inoltre utile per il monitoraggio termico della zona colpita: grazie all'introduzione della termometria a spostamento della frequenza di risonanza protonica (PRF), infatti, è possibile monitorare il rilascio di energia nell'area bersaglio e nei tessuti circostanti oltre che modulare l'erogazione di energia acustica [8; 9].

La MRI, dunque, grazie ad apposite sequenze, consente di effettuare il calcolo in tempo reale di mappe termiche dell'area sottoposta al trattamento [10].

Il risultato è una metodica ablativa non invasiva sicura ed efficace.

Per generare danni permanenti (denaturazione delle proteine e necrosi coagulativa), è infatti necessario che un tessuto raggiunga una certa soglia termica; se questa non viene superata, il tessuto esposto agli HI-FU tenderà a recuperare vitalità.

Gli effetti indotti dal fascio di ultrasuoni focalizzati sono di due tipi, termici e meccanici. Il danno termico subito dalle cellule dipende dalla temperatura, quindi a

diversi range di temperatura corrispondono diverse reazioni dei tessuti colpiti, in particolare (figura 2):

- fino a 40°C l'omeostasi cellulare non risulta compromessa;
- da 42°C a 45°C si ha ipertermia moderata: le cellule non subiscono veri e propri danni, ma diventano più sensibili ad eventuali attacchi chimici o radioattivi;
- a 46°C si iniziano ad osservare danni irreversibili alle cellule;
- da 50°C a 52°C aumenta la velocità con cui le cellule vanno incontro a morte cellulare;
- da 60°C a 100°C si assiste all'irreversibile denaturazione delle proteine, che provoca nel giro di pochi giorni la necrosi coagulativa delle cellule coinvolte;
- oltre i 105°C l'acqua evapora con conseguente vaporizzazione della cellula e sua successiva carbonizzazione.

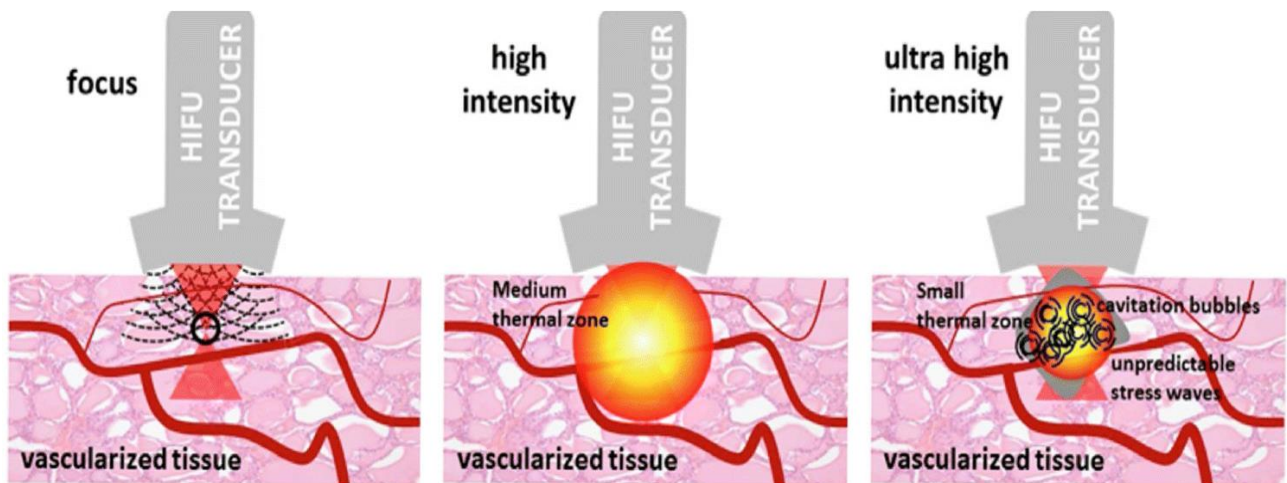


Figura 2: Progressivo aumento del danno all'aumentare della temperatura

L'obiettivo dell'applicazione degli HIFU come terapia ablativa è quindi quello di raggiungere una temperatura al di sopra dei 50°C e di mantenerla in tutto il volume da trattare fintanto che non si è raggiunta la necrosi [11].

La tcMRgFUS, utilizzando la MR per il planning e il monitoraggio “*live*” della procedura, rappresenta una metodica con un altissimo profilo di sicurezza. A differenza di altre tecniche neurochirurgiche convenzionali, quali la stimolazione cerebrale profonda (Deep Brain Stimulation - DBS) o le radiofrequenze (RF), la tcMRgFUS non è una metodica invasiva, ha rischi virtualmente inesistenti di complicanze quali emorragie e/o infezioni e non richiede lunghe degenze post-trattamento (nella nostra esperienza non si sono registrate complicanze intra- e post-procedurali e la dimissione è avvenuta tra le 24 e le 48h successive al trattamento). Rispetto ad altre tecniche non invasive come la radiocirurgia (CyberKnife), non si utilizzano radiazioni ionizzanti, il beneficio clinico è immediato e duraturo ed è possibile ottimizzare il target del trattamento rispetto alle comuni coordinate degli atlanti stereotassici caso per caso grazie al feedback del paziente durante le sonicazioni a più bassa energia prima di indurre una lesione cerebrale permanente.

La prima apparecchiatura sul territorio nazionale per trattamenti tcMRgFUS (sistema ExAblate 4000, InSightec Ltd. - Haifa, Israel) è stata installata presso la Sezione di Scienze Radiologiche dell'AOUP Giaccone di Palermo nel contesto del Programma Operativo Nazionale 2007-3013 (PONa3_00011) che vede come capofila il Dipartimento di Scienze Radiologiche, Oncologiche e Anatomico-Patologiche della Sapienza Università di Roma. Si tratta, inoltre, della prima

apparecchiatura in assoluto mai installata su un comune scanner MR da 1.5T (Signa HDxt, GE Medical System - Milwaukee, Wisconsin, USA); nei pochi altri centri in cui si effettuano trattamenti tcMRgFUS, vengono infatti utilizzati scanner MR da 3.0T [17-19] [12; 13].

Le applicazioni più diffuse – alcune delle quali già certificate dalla CE e dall'FDA per l'uso clinico – di questa promettente tecnica sono la palliazione del dolore da metastasi ossee [14], il trattamento dell'osteoma osteoide [15] e dei fibromi uterini sintomatici [16; 17]

In ambito neurologico, ad oggi, le uniche indicazioni approvate dalla FDA per la MRgFUS sono la talamotomia per il tremore essenziale (ET) e il tremore dominante PD (TDPD), utilizzando il sistema ExAblate 4000 ad alta frequenza di tipo 1 (InSightec, Haifa, Israele) (Figura 3).

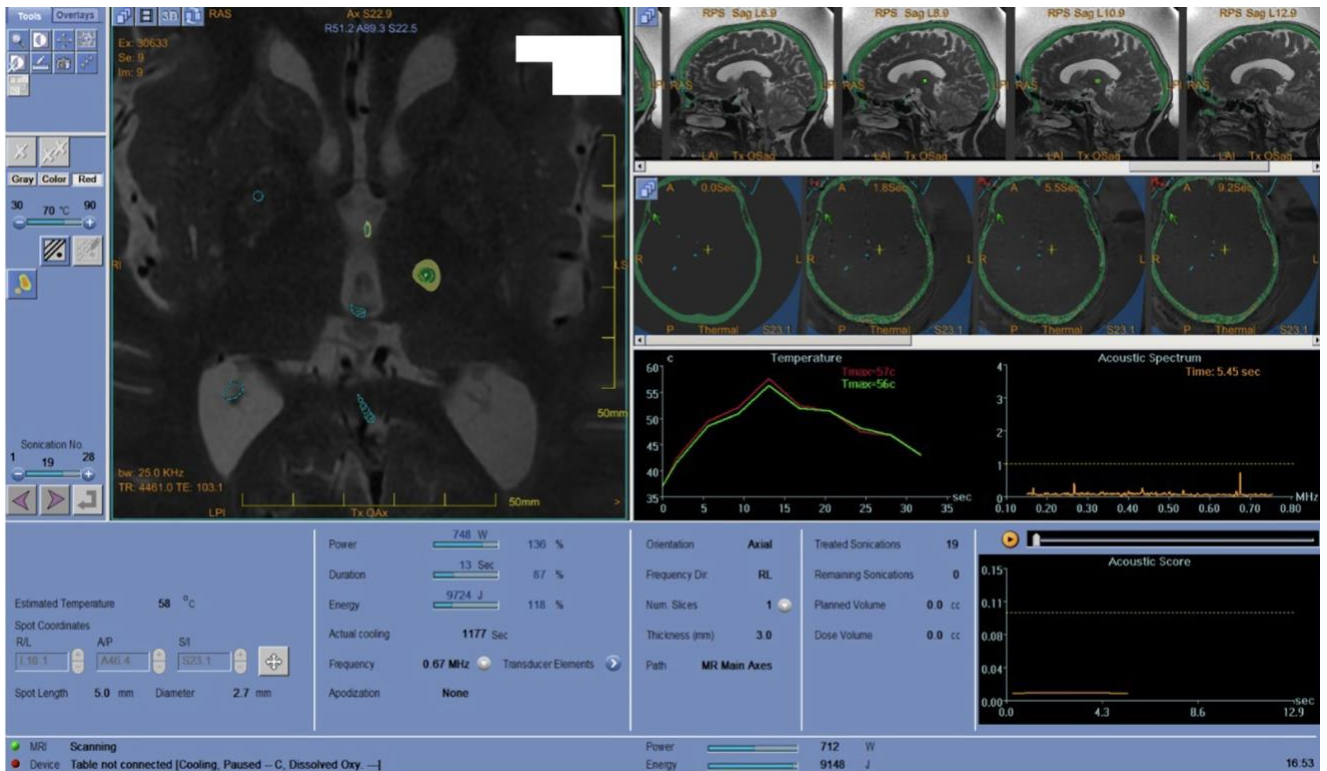


Figura 3: ExAblate Neuro workstation and treatment

In Europa lo stesso sistema è stato approvato CE per l'ablazione termica di bersagli nelle regioni del talamo, del sottotalamo e del pallido del cervello con le seguenti indicazioni: Tremori essenziali, Tremore dominante Idiopatico Morbo di Parkinson, Dolore unilaterale e neuropatico. (Tabella 1)

PATOLOGIA	Certificazione CE	Applicazioni sperimentali
Tremore essenziale	✓	

Parkinson idiopatico unilaterale prevalentemente tremorigeno	✓	
Dolore neuropatico	✓	✓
Nevralgia trigeminale		✓
Ictus cerebrale emorragico		✓
Tumori cerebrali		✓
Drug delivery		✓

Tabella 1. tcMRgFUS: applicazioni certificate e principali applicazioni sperimentali.

1.2 DTI-Diffusion Tensor Imaging

Dall'inizio degli anni '90, grazie a Peter Basser [18; 19] è stato introdotto un nuovo tipo di imaging di risonanza magnetica, chiamato Diffusion Tensor Imaging o DTI, che sfrutta i fenomeni diffusivi per ottenere informazioni spaziali sulle strutture encefaliche. Prima dell'introduzione del modello del tensore di diffusione, per misurare la diffusione anisotropica era necessario conoscere l'orientamento degli assoni in un campione di tessuto, quindi potevano essere scansionati solo campioni fissi come l'assone del calamaro gigante [20]. L'introduzione del modello del tensore di diffusione ha consentito, per la prima volta, una descrizione della diffusività delle molecole di acqua lungo i tre assi. Tale progresso ha consentito l'applicazione del metodo DTI all'anatomia complessa dei tratti di fibre nel cervello umano [21].

La diffusione molecolare è un fenomeno legato al movimento di traslazione delle molecole presenti in un fluido secondo un gradiente (di concentrazione, pressione,

temperatura). Il risultato è un moto disordinato in cui le direzioni delle traiettorie non sono prevedibili, principio che si basa sulla teoria del moto browniano di Albert Einstein. (Figura 4)

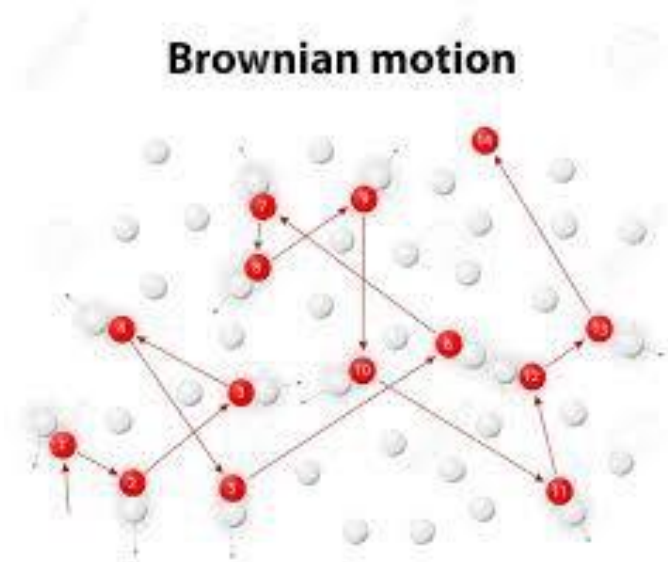


Figura 4: Moto browniano di una particella all'interno di uno spazio contenente altre particelle.

Da questo moto disordinato, è però possibile prevedere lo spostamento quadratico medio compiuto dalla particella rispetto a una posizione originale in un tempo TD , secondo la formula:

$$\langle r^2 \rangle = 2D TD$$

Ed in particolare, lo spostamento quadratico medio (mm) è direttamente proporzionale al tempo di diffusione $TD(s)$ e al coefficiente di diffusione $D (mm^2/s)$,

definito dalla relazione di Stokes-Einstein che valuta il caso di una particella sferica immersa in un fluido viscoso.

$$D = \mu K_B T = \frac{K_B}{6\pi r_P \eta} T$$

dove μ è la mobilità della particella, inversamente proporzionale al raggio della particella r_P e alla viscosità del mezzo η , K_B è la costante di Boltzmann ($1,38054 \times 10^{-23} \text{ Joule/K}$) e T è la temperatura assoluta (gradi Kelvin). Prendendo ora in considerazione l'acqua libera a 37° , questa ha un valore di coefficiente di diffusione pari a $3 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$; tuttavia, a causa delle barriere fisiologiche presenti nel nostro corpo, come le membrane cellulari e le fibre stesse, la mobilità delle molecole d'acqua potrebbe essere vincolata, con conseguente decremento del valore di coefficiente di diffusione D . Risulta quindi evidente come tale coefficiente sia legato all'integrità e funzionalità stessa dei tessuti e di conseguenza possa fornire informazioni su possibili deformazioni patologiche, ma ancor prima della patologia, come esso dipenda e cambi in funzione della variabilità anatomica fisiologica di ogni individuo (principio su cui pone le basi il nostro progetto di ricerca).

Se la diffusione è isotropa (cioè tutte le direzioni di diffusione sono equamente probabili), la probabilità di trovare una particella nel punto x in un tempo prestabilito è descritta da una distribuzione di Gauss, secondo la quale risulta impossibile individuare una direzione preferenziale del moto della particella, di conseguenza il moto viene caratterizzato da un unico valore del coefficiente di diffusione D , uguale in tutte le tre direzioni.

Un esempio di una molecola che compie un moto diffusivo è una molecola d'acqua che si muove nel mezzo di un recipiente pieno d'acqua.

Se il moto diffusivo delle molecole non è libero in tutte le direzioni dello spazio, ma vincolato, allora si parla di diffusione anisotropa. I vincoli imposti dall'ambiente impongono una direzione preferenziale al moto della particella, e quindi un valore maggiore di D in quella direzione.

Nel caso di diffusione anisotropa non è più sufficiente un solo valore di D per caratterizzare il moto della particella, bensì è necessario calcolare un tensore di diffusione [22] che rappresenti l'andamento della diffusione nelle tre direzioni dello spazio (Figura 5).

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

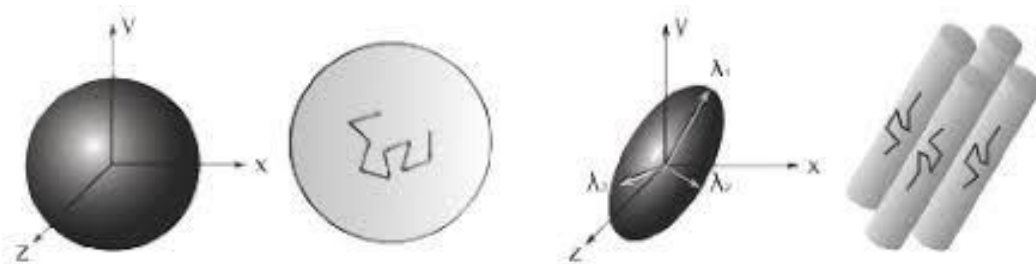


Figura 5: Confronto tra diffusione isotropa (a sinistra) e diffusione anisotropa (a destra).

Per quanto concerne le analisi condotte nel presente progetto di ricerca, bisogna considerare che le immagini ottenute e analizzate sono immagini anatomiche encefaliche e di conseguenza la diffusione delle molecole d'acqua sarà anisotropa in quanto avverrà principalmente lungo la direzione principale di estensione delle fibre nervose, come mostrato in figura 6.

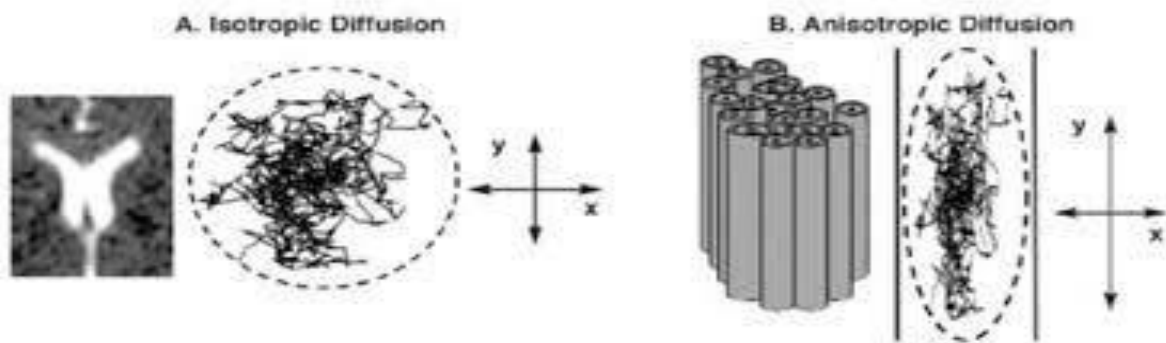


Figura 6: Confronto tra diffusione isotropa (a sinistra) nei ventricoli cerebrali in cui è presente una soluzione acquosa omogenea e diffusione anisotropa lungo la direzione delle fibre nervose (a destra).

Il tensore di diffusione è una matrice simmetrica 3x3, quindi è sufficiente ricavare solo sei parametri per costruirla. In questo modo, sarà possibile rappresentare l'anisotropia direzionale della diffusione attraverso i cosiddetti ellissoidi di diffusione (figura 7), il cui asse principale rappresenta la direzione con più alto coefficiente di

diffusione delle fibre nervose, ovvero la direzione sulla quale si estendono in quella zona [23].

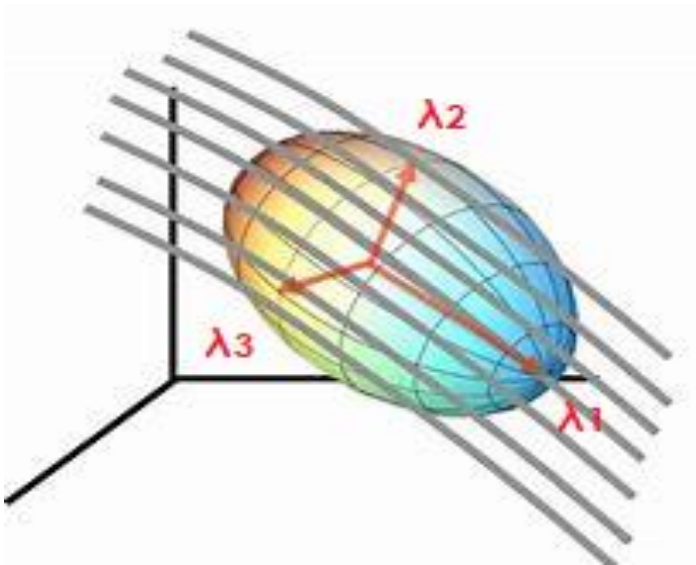


Figura 7: Ellissoide ottenuto in caso di diffusione anisotropa, λ_1 , λ_2 , λ_3 sono gli autovalori del tensore di diffusione.

Poichè il tensore di diffusione è simmetrico e necessita di soli sei parametri indipendenti per essere codificato, in fase di acquisizione sono necessarie almeno sei acquisizioni con differenti direzioni di gradienti di diffusione per poterlo ricostruire. Per ridurre il rumore comunque presente nelle acquisizioni delle immagini in diffusione, si preferisce utilizzare un numero maggiore di direzioni gradienti di diffusione in modo da rendere più accurata la ricostruzione del tensore di diffusione.

Come per le immagini MRI anche quelle pesate in diffusione possono sfruttare parametri di contrasto diversi, di cui i più utilizzati sono la Fractional Anisotropy (o FA) e la Mean Diffusivity (o MD). La prima rappresenta una media pesata della

diffusività lungo le tre direzioni spaziali, mentre la seconda è una media aritmetica dei coefficienti di diffusione lungo X, Y, Z (Figura 8).

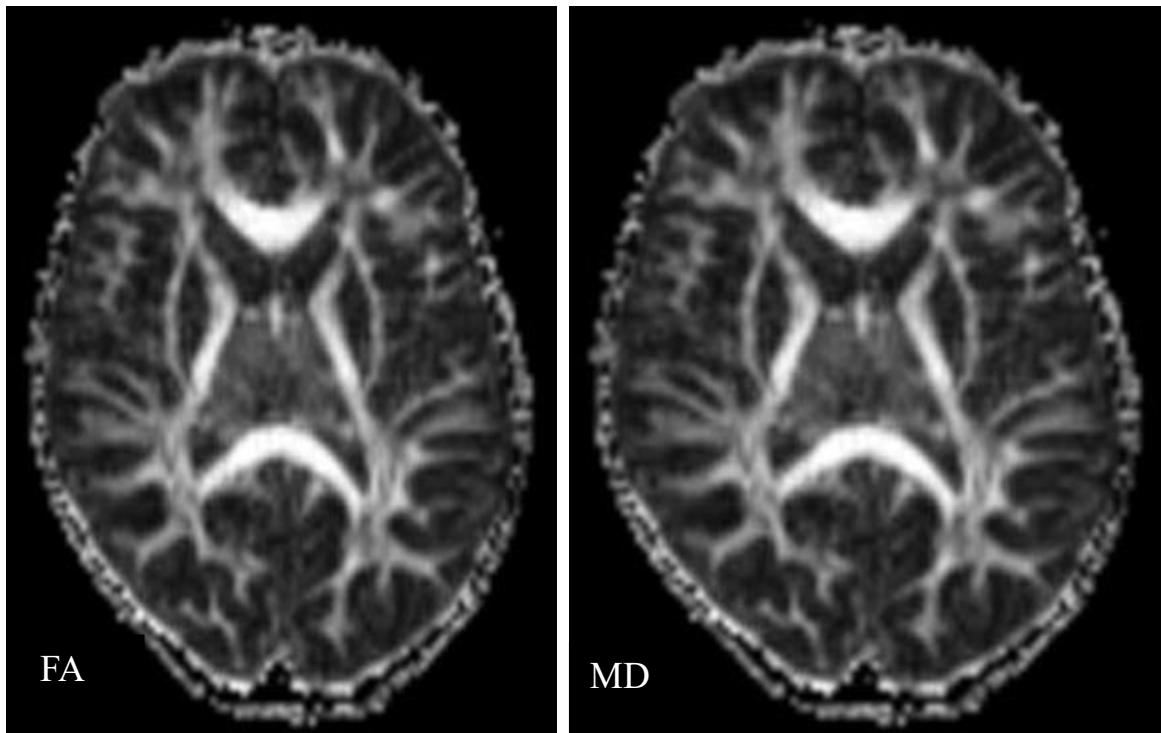


Figura 8: Confronto tra immagini FA ed MD.

Nelle immagini FA è possibile associare un codice di colore alle diverse direzioni di diffusione in modo da ottenere informazioni sulla direzione di diffusione anche guardando una singola slice (figura 9).

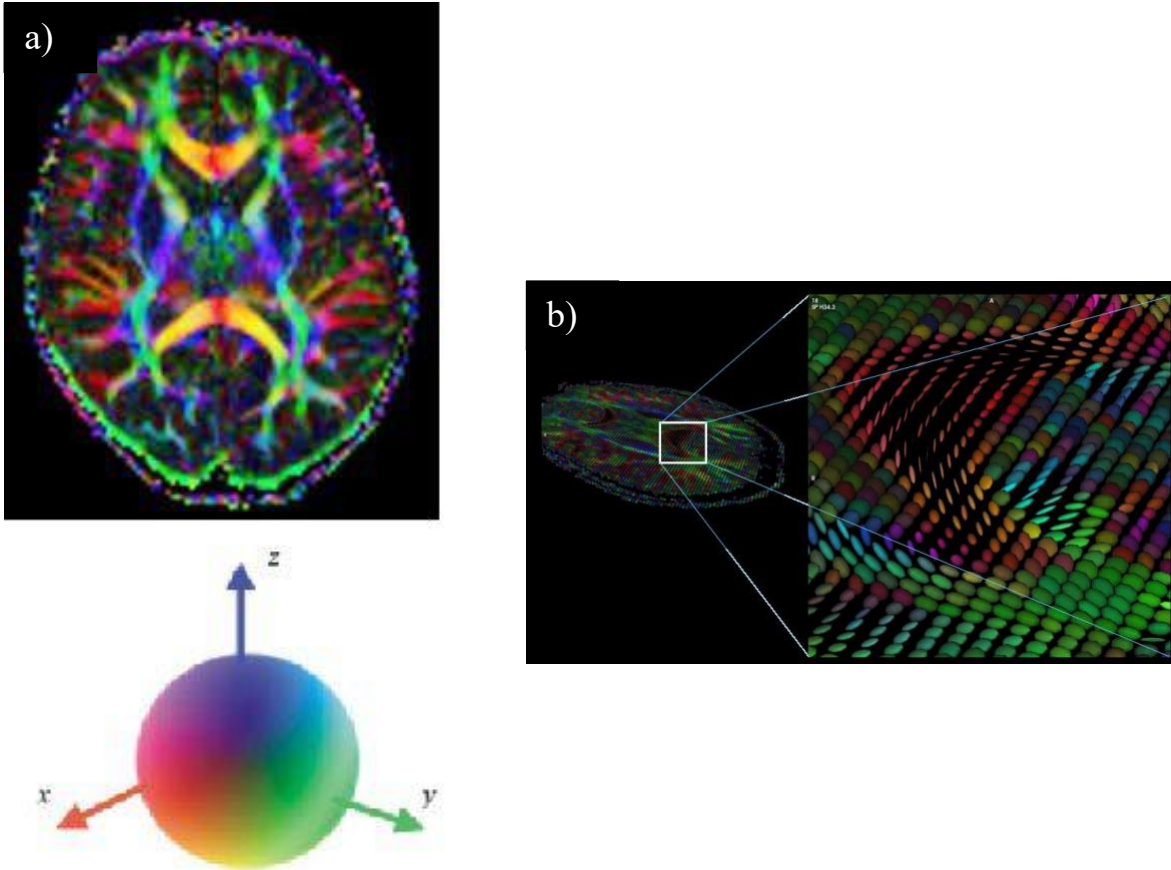


Figura 9: a) Immagine FA con codice di colore direzionale, b) stessa immagine FA con codice di colore ma con rappresentazione degli ellissoidi di diffusione.

Tuttavia, i valori tipici delle dimensioni dei voxel ottenuti tramite DTI sono dell'ordine del millimetro, mentre le dimensioni degli assoni che costituiscono le fibre nervose sono dell'ordine di qualche micron. Da ciò ne deriva che all'interno di

ogni voxel è presente un numero enorme di fibre nervose, che in certi punti possono incrociarsi o cambiare repentinamente direzione (figura 10).

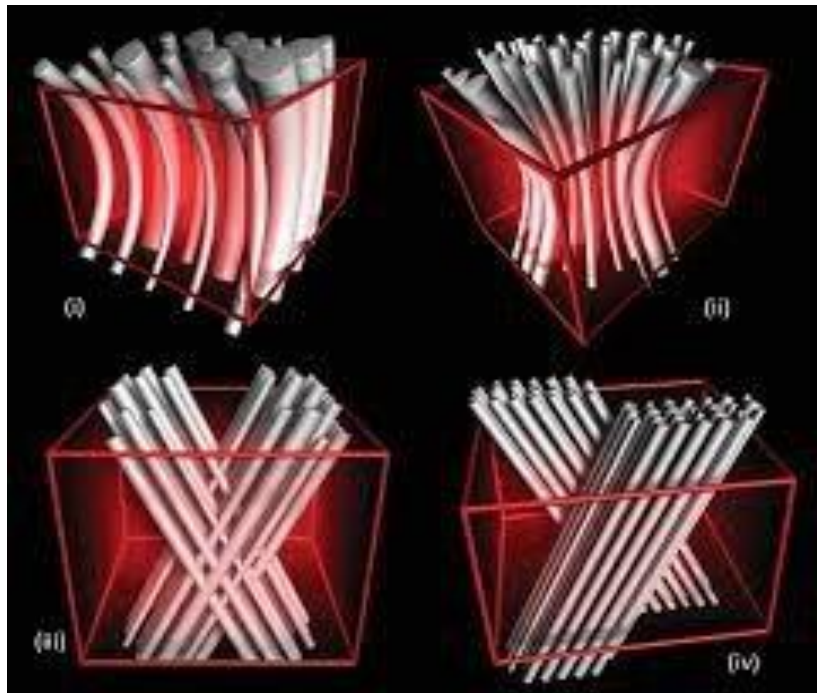


Figura 10: particolare sulla direzione delle fibre nervose (in alto) e incroci tra fibre (in basso) che non possono essere identificati all'interno di un voxel.

Per ovviare a questo problema di risoluzione spaziale possono essere utilizzate delle indagini trattografiche.

In conclusione, possiamo affermare che il DTI è un potente strumento non invasivo che aiuta l'equipe clinico-neuroradiologica per lo studio della complessa architettura del sistema nervoso. Le misure scalari determinate con la DTI, come MD ed FA, sono state utilizzate per studiare una vasta gamma di condizioni neurologiche che

comprendono: stroke [24-27], tumori, varie malattie come la demenza, la sclerosi multipla, la sclerosi laterale amiotrofica e la malattia di Alzheimer [28] e i disturbi psichiatrici come schizofrenia [29]. Inoltre, la DTI è stata utilizzata ampiamente per studiare lo sviluppo del cervello [30] e l'invecchiamento [31; 32]

Anche se il sistema nervoso centrale è il principale oggetto di studi per la maggior parte delle applicazioni DTI, questa tecnica è stata applicata con successo in altri tipi di tessuti fibrosi, come muscolo cardiaco [33], il muscolo scheletrico [34] e per alcuni tessuti vegetali [35].

1.3 Trattografia

I dati di diffusione sono uno strumento imprescindibile per indagare la morfologia e quindi la funzionalità dei tessuti; tuttavia, se parliamo di encefalo, e soprattutto di sostanza bianca, per studiarne la funzionalità è necessaria un'analisi della connettività strutturale, ossia una valutazione dei possibili pathway (ossia le connessioni assoniche) che connettono le diverse regioni cerebrali, senza che questa implichi l'adozione di tecniche invasive.

La visualizzazione dei diversi fasci di fibre è possibile a partire dai dati di diffusione sfruttando le informazioni legate alle ellissoide di diffusione. Infatti, come già è stato osservato, la direzionalità del processo diffusivo riflette l'orientamento degli assoni e delle fibre cerebrali, ed è quindi assumibile che le fibre siano orientate parallelamente alla direzione principale di diffusione, ed è proprio su questi assunti che si basa la tecnica trattografica, o di fiber tracking: collegando i voxel in base alla

loro anisotropia e alla loro direzione principale di diffusione, è possibile costruire immagini dei principali fasci della sostanza bianca.

La tecnica della Trattografia, anche nota come Fiber Tracking, consiste in una ricostruzione virtuale tridimensionale della struttura dei fasci di fibre cerebrali partendo dalle immagini DTI. La grande innovazione della trattografia risiede nella sua completa non invasività, consentendo di individuare alterazioni del normale corso dei fasci di fibre neuronali causato da numerosi processi patologici, permettendo così di valutare qualitativamente l'impatto del danno cerebrale sull'andamento delle fibre [36; 37].

La tecnica trattografica si basa sull'assunto di base che le direzioni di massima diffusione determinate dalle elaborazioni con DTI forniscano la direzione di elongazione del fascio di fibre presenti all'interno di ciascun voxel. Pertanto, seguendo il percorso individuato dalla concatenazione di voxel in voxel delle direzioni di massima diffusione, è possibile risalire alle informazioni riguardanti l'orientamento dei fasci di fibre e ricostruire, quindi, la connettività delle diverse aree dell'encefalo.

Gli algoritmi di trattografia possono essere classificati in due tipi: deterministici e probabilistici (figura 11).

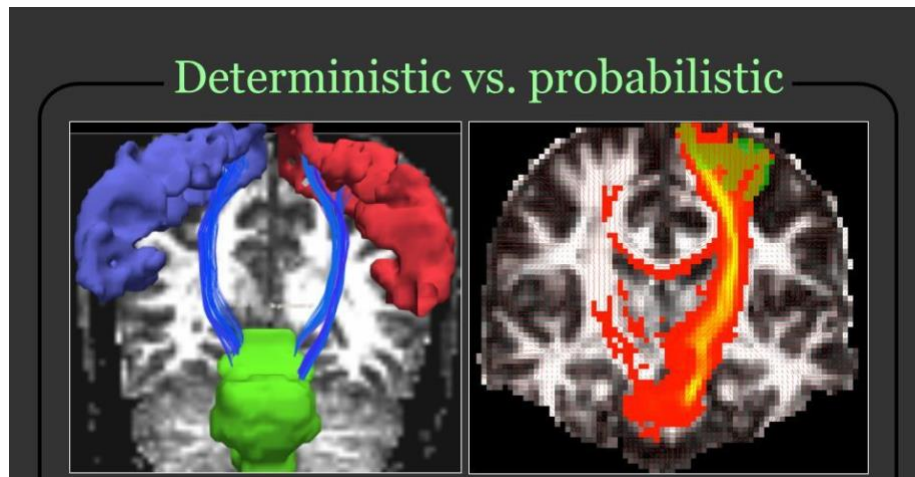


Figura 11: Confronto tra trattografia probabilistica e deterministica.

Trattografia deterministica

Le tecniche di trattografia deterministica o semplificata presuppongono che vi sia una direzione di diffusione principale in ogni voxel e, definendo un punto di partenza e applicando un algoritmo che collega i voxel con direzioni di diffusione simili, viene prodotto un tratto [38]. I metodi deterministici di fiber tracking, dunque, ricostruiscono iterativamente la fibra seguendo la direzione principale di diffusione (figura 12).

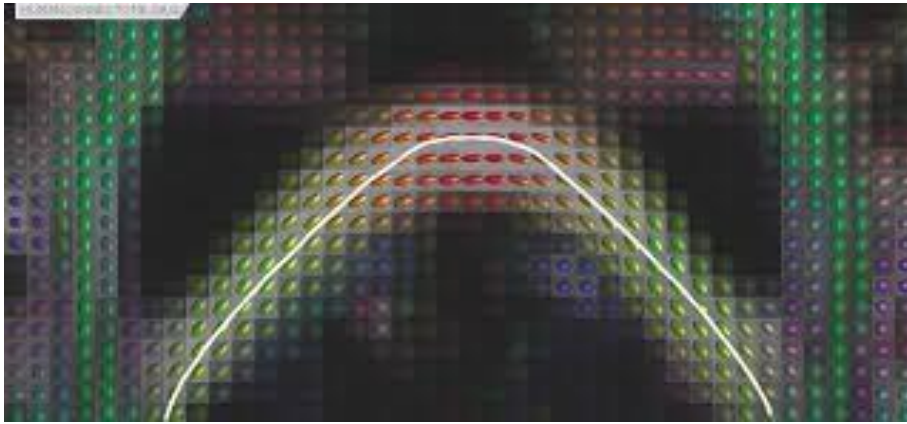


Figura 12: Il percorso di una fibra ricostruito con trattografia deterministica sovrapposto a un'immagine con rappresentazione ad ellissoidi di diffusione.

L'approccio deterministico si serve dei dati ottenuti dalle acquisizioni senza tenere conto del rumore sovrapposto e degli effetti di volume parziale. Per evitare di tracciare traiettorie in cui la determinazione della direzione preferenziale non è ben definita o delineare fibre che tornano su se stesse, vengono fissati dei valori limite, stopping criteria, per la FA e per l'angolo che si forma tra le direzioni di due voxel successivi; queste soglie aiutano a prevenire falsi positivi, impedendoci di visualizzare fibre laddove è improbabile che esistano. I vantaggi di questo algoritmo di ricostruzione trattografico riguardano sicuramente i calcoli relativamente semplici e la rapidità con cui è possibile ottenere i risultati con oltretutto una chiara delineazione dei tratti di fibre; gli svantaggi principali sono rappresentati dalla sua operatore-dipendenza, difficoltà nel risolvere tratti curvi, incrociati o "baciati". Nei sistemi di neuronavigazione più comuni disponibili in commercio vengono utilizzati algoritmi di trattografia deterministica (figura 13).

Di fondamentale importanza è il fatto che in trattografia deterministica non si ha alcuna informazione sull'errore commesso nella propagazione delle fibre, a meno che non si acquisiscano più dataset per il medesimo soggetto.

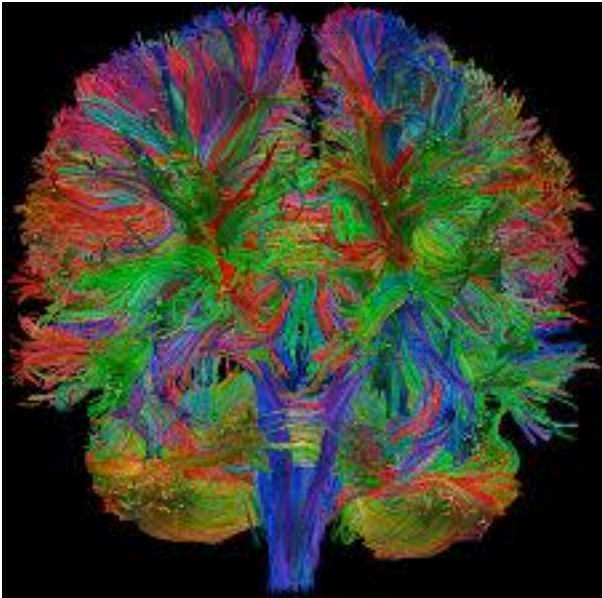


Figura 13: Suggestiva trattografia dell'intero cervello ottenuta con l'approccio deterministico.

La trattografia probabilistica, da noi utilizzata nel progetto di ricerca, si basa invece su metodi bayesiani che permettono la ricostruzione delle densità di probabilità della distribuzione delle fibre nervose nelle aree di interesse all'interno del cervello.

Contrariamente alle tecniche deterministiche, la trattografia probabilistica traccia un gran numero di possibili percorsi (tipicamente >5000) da un punto di partenza stabilito. A ogni passaggio del processo di tracciamento di una connessione tra voxel vengono considerate diverse possibili direzioni di diffusione [39]. Il risultato è una distribuzione di probabilità delle connessioni e selezionando una soglia appropriata,

al di sotto della quale le connessioni vengono scartate come improbabili, è possibile delineare i tratti di nostro interesse.

Il modello utilizzato è quello a sfere e bastoncini che si basa sulla modellizzazione del tensore di diffusione con sfere e bastoncini anziché con ellissoidi, come mostrato in figura 14.

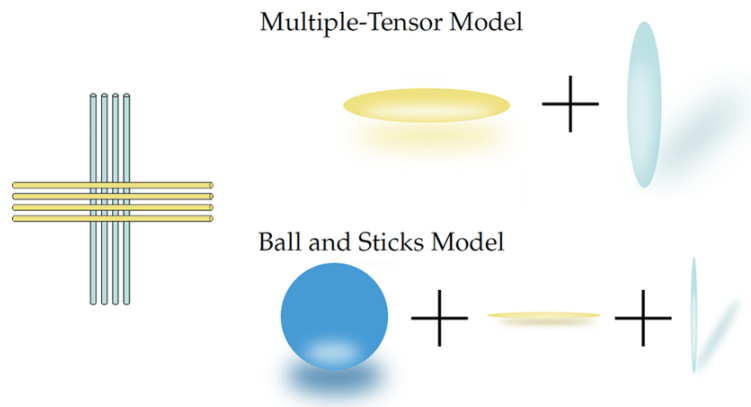


Figura 14: In alto il modello ad ellissoidi mostrato nella sezione precedente, in basso la rappresentazione a sfere e

In tale modello i bastoncini. In tale modello le sfere rappresentano la predizione della forma del segnale misurato. In figura 15 sono mostrate le rappresentazioni delle sfere e bastoncini coi relativi segnali predetti e misurati a una, due e tre orientazioni.

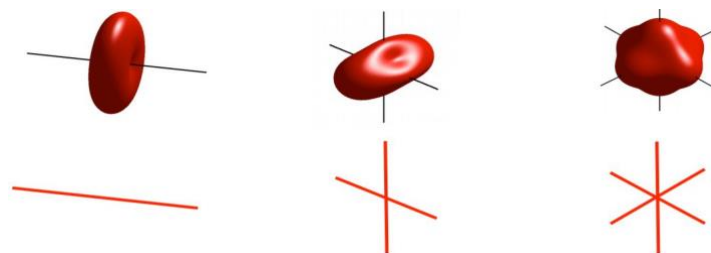


Figura 15: Segnale misurato (in alto) e direzione stimata (in basso) per una due e tre direzioni (da sinistra verso destra).

È opportuno precisare che un fattore b di diffusione più alto permette di ottenere una risoluzione angolare migliore (figura 15) [40]. Questo porterebbe alla logica scelta di utilizzare fattori b più grandi possibili; tuttavia, un fattore b alto comporta un segnale misurato basso con un rapporto segnale-rumore che si abbassa considerevolmente. In figura 16 sono mostrate le immagini acquisite a diversi fattori b di diffusione.

In questo modo si ha a disposizione il segnale a diversi gradienti di diffusione ed una distribuzione di possibili orientazioni di diffusione all'interno di ogni voxel; l'unica cosa che rimane da ottenere è il percorso più probabile delle fibre nervose attraverso i vari voxel, rinunciando però in questo modo alla conoscenza specifica della forma della singola fibra nervosa. Per trovare il percorso più probabile delle fibre nervose attraverso i vari voxel si utilizzano metodi computazionali Monte Carlo basati su catena di Markov con cui si ottiene la cosiddetta inferenza bayesiana [41].

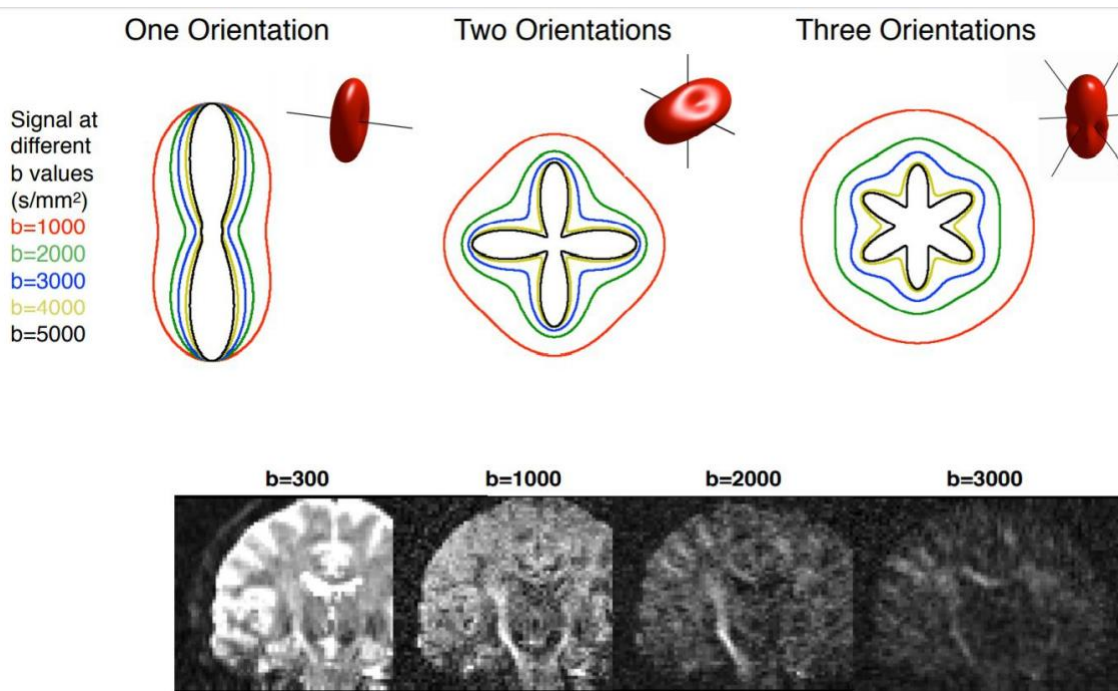


Figura 16: Modello a bastoncini a diversi b-factor (in alto) per una, due e tre direzioni (da sinistra verso destra). Immagini ottenute a b-factor via via crescenti (in basso): si noti come il rapporto segnale-rumore decresca considerevolmente con valori di b superiori a 1000 s/mm² (in basso).

Per fare ciò si utilizza un metodo sviluppato in ambito di Neural Networking chiamato Automatic Relevance Determination (ARD) [40]. Questa tecnica, a differenza di altre, non si basa sul confronto tra diversi modelli trovando poi quello che meglio “si adatta” ai dati presenti; esso si basa sulla stima di un modello Bayesiano che viene dato a priori (solitamente si tratta di un modello gaussiano) e si cerca di fare tendere a zero i parametri che non supportano i dati. In questo modo il modello originario viene modificato finché non si giunge alla stima di un modello costruito ad hoc sulla più probabile distribuzione di fibre all’interno di un voxel, ottenendo così la cosiddetta ODF (orientation distribution function) ovvero la funzione di distribuzione delle orientazioni. Tale distribuzione, deve però essere

compatibile con le distribuzioni all'interno dei voxel limitrofi; la compatibilità tra le distribuzioni all'interno dei diversi voxel viene ottenuta tramite tecniche HARDI (High angular resolution diffusion imaging). Le tecniche HARDI fanno uso di algoritmi probabilistici che si basano sulla convoluzione tra l'ODF e la densità di orientazione delle fibre (FOD) [42]. Le immagini ottenute sono come quelle in figura 17.

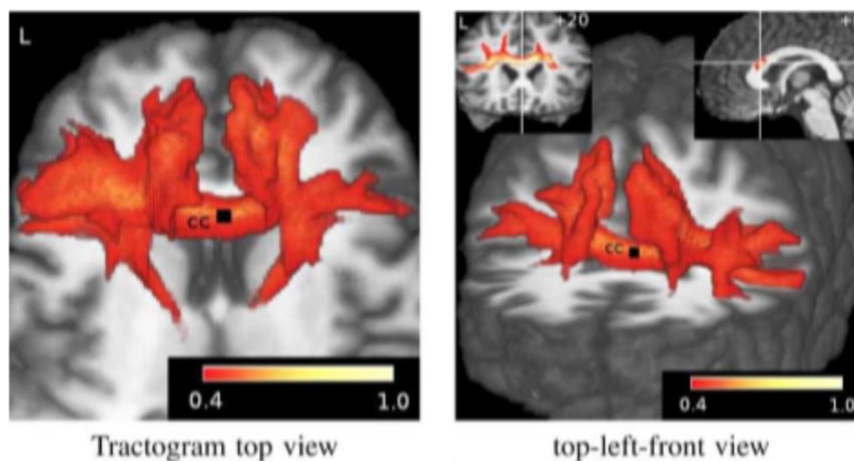


Figura 17: Esempi di immagini di trattografia probabilistica

I vantaggi della trattografia probabilistica consistono in una migliore sensibilità anche per le fibre curve e in una migliore risoluzione dei tratti di attraversamento rispetto alla trattografia deterministica. Il compromesso è rappresentato da lunghi tempi di calcolo, una ridotta specificità che si traduce in "falsi positivi" e una visualizzazione meno intuitiva dei dati che viene mostrata come "probabilità di un tratto" e non schematicamente con l'aspetto "anatomico" dello stesso.

Inoltre, è opportuno sottolineare che quanto più ci si allontana dal seed di partenza tanto più si accumulano gli errori dovuti alle distribuzioni di probabilità che si incontrano voxel dopo voxel. Di conseguenza, la trattografia probabilistica, per percorsi molto lunghi, potrebbe risultare non molto accurata. Considerando però il fatto che i trattogrammi che si ottengono con questa tecnica altro non sono se non delle maschere in cui ogni voxel ha intensità diversa, dove voxel con intensità maggiori indicano una probabilità maggiore di avere delle fibre passanti per quei punti del cervello (figura 18), sarà sufficiente eliminare il segnale al di sotto di una certa soglia per eliminare tutte quelle fibre con probabilità più bassa la cui presenza potrebbe essere dovuta solo a fluttuazioni statistiche risultando dunque soltanto come dei falsi positivi.

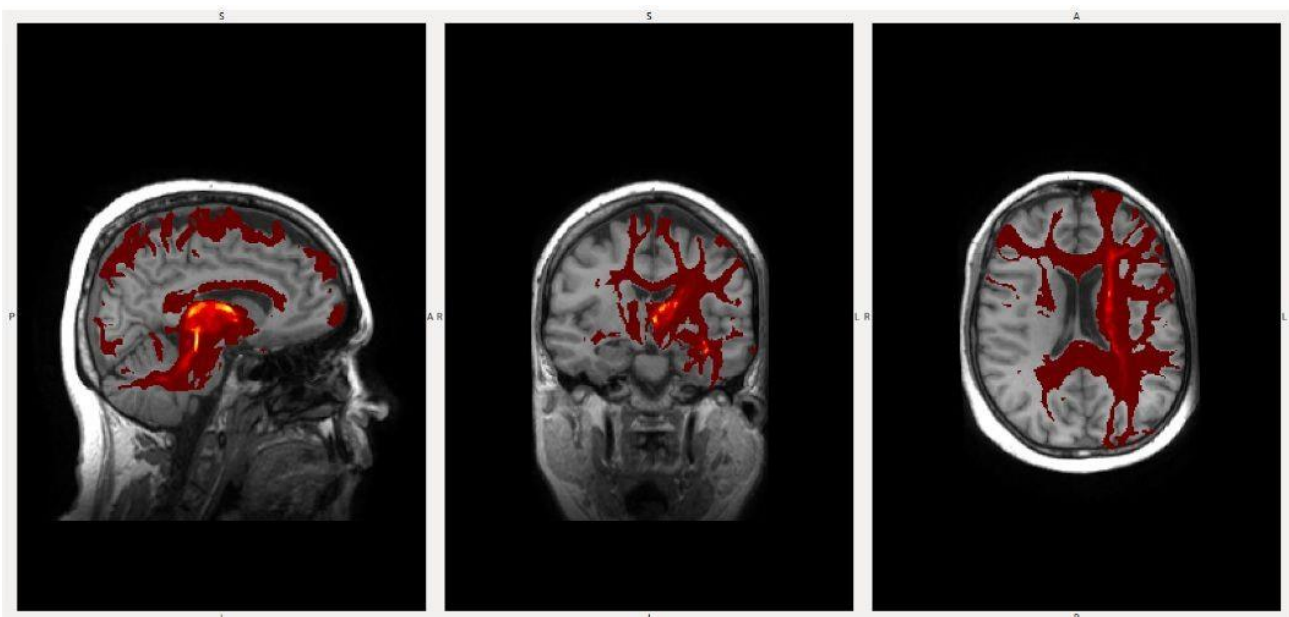


Figura 18: Trattografia probabilistica per le connessioni tra la corteccia e il talamo di uno dei pazienti analizzati in questo lavoro di tesi. La scala di colore è stata scelta in modo che voxel con intensità maggiori (probabilità più alte) abbiano colori tendenti al giallo

2. SCOPO DELLO STUDIO

L'obiettivo primario di questo progetto di ricerca è costituito dallo sviluppo e dall'implementazione di una procedura di analisi delle immagini cliniche di pazienti affetti da TE sottoposti a trattamenti di talamotomia tcMRgFUS che permetta in futuro di individuare con maggiore accuratezza il target da ablare e di realizzare il trattamento in tempi più rapidi.

A tal fine, in una prima fase è stata ricavata una vera e propria “mappa” dei fasci di fibre del talamo (parcellizzazione talamica), a partire dalle immagini strutturali e dalle immagini pesate in diffusione (acquisite durante le fasi di screening dei pazienti) e ricostruite mediante algoritmo di trattografia probabilistica (la quale permette di individuare nel talamo le regioni attraversate da fasci di fibre nervose provenienti dalle varie regioni della corteccia cerebrale), in grado di fornire indicazioni sulla posizione del VIM, nucleo talamico da ablare.

L'obiettivo secondario, sviluppato nella seconda fase del progetto, ha visto la realizzazione di uno studio retrospettivo sui dati dei pazienti già trattati in cui è stato valutato il grado di sovrapposizione tra la regione talamica in cui è stata prodotta la lesione durante il trattamento e la regione corrispondente trovata tramite trattografia probabilistica.

Infine, è stata anche valutata la correlazione tra la percentuale di sovrapposizione con alcune regioni del talamo e l'outcome clinico in termini di riduzione del tremore ad alcuni mesi dal trattamento.

3. MATERIALI E METODI

È stata eseguita una valutazione retrospettiva delle immagini di risonanza magnetica acquisite nel periodo compreso tra gennaio 2015 e novembre 2021 durante le fasi di screening e follow-up di 54 pazienti affetti da TE e sottoposti a tcMRgFUS al fine di validare mediante un'analisi retrospettiva le tecniche di parcellizzazione talamica ottenute mediante trattografia probabilistica.

Per l'arruolamento dei pazienti sono stati considerati i seguenti criteri di inclusione:

- pazienti con tremore essenziale sottoposti a procedura tcMRgFUS (target VIM) nel periodo compreso tra gennaio 2015 e novembre 2021;
- lesione ottenuta apprezzabile nelle immagini RM acquisite sia in fase intraoperatoria che nei successivi follow-up.

Nei pazienti candidabili per lo studio sono stati considerati i seguenti criteri di esclusione:

- interruzione precoce del trattamento tcMRgFUS prima dell'impiego di sonicazioni ad elevata potenza;
- assenza di follow-up clinico o radiologico > 6 mesi.

Per ciascuno dei 54 pazienti che ha eseguito la procedura è stata poi effettuata una segmentazione delle aree eloquenti cerebrali utilizzate poi come seed per un algoritmo di trattografia probabilistica mirato a rappresentare le proiezioni corticali da e verso il talamo con particolare riferimento alle aree motoria primaria, supplementaria motoria e alla corteccia premotoria, formando in questo modo delle mappe di parcellazione talamica.

Il target del VIM talamico è stato ottenuto a partire dalle suddette mappe valutando il centroide della regione del talamo all'interno del quale la probabilità di trovare i fasci di fibre nervose da e verso le aree corticali di cui sopra fosse al di sopra di una soglia prestabilita.

I target così ricavati sono stati poi confrontati con i target ottenuti manualmente utilizzando le coordinate stereotassiche standard per valutare le eventuali discrepanze tra un metodo personalizzato basato sulle mappe di trattografia probabilistica e il metodo basato su atlanti anatomici, ancora oggi considerato metodo di riferimento. Inoltre, i suddetti target sono stati confrontati con i centroidi delle lesioni indotte durante la procedura tcMRgFUS e con l'outcome clinico del paziente, prendendo in considerazione la valutazione mediante Clinical Rating Scale for Tremor (CRTS) effettuata prima del trattamento ed ai successivi follow-up a 6 mesi ed a 1 anno dal trattamento e gli eventi avversi transitori registrati durante la fase di verifica nelle procedure di trattamento con MRgFUS.

3.1 Protocollo MRI

Le acquisizioni delle immagini di risonanza magnetica sono state effettuate per mezzo dello scanner *General Electric Signa HDxt 1.5T* presso il reparto di Radiologia dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico "Paolo Giaccone" di Palermo. L'acquisizione di tali immagini avviene prima, durante e dopo il trattamento. Le immagini analizzate nel presente lavoro sono le immagini acquisite prima e dopo il trattamento, di cui quelle da noi utilizzate per l'elaborazione del nostro lavoro sono:

- immagini morfologiche sagittali pesate in T_1 con risoluzione $1.016 \times 1.016 \times 0.6001 \text{ mm}^3$, acquisite durante la fase di *screening* necessarie per conoscere l'anatomia cerebrale del paziente e programmare un piano terapeutico *ad hoc*.
- Immagini ultrastrutturali pesate in diffusione, con risoluzione $1.172 \times 1.72 \times 0.60 \text{ mm}^3$ e 30 direzioni di gradiente di diffusione, acquisite anch'esse durante la fase di *screening*, necessarie per lo studio di autovalori e autovettori del tensore di diffusione al fine di determinare la direzione dei fasci di fibre nervose in ogni voxel.
- immagini assiali pesate in T_2 con risoluzione $0.4688 \times 0.4688 \times 2 \text{ mm}^3$ con una sequenza *FRFSE* (*Fast Recalled Fast Spin Echo*), la quale fornisce un'alta intensità del segnale utilizzando brevi *repetition times* ($\sim 10\text{ms}$), acquisite durante la fase di *follow-up*.

3.2 Procedura tcMRgFUS

Per i 54 trattamenti tcMRgFUS eseguiti presso la Sezione di Scienze Radiologiche dell'AOUP Giaccone di Palermo e presi in esame per il nostro progetto di ricerca è stata utilizzata l'apparecchiatura ExAblate 4000, prodotto da InSightec, installato allo scanner MRI da 1.5 T *General Electric Signa HDxt* e opportunamente interfacciato ad un casco stereotassico con più di 1000 trasduttori piezoelettrici.

Il trattamento prevede un'iniziale fase di screening/pianificazione durante la quale vengono acquisite delle immagini MRI morfologiche al fine di individuare il target di

trattamento (basandosi esclusivamente su coordinate ricavate da atlanti stereotassici e pertanto uguali in tutti i pazienti) e di escludere le zone più sensibili al fascio HIFU, che vengono marcate come “No Pass Region”.

Il giorno del trattamento, previa completa e accurata epilazione del capo, al paziente verrà posizionato un frame stereotassico MR compatibile con l’ausilio esclusivamente di una piccola dose di anestetico locale. Una volta in sala MR, il paziente sarà fatto sdraiare su di un lettino dedicato dove è allocato il casco che viene fissato al frame stereotassico del paziente e la cui superficie interna è costituita da 1024 trasduttori HI-FU phased array. Posizionato il capo del paziente all’interno del casco, questo viene isolato grazie a un’apposita membrana che consente al sistema di raffreddamento di far circolare acqua, opportunamente degasata e raffreddata, tra la superficie del capo del paziente esposta agli HI-FU e i trasduttori del casco stesso. (figura 19, 20 e 21) [43].

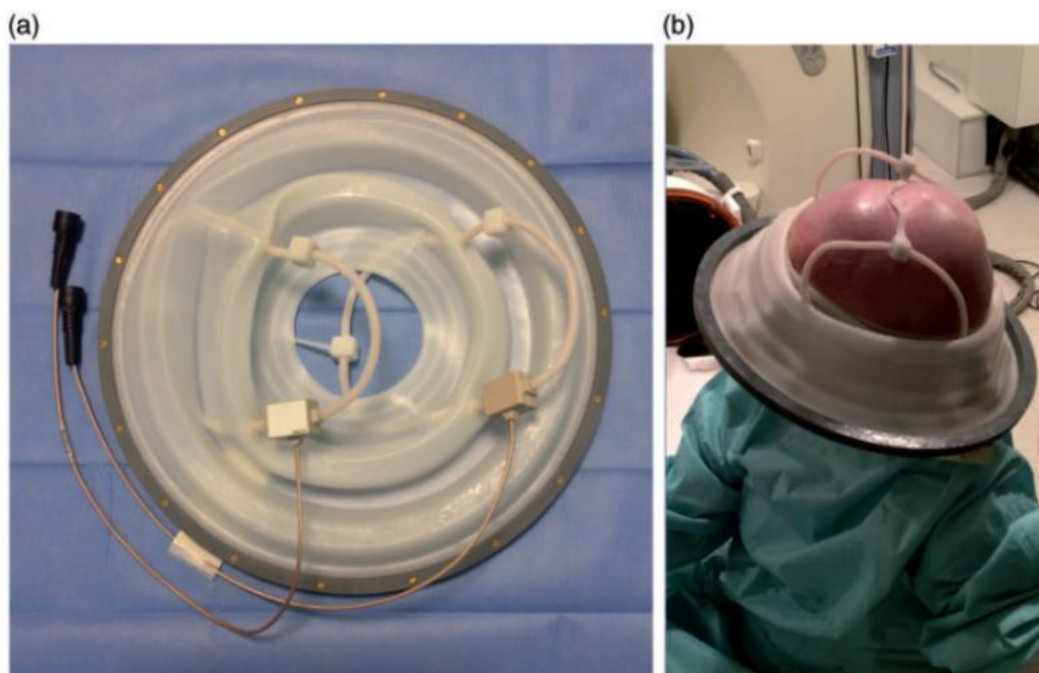


Figura 19: a)Bobine FUS a due canali unite ad una membrana elastica isolante usata per contenere l’acqua degasata che circonda la testa del paziente. b) Posizionamento finale della membrana.

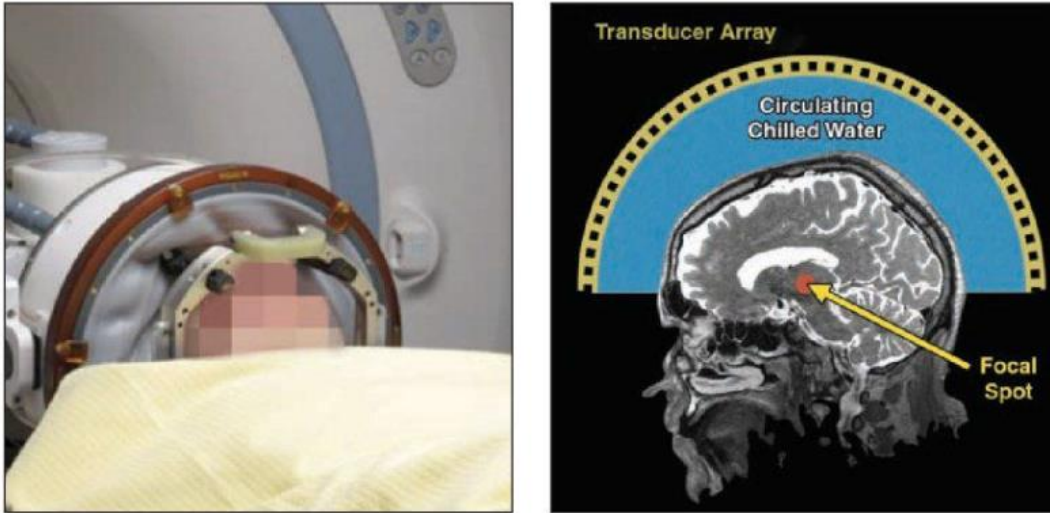


Figura 20: a) Posizionamento del paziente con casco inserito. b) Schematizzazione di un casco HIFU durante il trattamento.

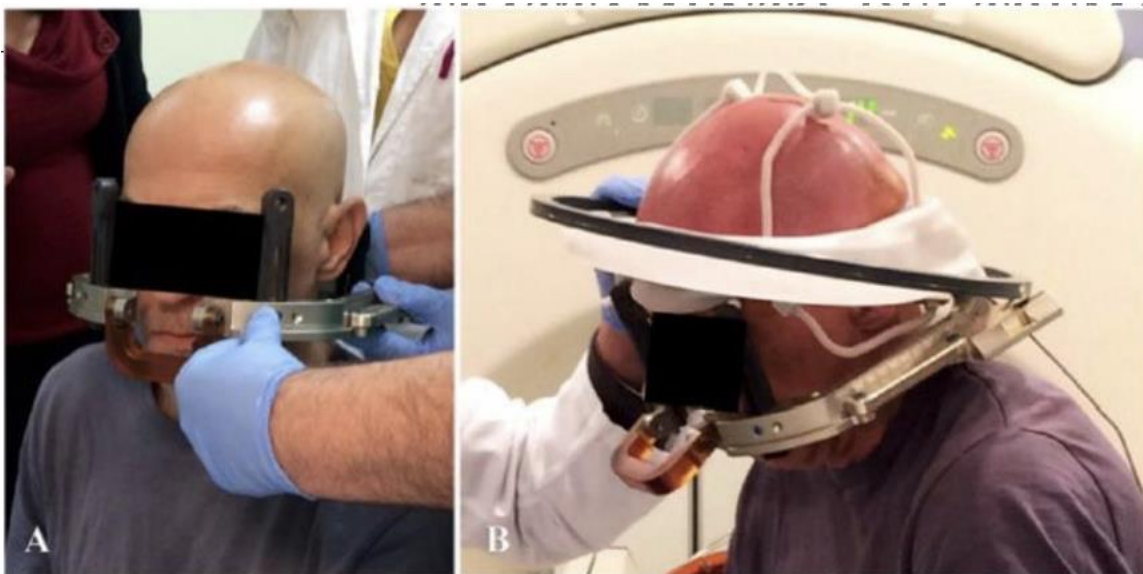


Figura 21: Posizionamento del frame stereotassico (a sinistra). Posizionamento della membrana con le bobine specifiche per trattamenti HIFU sul frame stereotassico (a destra).

Durante il trattamento il paziente è vigile (“awake surgery”), gli viene somministrata esclusivamente una blanda sedazione (Wilson Sedation Score tra 2 e 3) e, grazie al suo feedback, la sede del trattamento viene ottimizzata caso per caso. Dopo aver identificato la sede ottimale del trattamento utilizzando fasci HI-FU a bassa energia in grado di dare un beneficio clinico senza tuttavia indurre lesioni cerebrali permanenti (sonicazioni di 10-20s, temperature comprese tra 38° e 45°C), vengono effettuate alcune ulteriori sonicazioni utilizzando fasci HI-FU di energia progressivamente crescente per indurre una lesione cerebrale permanente nel target prescelto ($\geq 50-55$ °C). Mentre gli ultrasuoni eseguono l’ablazione termica dei tessuti, lo scanner MRI esegue una mappatura termometrica real-time che permette di visualizzare le temperature relative raggiunte sul monitor in diverse scale di colore. Questo sistema di feedback è fondamentale per gestire in tempo reale i parametri del fascio degli ultrasuoni focalizzati [44], garantendo precisione al trattamento, minimizzazione dei tempi della procedura e la sicurezza del paziente.

48h dopo il trattamento il paziente viene sottoposto ad uno studio di MRI per valutare l’entità della lesione ottenuta e l’eventuale coinvolgimento delle zone limitrofe.

Nei mesi successivi, il paziente è sottoposto a diversi follow-up clinico-radiologici per monitorare l’evoluzione della lesione generata dal fascio di ultrasuoni e la sintomatologia tremorigena residua (ove presente), oltre che la comparsa di eventuali rarissime complicanze (non presenti nei casi da noi studiati).

Una valutazione immediata dello stato del tremore può essere realizzata già durante il trattamento eseguendo alcuni test, come quelli presenti in figura 22.

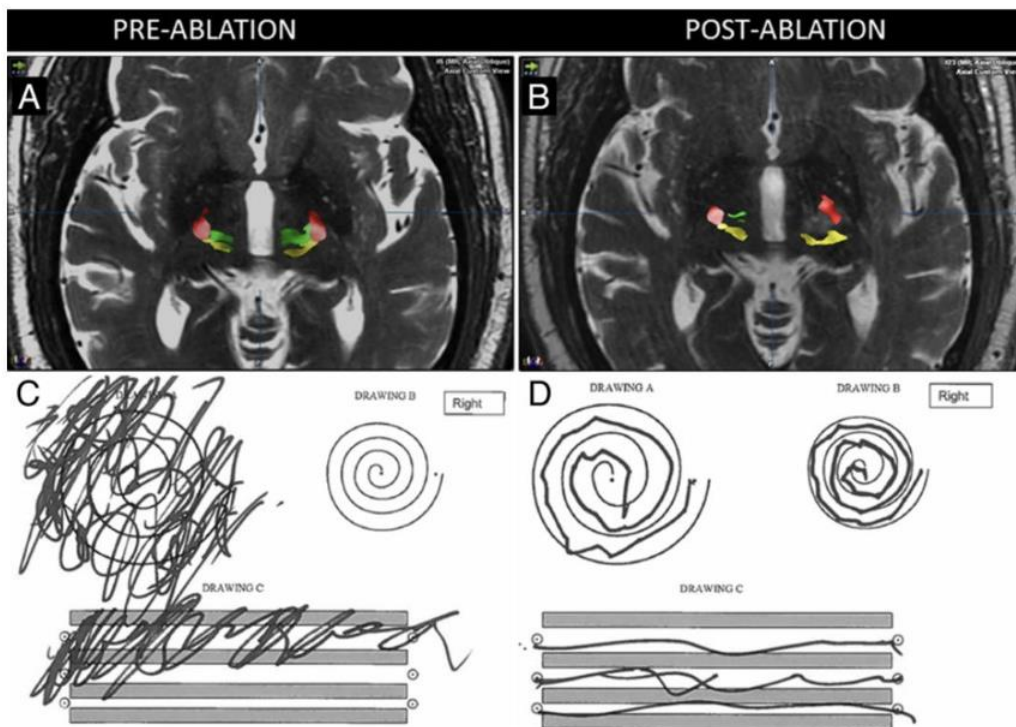


Figura 22: Immagine pesata T2 di un paziente colpito da tremore essenziale prima(A) e dopo il trattamento(B). Nelle figure sottostanti, i tentativi di tracciare spirali e rette entro dei margini prima (C) e dopo (D) la tcMRgFUS.

Riassumendo, dunque, la procedura tcMRg FUS prevede:

1. *fase di pianificazione*, dove si stabilisce il target di trattamento basandosi su coordinate stereotassiche standard;
2. *fase di allineamento* del fascio HIFU, mediante sonicazioni a bassa potenza e di breve durata con raggiungimento di una temperatura massima nel target di 40-45°C (range sub-ablativo);
3. *fase di verifica ed ottimizzazione* del target di trattamento, mediante l'utilizzo di fasci HIFU con potenze intermedie e raggiungimento di temperature di 45-50°C nell'area target, volte a indurre uno stupor neuronale transitorio che

consente di valutare in tempo reale, dopo ogni sonicazione, gli effetti clinici o eventuali effetti collaterali;

4. *fase di trattamento*, mediante sonicazioni ad alta potenza con picchi di temperatura superiori a 50°C che consentono di creare la lesione definitiva tramite termoablazione con conseguente stabilizzare dell'effetto terapeutico.
5. *Fase di follow-up* post-trattamento, mediante visite cliniche e monitoraggio MRI, per valutare l'evoluzione della lesione e della sintomatologia del paziente, oltre che la comparsa di eventuali complicanze.

Si può facilmente intuire come questo tipo di trattamento, seguendo questo iter, abbia, ad oggi, una durata estremamente lunga, di circa 3-4 ore, durante le quali è richiesta immobilità del paziente. Trattandosi per lo più di soggetti anziani, questo ha portato spesso all'interruzione precoce della procedura, prima dell'esecuzione delle sonicazioni terapeutiche, oltre che esporre il paziente ad elevato rischio di trombosi o altri disturbi della circolazione.

Da tutte queste considerazioni è nata l'idea del nostro progetto di ricerca, ossia ottimizzare un trattamento altamente efficace e minimamente invasivo per renderlo più facilmente fruibile dal paziente e conseguentemente semplificando anche il lavoro dell'equipe medica e fisica. Il nostro obiettivo è, infatti, lo sviluppo e l'implementazione di un protocollo di individuazione predittiva del target, in modo da ridurre al minimo i tempi della fase di allineamento e verifica durante il trattamento. L'obiettivo dell'analisi è quello di identificare le varie regioni del talamo da cui partono i fasci di fibre "da" e "per" la corteccia cerebrale (*parcellizzazione talamica*). In particolare, il nostro interesse è stato rivolto all'individuazione nucleo ventrale

intermedio (Ventral InterMediate nucleus, VIM nucleus) che è la regione del talamo attraverso cui passano i fasci di fibre che provengono dall'area del giro precentrale (della corteccia cerebrale), riconosciuta come l'area responsabile del tremore nei pazienti affetti da TE [45].

3.3 software utilizzati per l'analisi dati

Di seguito sono elencati i software utilizzati e/o sviluppati ad hoc per il protocollo di analisi.

1. Dcm2nii

Software utilizzato per la conversione delle immagini dal formato DICOM al formato niftii.

Dcm2nii è una versione beta di software che converte le immagini dal formato DICOM, che è il formato originale con cui vengono ottenute le immagine acquisite dallo scanner al formato niftii utilizzato da molti software (tra cui FSL) di imaging encefalico.

Dcm2nii è un programma stand-alone ed è disponibile nelle versioni compatibili per Windows, Linux e Mac.

2. Freesurfer

Freesurfer è un software impiegato nell'ambito delle neuroscienze che presenta tutta una serie di strumenti che consentono di studiare l'anatomia corticale e subcorticale dell'encefalo. Freesurfer, grazie ad alcuni algoritmi che riconoscono anche minime differenze di intensità di segnale, è in grado di distinguere le regioni di confine tra materia bianca, grigia e piale. Una volta individuate queste zone, è possibile inoltre

effettuale delle misurazioni prettamente anatomiche tra cui: spessore corticale, area superficiale, curvatura e superficie normale in ogni punto della corteccia.

La maggior parte della pipeline di Freesurfer è automatizzata, il che la rende ideale per l'uso su grandi set di dati.

Le principali funzionalità di Freesurfer sono [46] :

- la creazione di modelli dell'encefalo partendo da dati MRI;
- la coregistrazione di immagini strutturali e funzionali così da individuare con più precisione le aree neuronali attivate;
- la misurazione di proprietà morfometriche del cervello, come il volume corticale e delle sue singole regioni.

In questo lavoro Freesurfer è stato impiegato per la segmentazione corticale e subcorticale attraverso un comando eseguibile da shell chiamato "recon-all".

3. FSL

FSL rappresenta una libreria completa di strumenti utili per analizzare i dati ottenuti da imaging MRI ed è stato creato dai membri dell'Analysis Group, FMRIB, Oxford, UK [47]. FSL presenta quattro unità funzionali, ognuna delle quali contiene vari pacchetti:

- *Functional MRI*: 4 pacchetti per l'analisi e lo studio di immagini MRI funzionali;
- *Structural MRI*: 7 pacchetti per l'elaborazione di immagini T1 e T2 che consentono di eseguire l'estrazione del cervello, la segmentazione, coregistrazioni lineari e non lineari, correzioni di distorsioni geometriche e del rumore, stima di atrofie cerebrali;

- *Diffusion MRI*: 4 pacchetti di analisi per immagini pesate in diffusione, che consente la stima dei parametri e la ricostruzione di fasci con tecniche di trattografia;
- *Perfusion MRI*: un solo pacchetto di analisi di immagini ASL (Arterial Spin Labelling)
- *Statistic*: 3 pacchetti di analisi statistica dei dati di MRI;
- *Other Tools*: 15 pacchetti ausiliari.

4. Tortoise

TORTOISE (Tolerably Obsessive Registration and Tensor Optimization Indolent Software Ensemble) [Pierpaoli, L. Walker, M. O. Irfanoglu, A. Barnett, P. Basser, L-C. Chang, C. Koay, S. Pajevic, G. Rohde, J. Sarlls, and M. Wu. TORTOISE: an integrated software package for processing of diffusion MRI data. SMRM 18th annual meeting, Stockholm, Sweden, 2010] è un software completo necessario sia per la correzione dei dati di imaging pesato in diffusione (DWI), che per il calcolo del tensore di Diffusione. Non è un software commerciale, ed è scaricabile gratuitamente dal sito www.tortoisedti.org. (figura 23)

Le immagini DWI, infatti, sono affette da numerosi artefatti, come gli artefatti da movimento del soggetto e la distorsione da “eddy current”. È pertanto di fondamentale importanza eseguire su questo dataset di immagini un adeguato preprocessing per una precisa analisi quantitativa.

Il pacchetto software TORTOISE è composto da più moduli tra cui:

- DIFF PREP che elabora la correzione per gli artefatti da movimento e per le distorsioni da eddy current e da EPI.

- DIFF CALC che è un algoritmo per la stima del tensore di Diffusione e delle relative mappe parametriche.

Il software è altamente personalizzabile e offre inoltre la possibilità di esportare sia le immagini pesate in diffusione (DWI) che le ricostruzioni effettuate.

I vantaggi di TORTOISE rispetto a tutti gli altri software di preprocessing derivano da:

- pipeline singola per la correzione di tutti gli artefatti delle immagini DWI: tutte le operazioni di correzione vengono impostate e combinate insieme attraverso una singola operazione di interpolazione, in modo da ridurre al minimo gli errori di interpolazione dei dati corretti.
- Inserimento di un termine quadratico per la correzione della distorsione da eddy current. [48]

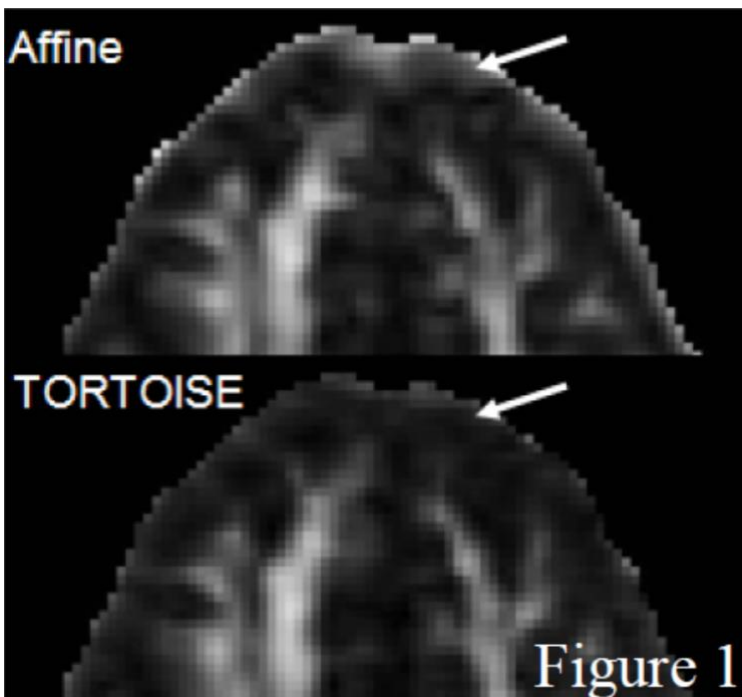


Figura 23: Confronto tra una mappa FA di un cervello umano con preprocessing effettuato con una trasformazione affine (parte superiore) e con la correzione effettuata da TORTOISE (parte inferiore).

Inoltre, TORTOISE calcola un riorientamento appropriato della B-Matrix dopo le correzioni [A. Leemans and D. K. Jones. The B-matrix must be rotated when correcting for subject motion in DTI data. *Magnetic Resonance in Medicine*, 6(61):1336–1349, 2009.].

5. Python Scripts

Python Script è il linguaggio di programmazione scelto ed utilizzato per lo sviluppo di gran parte degli script utili per l'analisi dati. Esso presenta una grande versatilità e, avendo sia librerie per il calcolo scientifico (quali NumPy, SciPy, Matplotlib, etc.) sia librerie per l'analisi di immagini MRI (quali NiBabel, DiPy, NiTime), permette di sviluppare efficienti algoritmi di calcolo in maniera agevole.

4. RISULTATI

4.1 parcellizzazione talamica

Per realizzare la parcellizzazione talamica è stata implementata una procedura in grado di riconoscere inizialmente le varie regioni della corteccia, ricostruire i fasci di fibre che da queste regioni comunicano con il talamo e, infine, considerare le proiezioni di questi fasci sul talamo stesso.

Di seguito verranno elencati nel dettaglio tutti gli steps impiegati per l'analisi dei dati e le soluzioni adottate:

1. segmentazione della corteccia cerebrale;
2. analisi di trattografia probabilistica;
3. individuazione delle regioni talamiche.

Segmentazione della corteccia cerebrale

Il primo step ha visto l'esecuzione di una segmentazione del cervello, cioè una divisione dello stesso in diverse porzioni in modo da individuarne le diverse aree funzionali, le quali verranno estrapolate attraverso delle maschere (immagini NIFTI binarie) specifiche per ogni area di interesse.

Freesurfer è il software di open source da noi utilizzato per la segmentazione dell'encefalo. Tale software (tramite il comando recon-all) è in grado di segmentare l'intero encefalo in base ad un atlante di riferimento, che nel nostro caso è l'atlante Desikan-Killiany [49], il più completo in termini di aree selezionabili e il più efficace nell'estrarre direttamente i lobi di interesse.

Un esempio di segmentazione cerebrale è mostrato in figura 24.

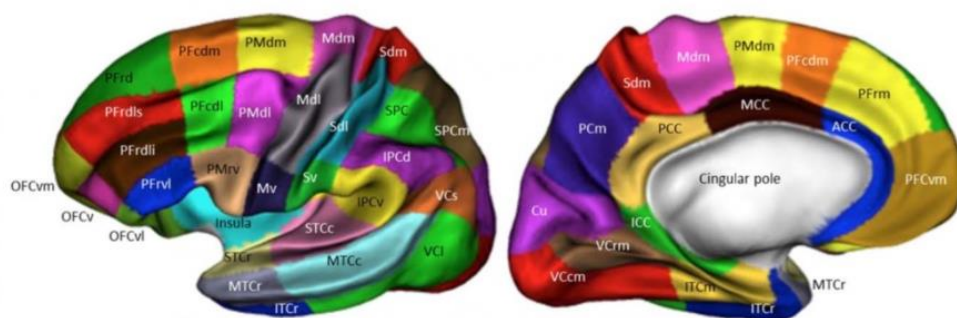


Figura 24: segmentazione dell'encefalo. L'encefalo viene suddiviso in diverse regioni, ognuna delle quali è ben definita dalla sua morfologia e dalla funzione che ad essa compete.

Un limite importante di questo processo è rappresentato sicuramente dalla durata di queste analisi per singolo paziente, che attualmente è di circa 8 h.

I risultati di queste analisi per un paziente sono mostrati in figura 25.

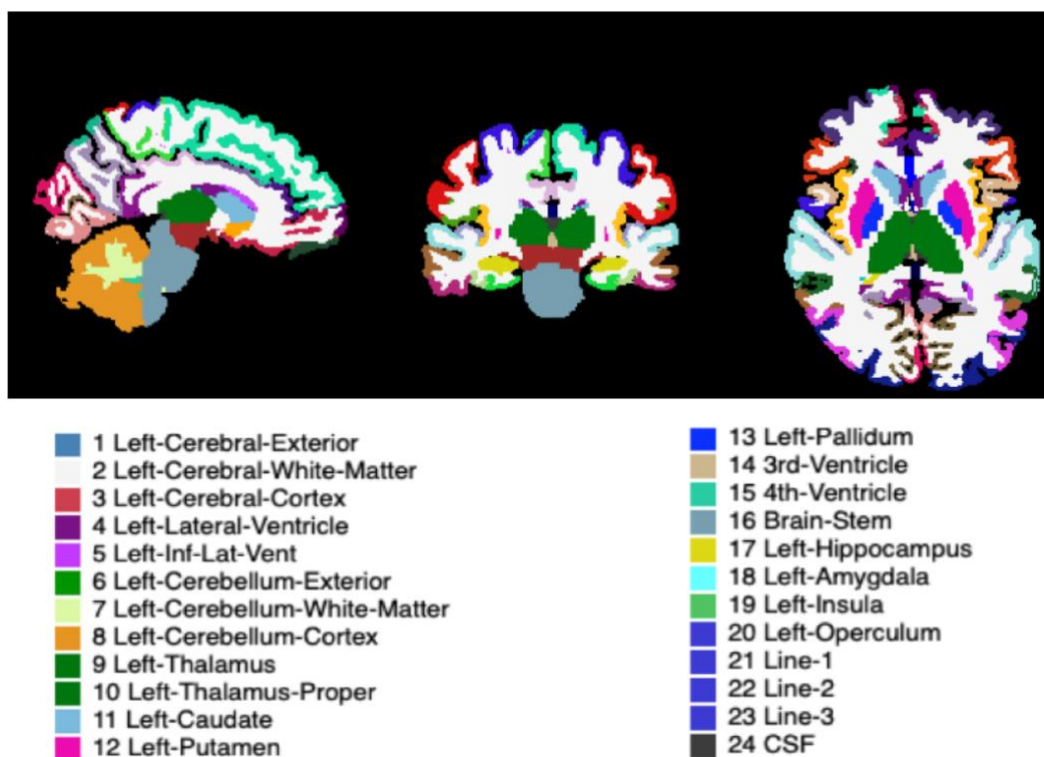


Figura 25: Risultato della segmentazione del cervello ottenuta attraverso il software Free- surfer. L'atlante di riferimento scelto è quello di Desikan-Killiany. In basso i colori associati ad ogni area del cervello.

Come si può vedere dalla Figura 25, il numero di regioni della corteccia individuate e riconosciute dal software Freesurfer è superiore a 20, da cui si è deciso di semplificare la suddivisione prendendo esclusivamente la componente corticale delle 6 regioni per noi funzionali all'individuazione delle regioni di interesse nel talamo:

- Lobo frontale
- Giro precentrale
- Giro post-centrale
- Lobo parietale
- Lobo temporale
- Lobo occipitale

Pertanto, per ottenere questa ottimizzazione, è stato sviluppato uno script in Python che permettesse, sulle immagini in formato NIfTI, di creare delle maschere dei lobi di interesse, a partire dagli output delle analisi di segmentazione.

Inoltre, sono state create le maschere dei ventricoli (regioni da escludere in fase di analisi trattografica) e del talamo (punto di partenza per i fasci di fibre nervose da ricostruire).

Poiché Freesurfer utilizza un diverso sistema di coordinate di riferimento (coordinate Talairach) con un'orientazione delle immagini non canonico e per niente intuitivo (figura 26), è fondamentale riadattare le immagini di output di Freesurfer all'orientazione standard (coordinate RAS - Right, Anterior, Superior) utilizzato in ambito di neuromimaging (Figura 27). a tal fine, è stato pertanto generato nello script sopradescritto un algoritmo per generare le matrici di ri-orientazione tra lo spazio di partenza (Talairach) e quello di arrivo (RAS).

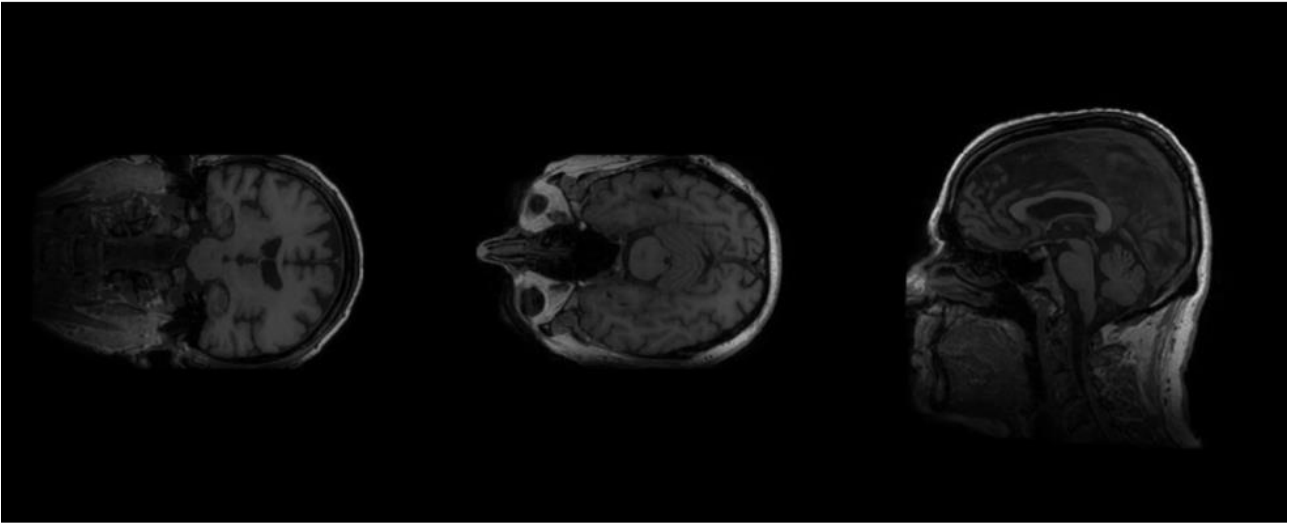


Figura 26: Coordinate Talairach. Notare l'orientazione delle sezioni coronali, assiali e sagittali.

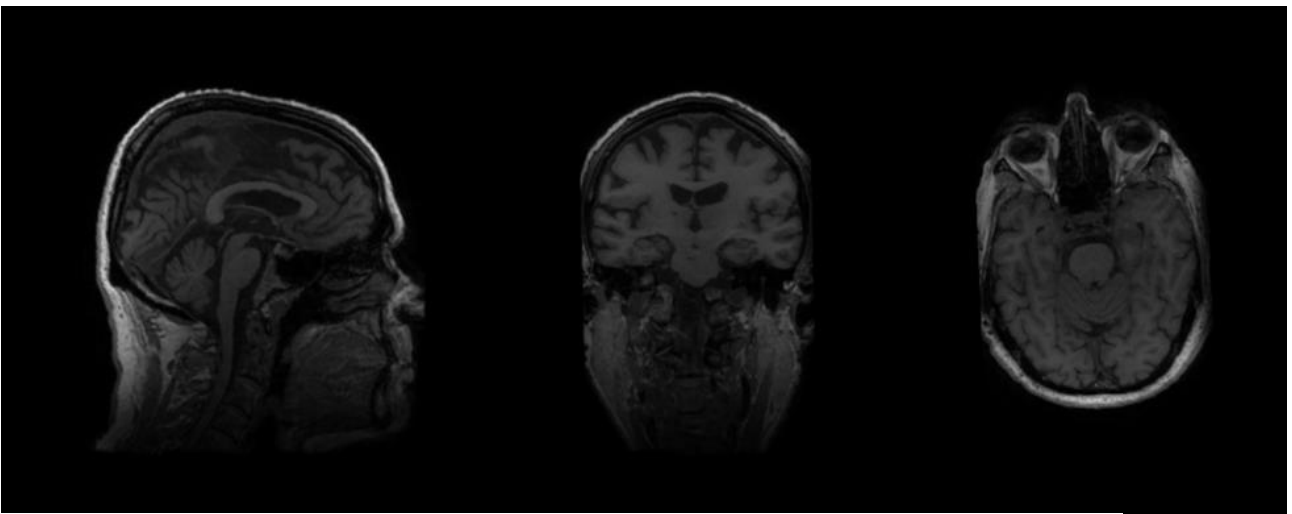


Figura 27: Coordinate RAS

Analisi di trattografia probabilistica

Dopo aver segmentato le aree dell'encefalo di nostro interesse, è stata implementata una procedura volta a generare delle mappe di trattografia probabilistica in grado di individuare i fasci di fibre nervose che connettono le aree corticali con il talamo.

Tale procedura di trattografia probabilistica è stata ottenuta tramite due pacchetti di FSL: BEDPOSTX (Bayesian Estimation of Diffusion Parameters Obtained using Sample Techniques) e PROBTRACKX (Probabilistic Tracking for Crossing Fibers).

Il software BEDPOSTX è in grado di trovare la distribuzione di orientazione delle fibre nervose all'interno di ogni voxel per tutto l'encefalo: è necessario inserire come input le immagini pesate in diffusione opportunamente preprocessate, la maschera 3D dell'encefalo, un file contenente le direzioni dei gradienti di diffusione e un file contenente i valori del coefficiente di pesatura (b-value).

Questa è decisamente la fase di analisi che necessita elevati tempi di calcolo, a causa degli algoritmi utilizzati (metodi di Monte Carlo basati su Catena di Markov) e della grossa mole di dati: il tempo medio impiegato per queste analisi è di circa 20 ore.

Dal software BEDPOSTX si ottengono come output diversi file che saranno poi gli input per il software PROBTRACKX che realizza l'effettiva analisi trattografica basandosi sulle possibili direzioni di diffusione trovate per ogni voxel.

Il tool PROBTRACKX è in grado di processare mappe di trattografia a partire da dati diversi: è possibile, ad esempio, indicare delle maschere attraverso le quali le fibre devono passare, o indicare delle maschere oltre le quali le fibre non possono andare, o ancora indicare le maschere delle regioni di partenza e di arrivo dei fasci nervosi.

Poiché nel presente lavoro si è interessati alle mappe delle fibre che collegano opportune regioni della corteccia con il talamo, si è scelto come seed (punto di

partenza) il talamo e come target le regioni corticali di interesse, ed in particolare i dati di ingresso utilizzati sono:

- la cartella di output ottenuta dal software BEDPOSTX;
- una maschera di partenza (seed) dalla quale si dipartono le fibre talamiche;
- le maschere delle aree encefaliche (nel nostro caso i ventricoli) che si vogliono escludere dalle analisi trattografiche;
- la matrice di trasformazione tra lo spazio delle immagini pesate in T1 e lo spazio delle immagini pesate in diffusione, per determinare la quale si è scelto di utilizzare un'immagine di anisotropia frazionaria (FA).
- le maschere dei lobi di interesse selezionate durante la fase di segmentazione cerebrale.

Il risultato ottenuto è mostrato nella figura 28.

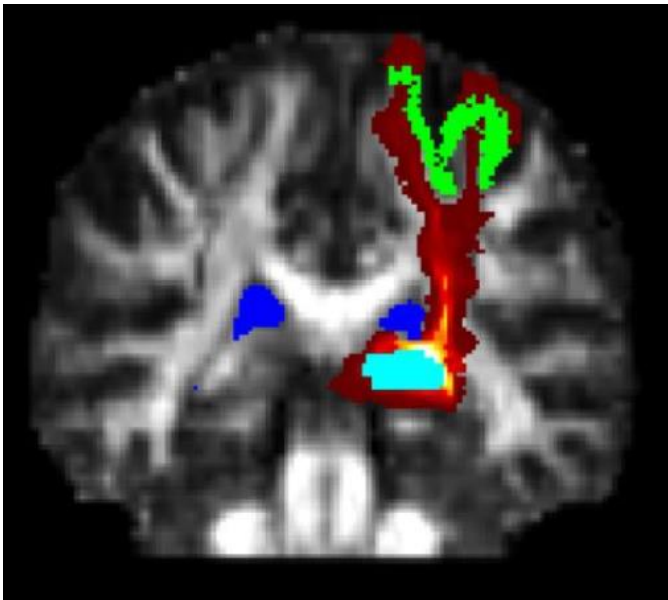


Figura 28: Un esempio del risultato che si ottiene utilizzando il software PROBTRACKX. In verde il giro postcentrale (il target della trattografia), in celeste il talamo (il seed o punto di partenza), in blu i ventricoli (le zone da escludere per la trattografia) e in giallo-rosso i tratti che connettono talamo e corteccia cerebrale. I colori tendenti al giallo indicano una probabilità maggiore di trovare fasci che connettono le due aree in quei voxel. Sullo sfondo è riportata un'immagine FA coronale.

Individuazione delle regioni nel talamo

Da queste analisi vengono pertanto ricavate delle mappe di trattografia probabilistica nelle quali sono ben visibili i percorsi e le connessioni tra le aree dell'encefalo.

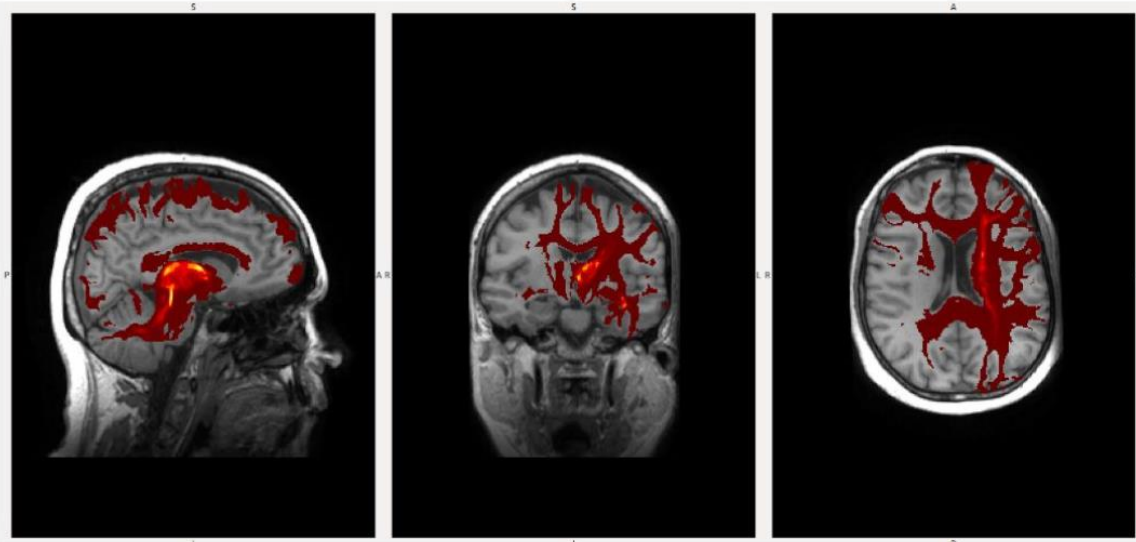
In Particolare, come indicato in figura 29 (a), a valori di intensità maggiori corrisponde una maggiore probabilità di trovare delle fibre di nostro interesse (ossia di connessione da e per il talamo con la corteccia cerebrale) passanti per quel voxel, restituendone le immagini corrispondenti (Figura 29 (b)).

Infine, un altro risultato utile è la generazione di un'immagine che rappresenta la sovrapposizione delle proiezioni delle zone della corteccia cerebrale sul talamo (Figura 29 (c)).

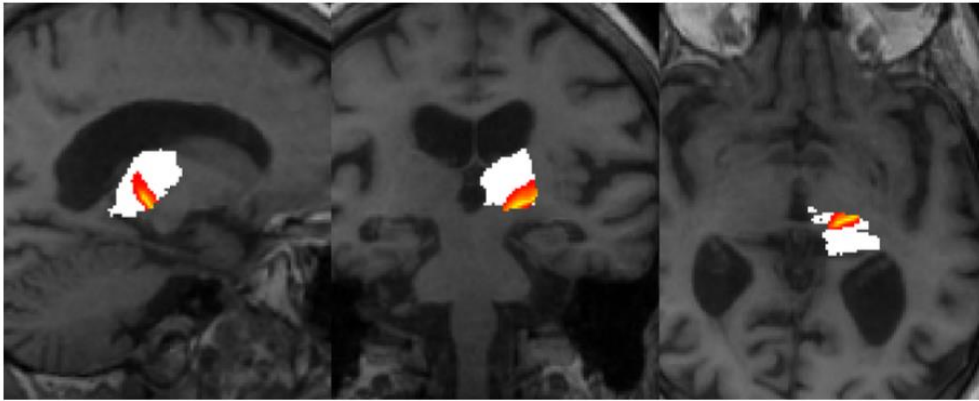
Il risultato finale è costituito dalla *parcellizzazione talamica* che altro non è se non una suddivisione del talamo nelle varie regioni attraverso cui passano le fibre nervose provenienti dalla corteccia cerebrale.

Per i trattamenti del tremore essenziale la regione da ablate risulta essere la proiezione del giro precentrale sul talamo (nucleo VIM), che in figura 29 (c) è riportata in colore arancione.

La durata computazionale di questo processo è di qualche ora.



(a)



(b)

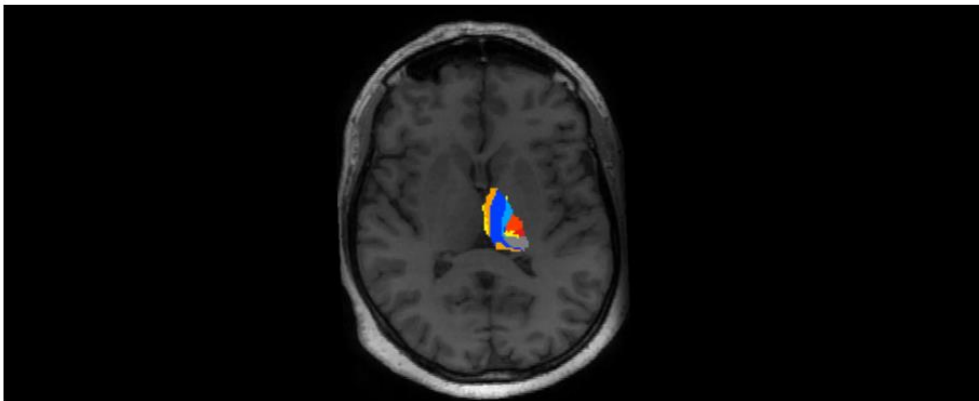


Figura 29: (a) Mappe trattografiche ottenute con PROBTRACKX, utilizzando come target i lobi descritti precedentemente e il talamo come punto di partenza. (b) Proiezione del solo giro precentrale sul talamo. (c) Parcelizzazione talamica ottenuta. In arancione la proiezione del giro precentrale sul talamo.

4.2 Studio retrospettivo per la verifica della posizione del target

Una volta implementata la parcellizzazione talamica con l'identificazione del target da ablare tramite le suddescritte analisi di segmentazione cerebrale e di trattografia probabilistica, è stato effettuato il confronto della suddetta regione target con la lesione effettivamente generata durante i trattamenti tcMRgFUS, ottenuta tramite l'aggiustamento del target indicato dagli atlanti di anatomia stereotassica durante la procedura nelle fasi di verifica ed ottimizzazione mediante il feedback del paziente. Tale confronto è stato realizzato tramite una valutazione del grado di sovrapposizione (overlap) tra la regione determinata tramite la parcellizzazione talamica e la lesione indotta dal trattamento.

Una volta completate le analisi trattografiche si è proceduto con l'estrazione della maschera della lesione a partire dalle immagini post-trattamento pesate in T2.

Dal momento che le immagini post-procedura sono immagini pesate in T2 (sequenza che permette di individuare in maniera più precisa la lesione) acquisite 48 ore dopo il trattamento mentre le immagini dalle quali è stata ricavata la mappa trattografica del talamo (immagini pesate in T1 che permette di avere il migliore dettaglio anatomico dell'encefalo) sono state acquisite in fase di screening, è bene tenere in considerazione la possibile presenza di lievi differenze tra le immagini dovute alle differenti tempistiche di acquisizione, con la possibilità che il paziente possa essere stato posizionato in modo leggermente differente durante le due acquisizioni. Per ovviare a questo problema ma soprattutto per poter estrarre una maschera della lesione (T2w) che sia sovrapponibile alle immagini pesate in T1 su cui sono state registrate le mappe di trattografia, è necessario coregistrare le immagini pesate in T2 sulle immagini strutturali pesate in T1.

Pertanto, per eseguire la segmentazione della lesione, si è sviluppato un altro script in Python selezionando un punto di partenza (seed) all'interno della lesione, a partire dal quale viene creata una circonferenza di raggio selezionabile dall'operatore all'interno della quale eseguire una media delle intensità dei voxel che distano non più del raggio dal seed. Lo script, successivamente, considera tutti voxel limitrofi alla circonferenza costruita e genera una maschera che si va a sovrapporre a quei voxel la cui intensità si trova in un intervallo entro una certa deviazione standard (selezionabile anch'essa dall'operatore) dalla media. Le immagini che si ottengono sono raffigurate in Figura 30. È bene sottolineare che il raggio iniziale della circonferenza, il centro e la distanza dalla media sono parametri che vanno modificati paziente per paziente per ottenere una segmentazione della lesione accettabile, rendendo pertanto questa fase molto operatore-dipendente: è di fondamentale importanza in questa fase la verifica eseguita dal neuroradiologo.

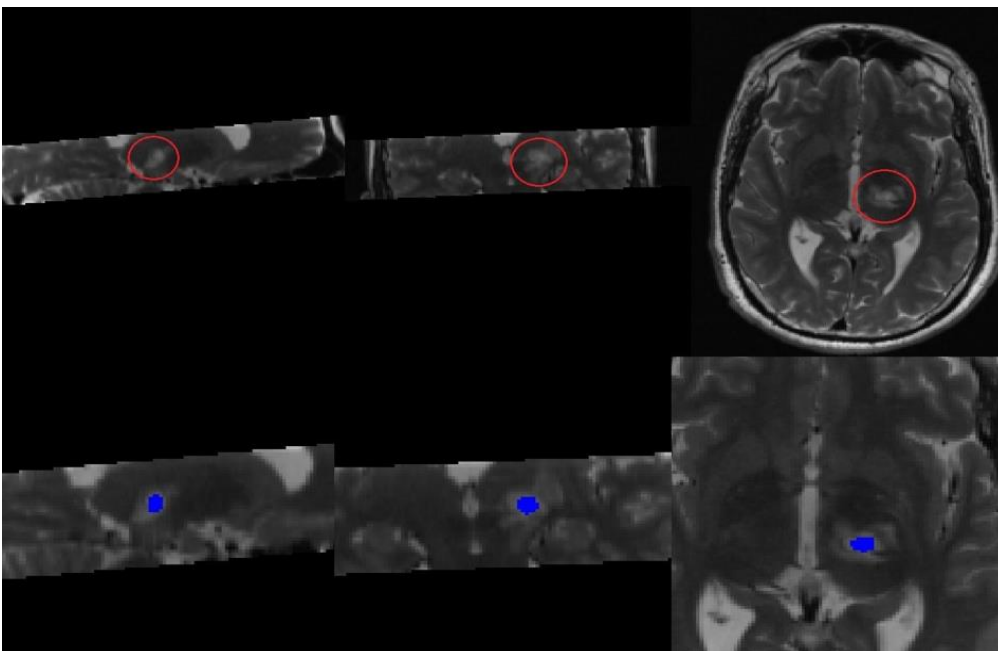


Figura 30: Selezionando un punto all'interno della lesione (quella cerchiata) (iperintensa nelle immagini pesate in T2 come in questo caso), che sia il più centrale possibile, il software appositamente scritto permette di creare una maschera che va a "riempire" tutte le zone le cui intensità non differiscono più di una deviazione standard (scelta dall'operatore) dalla regione cerchiata

Individuata la regione della lesione è possibile eseguire il confronto tra la lesione e le aree di parcellizzazione sul talamo attraverso l'ausilio di un ulteriore script in Python appositamente sviluppato per questo lavoro. Tale software permette di ottenere il grado di sovrapposizione tra la lesione e le diverse aree (definite da maschere opportunamente costruite) fornendo così la percentuale di overlap tra la lesione e una determinata area, come mostrato nella figura 31.

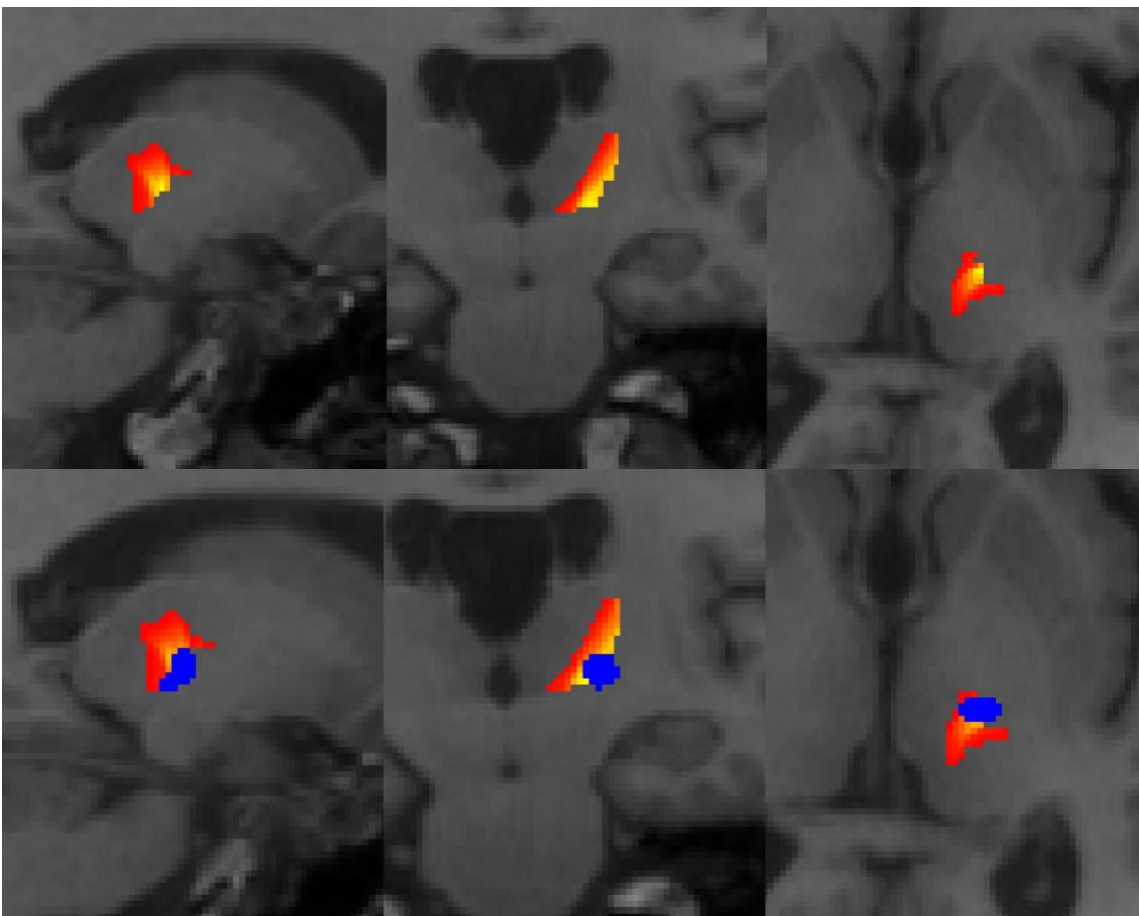
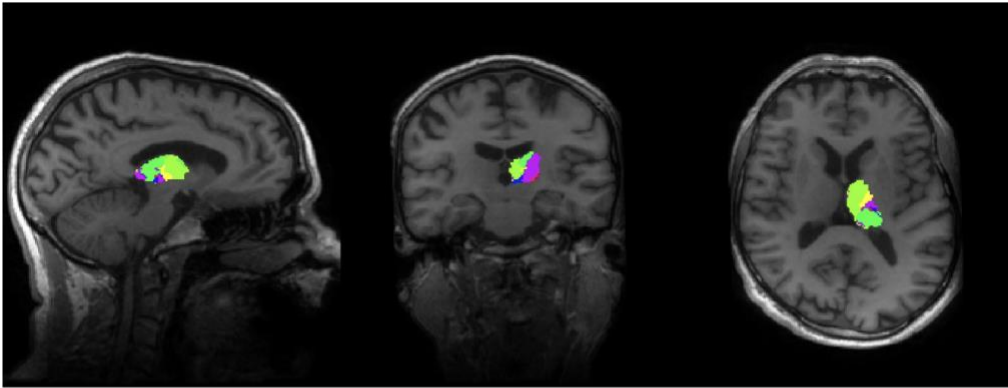
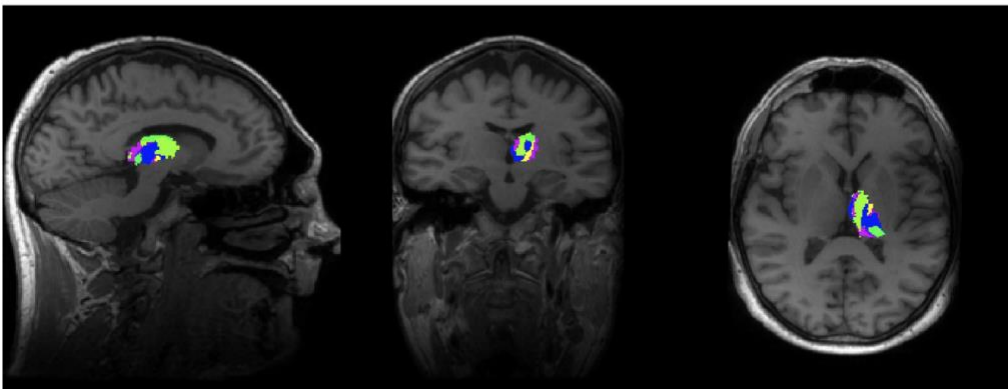


Figura 31: (a) Proiezione del giro precentrale sul talamo ottenuta con trattografia probabilistica. (b) Sovrapposizione tra lesione segmentata e area precentrale.

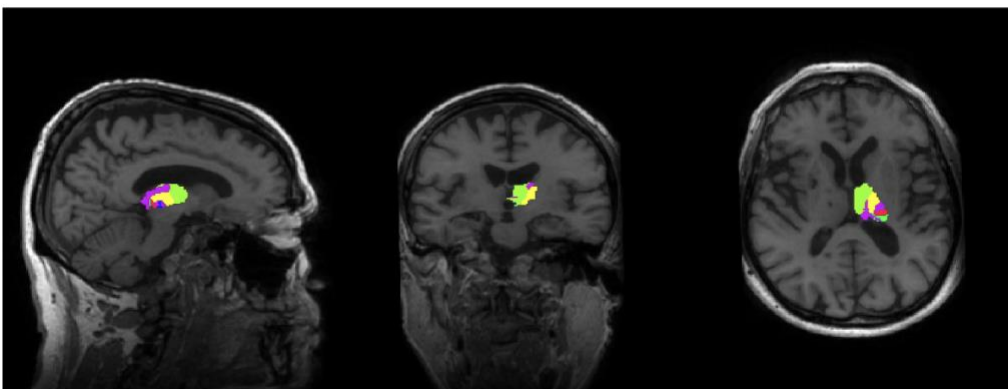
Utilizzando la suddescritta pipeline sono state effettuate le analisi trattografiche su un numero totale di 54 pazienti: per questi pazienti sono disponibili le mappe di parcellizzazione talamica, come quelle mostrate in figura 32.



(a)



(b)



(c)

Figura 32: Tre diverse parcellizzazioni talamiche ottenute per tre pazienti con la procedura sviluppata e illustrata precedentemente.

Come era prevedibile, dalla figura 32 si evince come esiste una variabilità anatomica da paziente a paziente dell'estensione e della posizione dei vari fasci nervosi provenienti dalle varie aree della corteccia cerebrale da e verso il talamo. Questo sottolinea come sia assolutamente necessaria un'analisi personalizzata (come di fatto si propone il nostro progetto) per questo tipo di trattamento.

Analisi delle dimensioni delle lesioni indotte durante il trattamento

Per gli stessi pazienti sono inoltre state condotte analisi di segmentazione della lesione dalle quali è stato possibile ricavare i volumi delle lesioni indotte sui pazienti, come riportato in figura 33.

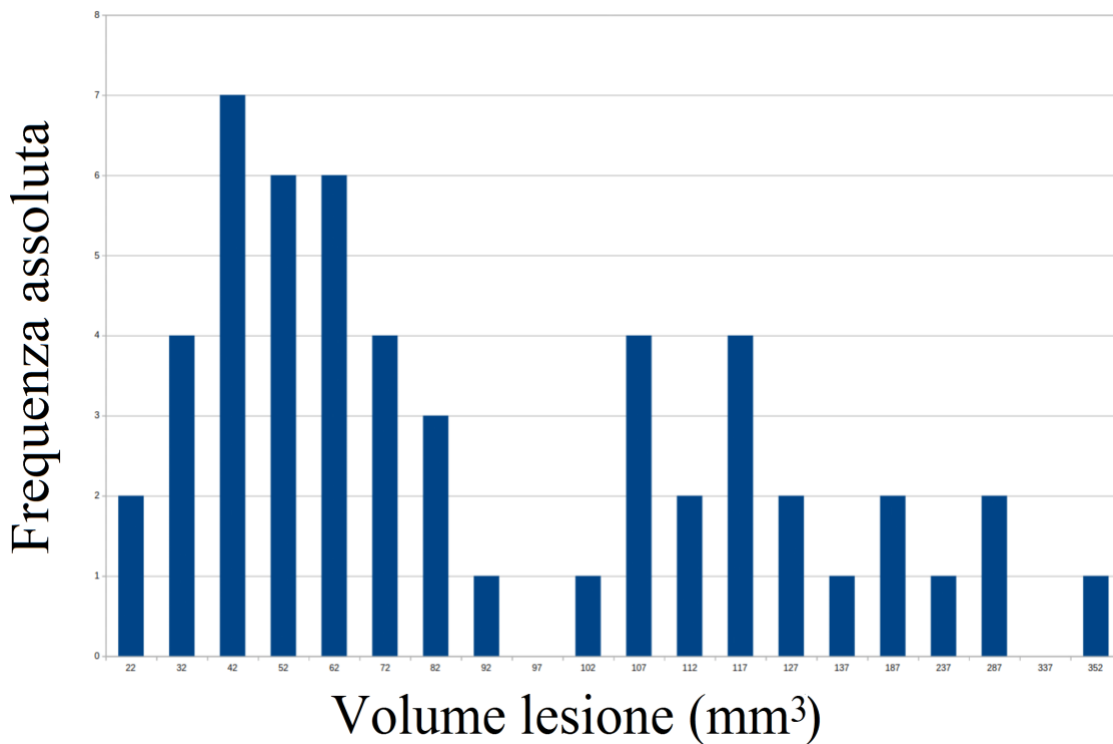
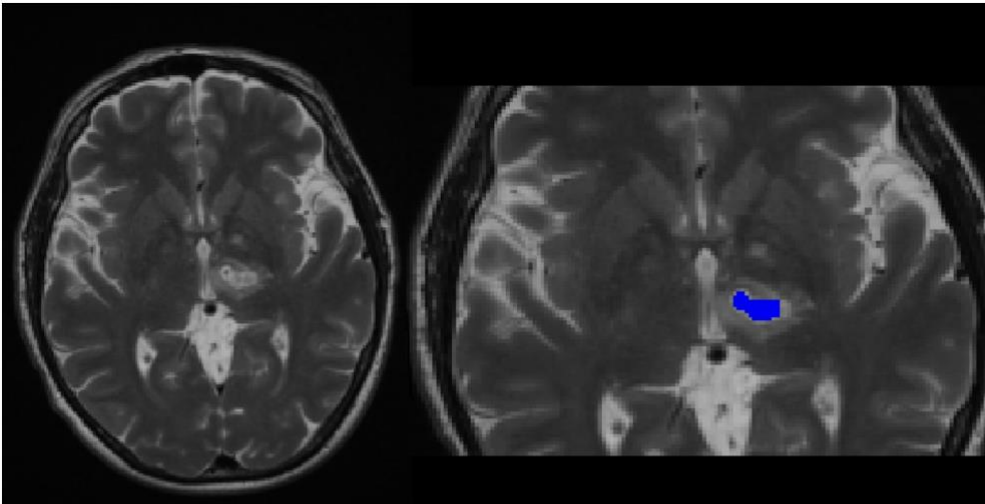
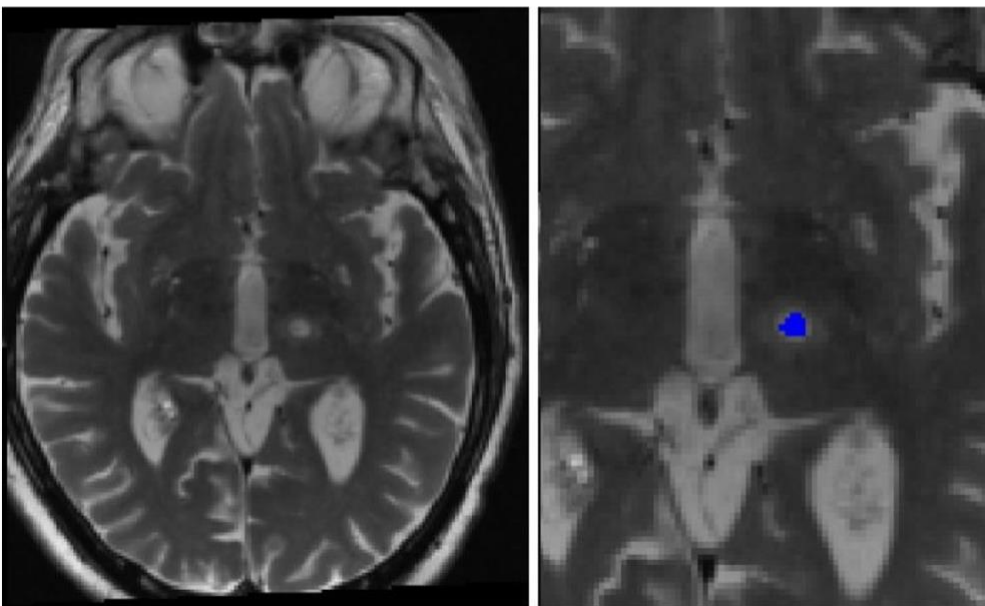


Figura 33: Istogramma dei volumi delle lesioni indotte durante il trattamento. Si noti che si ha un picco nella distribuzione dei volumi delle lesioni centrato intorno a 50 mm³, mentre si osserva una distribuzione non uniforme dei volumi maggiori di 100 mm³.

Dal grafico in figura 33 si nota una distribuzione di volumi con un picco intorno a 50 mm³. Comunque, si osserva, seppur rara, anche la presenza di lesioni con volumi ben più grandi di 150 mm³ come riportato in figura 34.



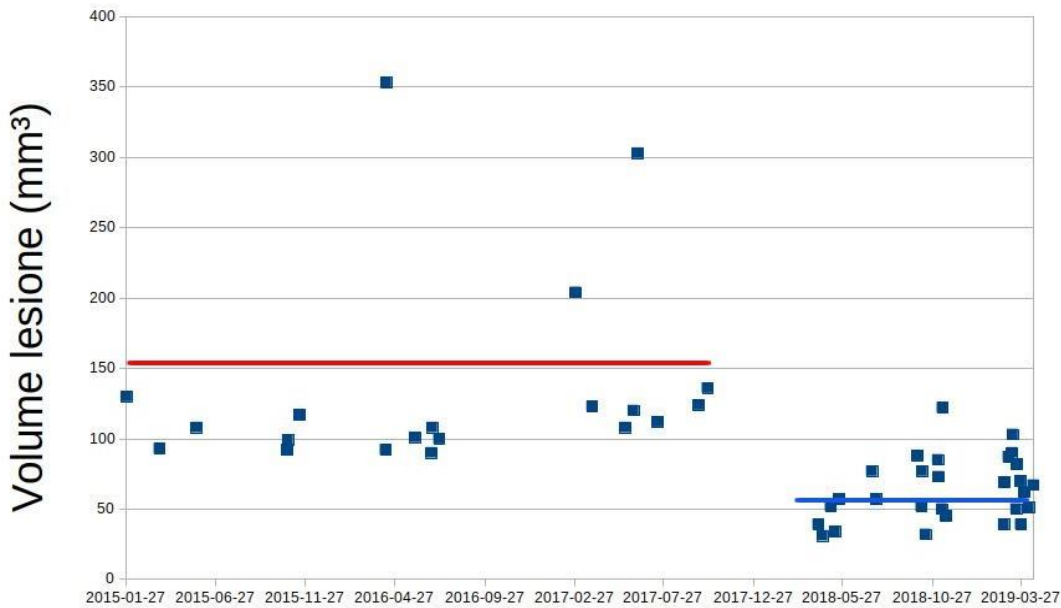
(a)



(b)

Figura 34: Confronto tra una lesione di grandi dimensioni (a) ed una di piccole dimensioni (b).

Questo differente ventaglio dimensionale tra le lesioni indotte nei vari pazienti era chiaramente prevedibile considerata l'eterogeneità dei pazienti e lo svolgimento del trattamento in sé (durante il quale il target finale viene individuato solo a seguito di diverse sonicazioni di verifica con riscontro di un beneficio clinico nel paziente durante i feedback tra una sonicazione e la successiva) che per essere efficace potrebbe richiedere di danneggiare una regione del VIM di estensione maggiore. Comunque, per essere sicuri che le differenze fossero esclusivamente dovute alla specificità dei vari trattamenti, si è deciso di valutare l'eventuale dipendenza del volume della lesione da altri fattori, di cui il fattore più significativo è rappresentato dal tempo intercorso tra l'installazione dello scanner e la data del trattamento, analizzato per assicurarsi che non vi fossero variazioni del setup sperimentale o del protocollo di trattamento stesso. I risultati di quest'analisi, riportati in figura 35, dimostrano come le lesioni indotte da trattamenti antecedenti il 2018 risultano essere mediamente più grandi e con maggiori fluttuazioni dimensionali rispetto alle lesioni indotte nei trattamenti realizzati dal 2018 in poi, risultati altamente prevedibili a seguito di una modifica dei trattamenti avvenuta nel 2018, dovuti soprattutto ad una progressiva affinamento della tecnica nel tempo (durante i primi trattamenti si eseguivano numerose sonicazioni in aree del talamo molto vaste, mentre successivamente con l'affinamento della tecnica e grazie alla maggiore esperienza si è riusciti a ottenere gli stessi risultati con poche sonicazioni concentrate in aree molto piccole). Sulla base di quanto detto finora, in figura 34 l'immagine (a) si riferisce ad un paziente trattato prima del 2018 mentre l'immagine (b) mostra la lesione indotta in un paziente trattato dopo l'inizio del 2018.



Data trattamento

Figura 35: Volumi delle lesioni vs data del trattamento. La linea in rosso indica la media dei volumi delle

Come ulteriore conferma è stato realizzato un istogramma (figura 36) discriminando i volumi delle lesioni nei pazienti trattati prima del 2018 da quelli nei pazienti trattati dal 2018 in poi.

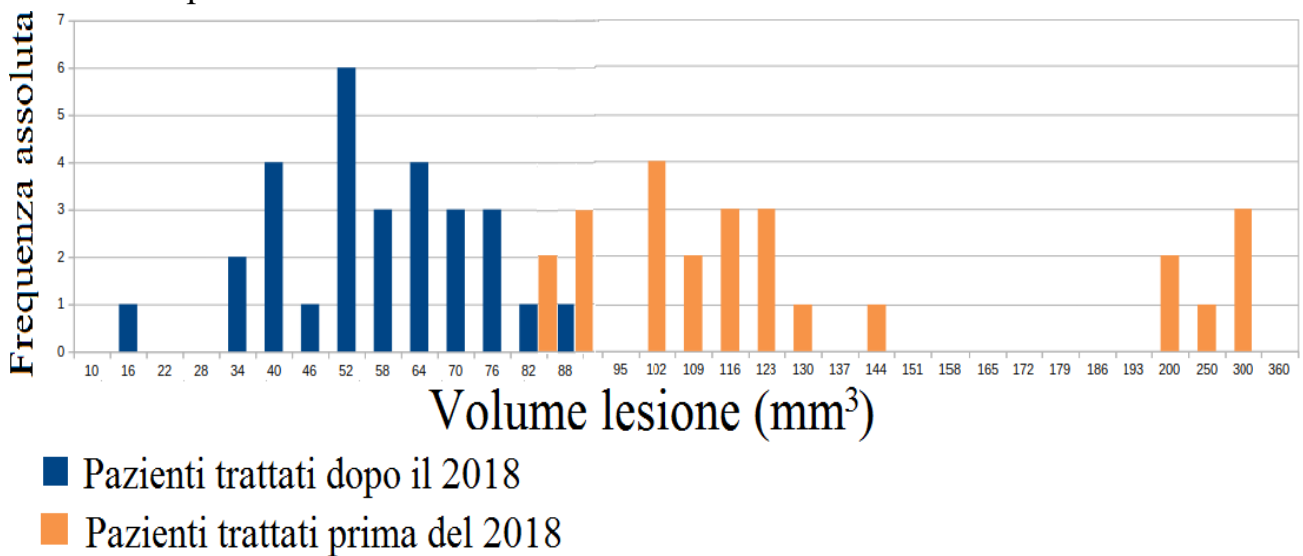
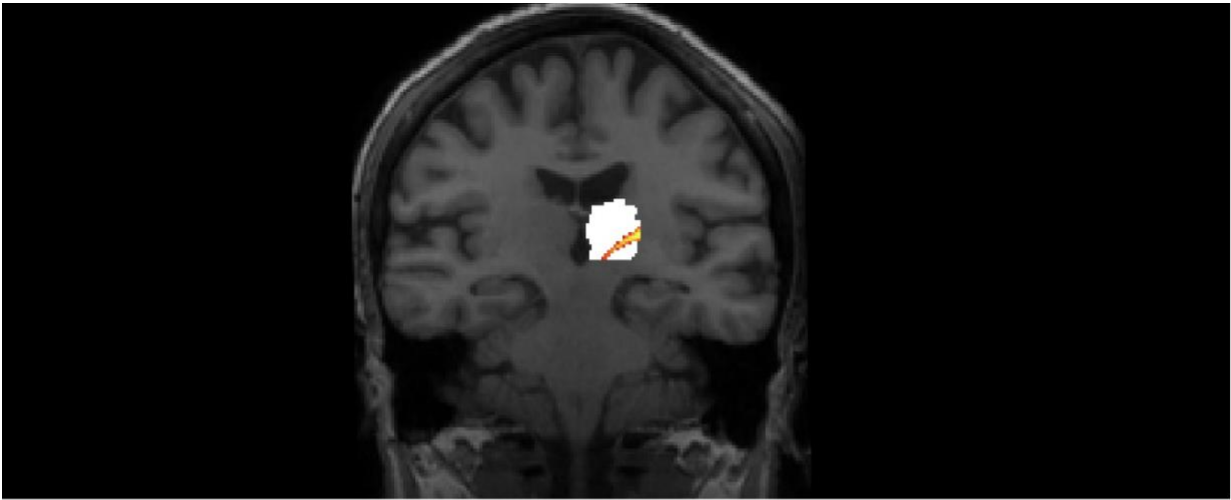


Figura 36: Istogramma dei volumi delle lesioni indotte durante il trattamento. I canali colorati in blu rappresentano i pazienti trattati dopo il 2018 caratterizzati da lesioni di volumi mediamente minori rispetto a quelli trattati prima del 2018 (mostrati in arancione).

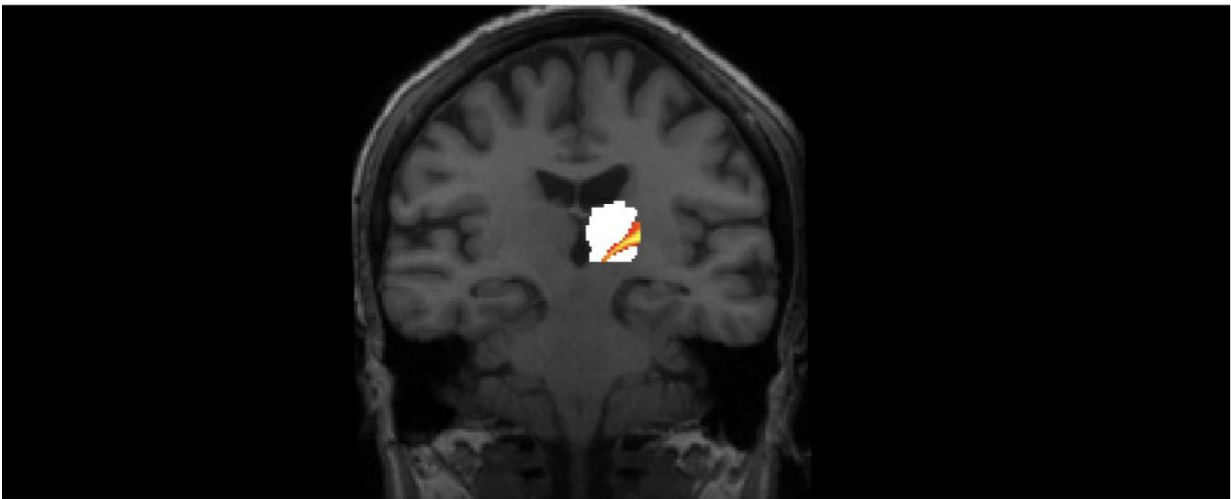
Come si vede, le due distribuzioni sono significativamente differenti come evidenziato anche dai valori di media e deviazione standard dei volumi delle lesioni (i.e. $152 \pm 81 \text{ mm}^3$ prima del 2018 e $55 \pm 16 \text{ mm}^3$ dal 2018 in poi) e come confermato dal test di Kolmogorov-Smirnov che ha fornito un p – value inferiore a 0.001.

Analisi delle dimensioni della regione individuata dalla parcellizzazione talamica e dell'overlap con la lesione post-trattamento

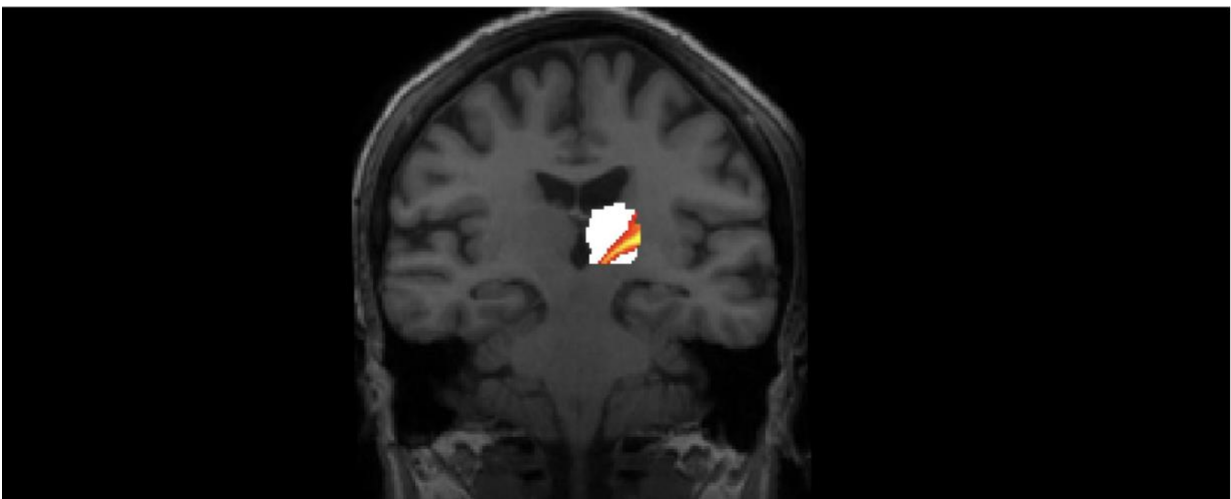
Per confrontare la posizione e il volume della lesione post-trattamento con la regione ottenuta tramite parcellizzazione talamica è necessario prima di tutto definire correttamente quest'ultima: tramite la trattografia probabilistica, infatti, è vero che si ottengono le mappe di probabilità di trovare in un determinato voxel i fasci di fibre nervose che connettono il seed al target di interesse, ma è necessario sottolineare che utilizzando la trattografia probabilistica si possono identificare voxel con basse probabilità (sebbene non nulle) di trovare delle fibre di connessioni in regioni dove effettivamente non ve ne sono. Si è dunque proceduto effettuando diverse prove al variare di un valore soglia: per una certa area di parcellizzazione talamica ottenuta con trattografia probabilistica (come quella presente in figura 4.14(b)) solo i voxel con intensità superiore ad una certa percentuale vengono considerati, mentre gli altri vengono trascurati. Le soglie scelte per effettuare le nostre prove sono state 40%, 20% e 5%, i cui risultati sono mostrati in figura 37.



(a)



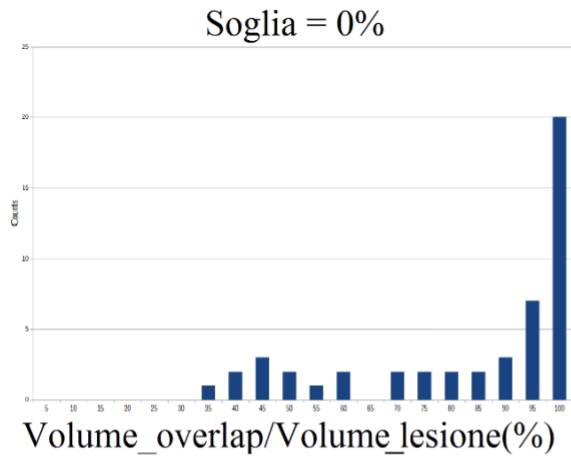
(b)



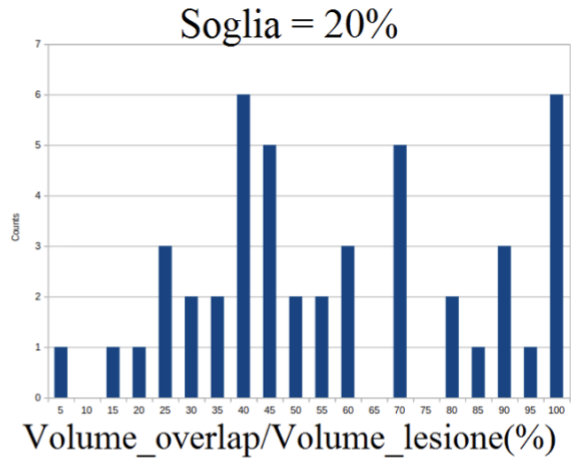
(c)

Figura 37: Proiezioni del giro precentrale (colori caldi) sul talamo (bianco) al variare della soglia: 40% (a), 20% (b) e 5%(c).

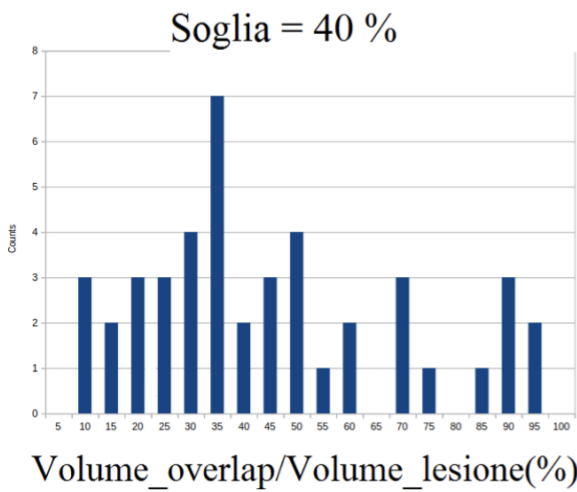
Come era prevedibile e come facilmente si evince dalla figura, al diminuire della soglia aumenta l'estensione della regione ottenuta dalla trattografia probabilistica. In particolare, è stato valutato il cambiamento del volume della regione di intersezione tra la lesione e le fibre di proiezione del giro precentrale sul talamo al variare della soglia. Questo rapporto di volumi fornisce informazioni sulla percentuale della lesione che interseca la regione con i fasci neuronali di nostro interesse ottenuti tramite la trattografia probabilistica. I grafici ottenuti, mostrati in figura 38, rappresentano l'overlap delle lesioni con il VIM ottenuto dalla parcellizzazione talamica. In particolare, la figura 38 (a) rappresenta l'istogramma ottenuto con soglia nulla, ove anche i voxel con probabilità minima sono inclusi: si noti che le percentuali più alte sono le più popolose, come prevedibile dal momento che i volumi della proiezione dell'area precentrale sul talamo hanno estensione massima senza alcun valore di soglia. All'aumentare della soglia le dimensioni dell'area precentrale si riducono, limitando di conseguenza il volume di overlap con la lesione (figura 38 (b), (c), (d), (e) e (f)).



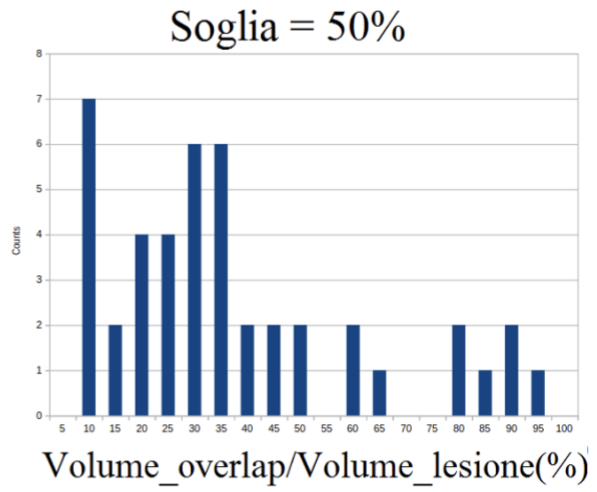
(a)



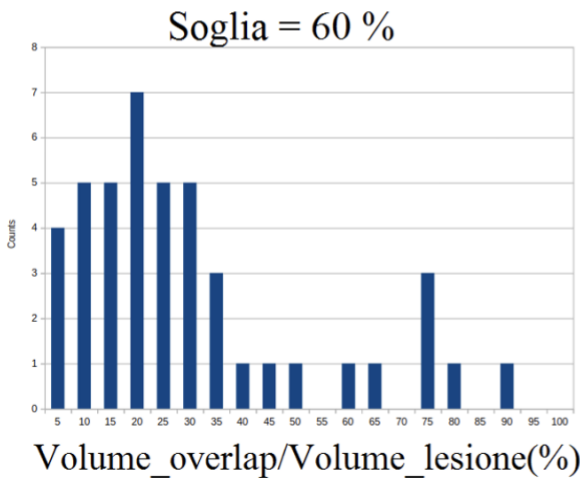
(b)



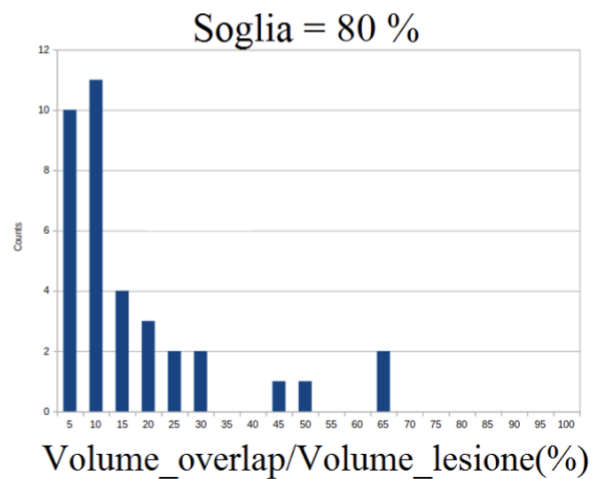
(c)



(d)



(e)



(f)

Figura 38: Gli istogrammi delle distribuzioni di *overlap* al variare della soglia.

Analisi delle correlazioni dei risultati delle analisi precedenti con gli outcome clinici

Dal momento che il nostro obiettivo finale è quello di validare questo processo in modo da applicare prospetticamente il target ottenuto con le analisi sovraesposte in pazienti che dovranno essere sottoposti talamotomia del nucleo VIM mediante tcMRgFUS, sono state condotte delle analisi di correlazione tra i risultati clinici e i dati estratti dal confronto della lesione e con la regione ottenuta dalla parcellizzazione talamica. Tali analisi sono state svolte utilizzando lo stesso script in Python che ci ha fornito le informazioni sui volumi delle aree di interesse e ha calcolato il grado di overlap tra le suddette aree e le lesioni talamiche. Gli outcome clinici sono stati quantificati da una misura del grado di miglioramento del tremore successivamente al trattamento tcMRgFUS attraverso una scala numerica da 1 a 6 valutata dopo almeno tre mesi dal trattamento, dove il valore 1 indica che nessun miglioramento del tremore è stato osservato, mentre il valore 6 indica la totale (o quasi) scomparsa del tremore. L'analisi quantitativa della relazione tra outcome clinici e confronto tra le lesioni e target ricostruito è stata realizzata calcolando il coefficiente di correlazione di pearson con relativo p-value.

Questo tipo di analisi è stato svolto soltanto su 16 pazienti, in quanto è il numero di pazienti su cui si ha un outcome clinico affidabile. Alla luce dei risultati dell'analisi svolta sulle dimensioni delle lesioni indotte durante i trattamenti, si è deciso di suddividere i sedici pazienti analizzati in due categorie: i pazienti trattati prima del 2018 e quelli trattati dopo. Le analisi di correlazione tra i risultati clinici e i dati estratti dal confronto della lesione e della regione ottenuta dalla trattografia probabilistica sono state condotte solo sui dati relativi ai pazienti trattati dopo il 2018.

Per quanto riguarda gli otto pazienti trattati dopo il 2018 si è trovata una discreta correlazione (~ 0.58) tra l'outcome clinico e la sovrapposizione tra lesione e area talamica precentrale, come mostrato dalla tabella 2 e dal grafico in figura 39.

	Score	vol_overlap_pre/les(%)
Paziente001	4	48.53
Paziente002	5	20.58
Paziente003	5	92.98
Paziente004	4	57.89
Paziente005	3	22.22
Paziente006	6	86.84
Paziente007	6	59.62
Paziente008	4	44.49
Correlazione		0.58
P-value		0.07

Tabella 2: In tabella sono presenti le correlazioni tra gli outcome clinici e i volumi di intersezione tra lesione e area precentrale (la mappa di probabilità di proiezione sul talamo dell'area precentrale è sogliata al 40%). Questo tipo di analisi condotta per i pazienti trattati dal 2018 ha rivelato la correlazione tra l'outcome clinico e l'area precentrale.

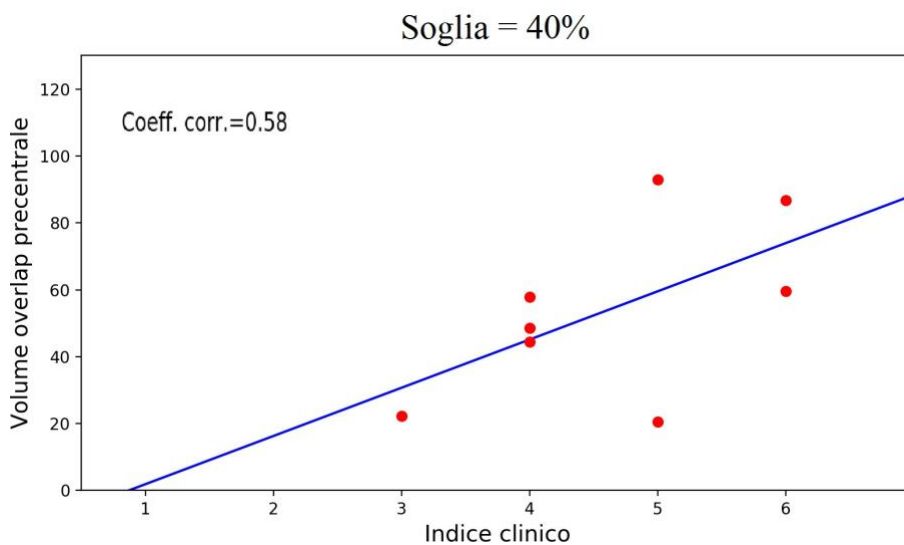


Figura 39: Correlazione tra indice clinico e sovrapposizione tra lesione e area precentrale per gli otto pazienti trattati dopo il 2018. Il grafico mostra una discreta correlazione (~ 0.58 e $p - value = 0.07$) tra le due quantità, sebbene il numero di pazienti sia comunque basso.

Il grafico in figura 39 mostra risultati ottenuti avendo scelto come soglia per le mappe di parcellizzazione talamica una soglia del 40%. Per completezza, in figura 40, si

riportano i grafici della correlazione ottenuti al variare della soglia (i.e. 0%, 20%, 40%, 50% e 80%).

A parte il primo caso in cui non avendo scelto una soglia l'estensione dei volumi della zona precentrale è elevata (ma comunque, come detto precedentemente, le regioni non sogliate non sono affidabili), si osserva una correlazione crescente fino alla massima correlazione per un valore di soglia pari al 40%

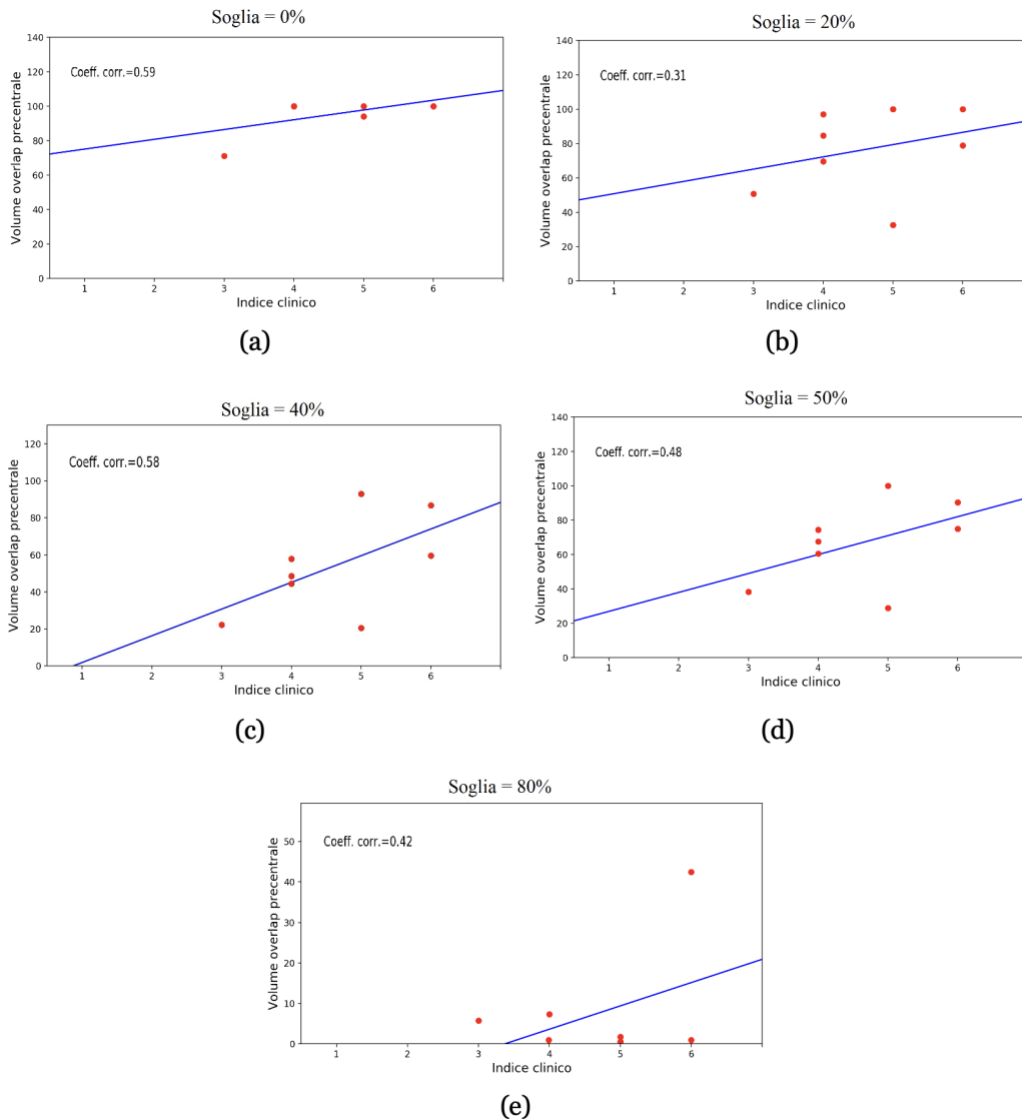
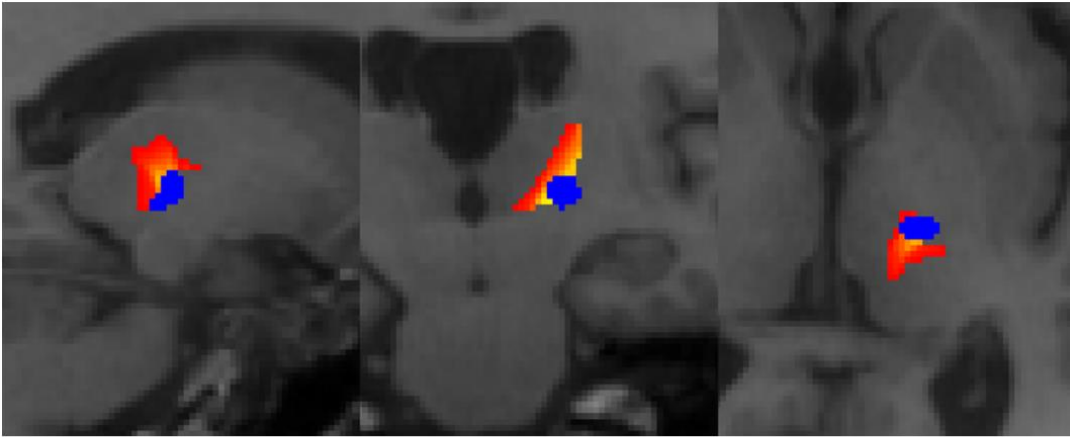
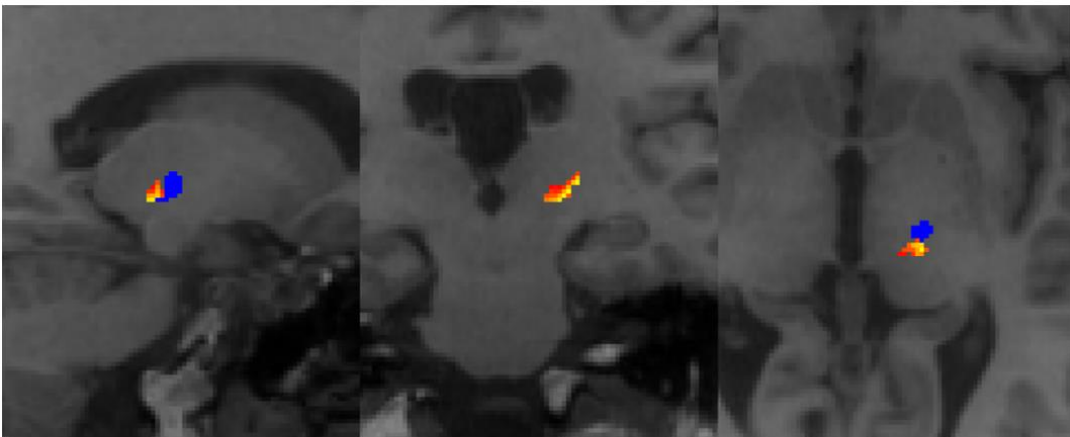


Figura 40: Grafici di correlazione al variare della soglia.

Inoltre, in figura 41 viene mostrato il confronto tra le immagini relative ad un paziente con un buon outcome clinico e quelle di un paziente in cui invece i risultati sono stati solo parziali. Nel primo caso (41 (a)) l'overlap tra la lesione e la proiezione del giro precentrale sul talamo è molto esteso, mentre nel secondo caso (41 (a)) con la soglia scelta (i.e. 40%) l'overlap è praticamente assente.



(a)



(b)

Figura 41: Confronto tra la sovrapposizione tra lesione-area precentrale in un paziente con buon risultato clinico(a) e con scarso risultato clinico(b).

Analisi dell'overlap della regione individuata dalla parcellizzazione talamica con la lesione post-trattamento includendo anche il nucleo dentato

Basandosi su considerazioni anatomiche è noto come il VIM sia connesso sia alla corteccia motoria sia al cervelletto, ed in particolare al nucleo dentato, attraverso il circuito extrapiramidale; si è pensato pertanto di includere nella segmentazione del cervello, descritta nel capitolo precedente, anche il cervelletto ed in particolare la sostanza bianca, dove si trova il nucleo dentato (figura 42).

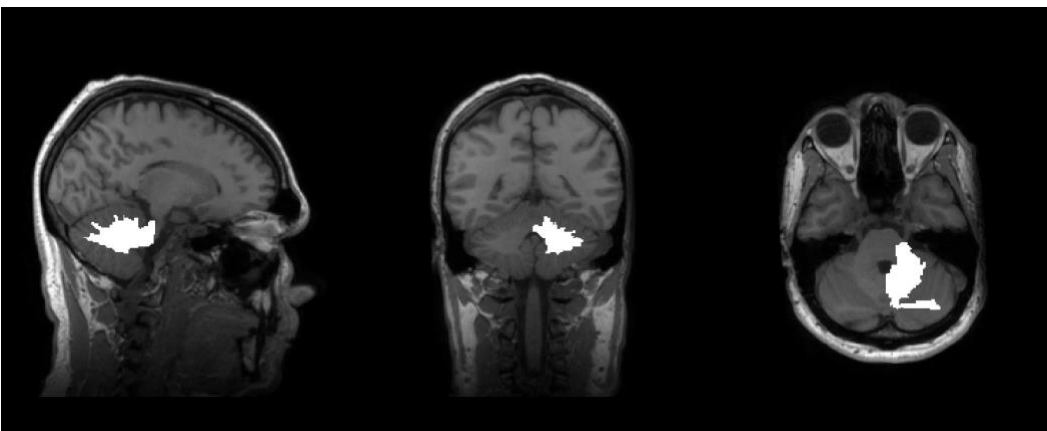


Figura 42: Segmentazione della materia bianca del cervelletto.

Da questa segmentazione si è poi ottenuta una parcellizzazione talamica che includesse anche la proiezione del cervelletto sul talamo. Dai risultati ottenuti, esposti in tabella 3, risulta evidente l'alto grado di sovrapposizione tra le regioni del talamo connesse al cervelletto e al giro precentrale. In particolare, in corrispondenza della sesta colonna della tabella 3 sono mostrati i volumi di intersezione tra le due aree, mentre in figura 43 sono mostrate la proiezione del giro precentrale e del cervelletto

sul talamo per uno dei pazienti analizzati: risulta evidente l'alto grado di sovrapposizione tra le due regioni.

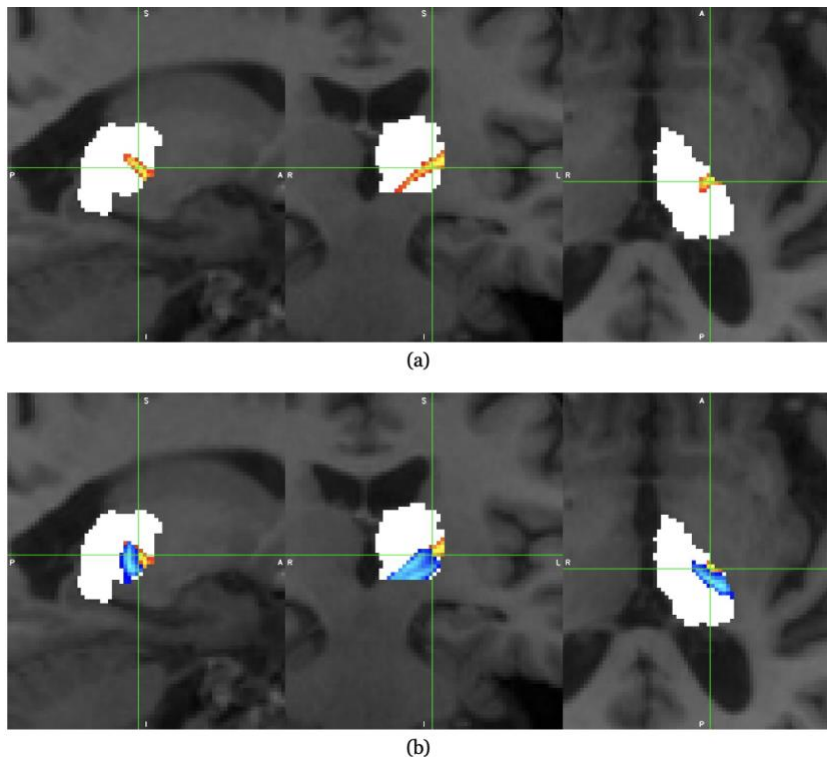


Figura 43: Proiezioni dell'area precentrale (colori caldi) e dell'area del cervelletto (colori freddi) sul talamo (in bianco). Si nota l'alto grado di sovrapposizione tra i due volumi.

	Score	vol_precentrale	vol_cervelletto	vol_Unione(pre+cerv)	vol_Intersezione(pre+cerv)	Intersez/cer	Intersez/pre	Int/unione
Paziente001	3	443	421	702	162	0.38	0.37	0.23
Paziente002	3	756	518	959	315	0.61	0.42	0.33
Paziente003	5	198	261	361	98	0.38	0.49	0.27
Paziente004	4	547	601	981	167	0.28	0.31	0.17
Paziente005	4	736	400	1060	76	0.19	0.10	0.07
Paziente006	3	521	685	1004	202	0.29	0.39	0.20
Paziente007	4	353	639	665	327	0.51	0.93	0.49
Paziente008	2	319	1014	1124	209	0.21	0.66	0.19
Paziente009	3	562	367	799	130	0.35	0.23	0.16
Paziente010	1	237	1117	1257	97	0.09	0.41	0.08
Paziente011	2	264	385	465	184	0.48	0.70	0.40
Paziente012	5	678	732	1104	306	0.42	0.45	0.28
Paziente013	5	439	736	927	248	0.34	0.56	0.27
Paziente014	6	598	191	666	123	0.64	0.21	0.18
Paziente015	2	500	938	1388	50	0.05	0.10	0.04
Paziente016	4	244	112	306	50	0.45	0.20	0.16
<u>Coeff. Corr.</u>		0.28	-0.56	-0.40	0.15	0.54	-0.08	0.23
<u>p-value</u>		0.6	0.2	0.3	0.7	0.3	0.9	0.5

Tabella 3: Nella tabella sono presenti i valori dei volumi delle lesioni e delle regioni individuate dalla parcellizzazione talamica relative all'area precentrale e al cervelletto e gli outcome clinici. I valori del coefficiente di correlazione (con i corrispondenti p-value) dell'intersezione dei volumi delle aree frontale e del cervelletto del talamo con gli score clinici sono riportati nelle ultime due colonne.

Come si può facilmente notare dalla figura 42, le prime segmentazioni eseguite per isolare il nucleo dentato, in realtà includevano interamente la sostanza bianca cerebellare, sovrastimando notevolmente la regione di nostro reale interesse. Ad oggi, coadiuvati sempre dal dipartimento di Fisica e Chimica dell'Università degli Studi di Palermo coordinato dal Prof Maurizio Marrale, stiamo cercando di superare questo importante limite segmentando in maniera più definita e precisa il nucleo dentato. È stata infatti eseguita una segmentazione sul nucleo dentato utilizzando il software Freesurfer basandosi sull'atlante Suit, grazie al quale sono state estrapolate delle maschere (immagini NIfTI) binarie del dentato (Figura 43). Dopo aver segmentato il nucleo dentato, sempre tramite FSL è stata generata una nuova mappa di trattografia probabilistica che includesse i fasci di fibre nervose appartenenti alla via dento-rubro-talamica e i fasci di fibre talamo-corticali della via piramidale. Il concetto anatomico alla base di questa decisione si basa sull'assunto che entrambi questi fasci di fibre passano dal VIM (nucleo talamico target del trattamento) e quindi dall'intersezione di questi due fasci di fibre si dovrebbe ottenere una stima più precisa del VIM rispetto all'individuazione esclusiva delle fibre che collegano il talamo con la corteccia motoria primaria (come fatto finora).

Essendo un lavoro che stiamo implementando e completando, di questa nuova parte non possediamo ancora dei calcoli statistici, ma dalle prime prove effettuate sui dati del connettoma (che contiene i dataset di 300 encefali di volontari sani), come è facile constatare dalle immagini in Figura 44, l'area talamica nella quale questi due fasci di fibre si intersecano, è molto sovrapponibile alle coordinate del VIM individuate dagli atlanti di anatomia stereotassica. Pertanto, il nostro prossimo obiettivo è quello di effettuare un'analisi retrospettiva (come fatto con i precedenti target trattografici) per

valutare l'overlap di questo target così ottenuto con il target post-trattamento così come con l'outcome clinico dei pazienti finora trattati.

5. DISCUSSIONE

Delle 54 analisi di parcellizzazione talamica ottenuta tramite la trattografia probabilistica e il relativo confronto con le segmentazioni delle lesioni, solamente 16 sono risultate utilizzabili per il confronto con l'outcome clinico.

Selezionando tra i 16 pazienti solamente quelli trattati dal 2018 in poi è stato trovato un indice di correlazione tra l'outcome clinico e il volume di sovrapposizione tra area talamica precentrale e lesione indotta tramite trattamento tcMRgFUS pari a circa 0.58 con un p – value di 0.07.

La correlazione trovata fornisce un'ulteriore conferma della possibilità che il VIM coincida, almeno parzialmente, con la proiezione del giro precentrale sul talamo, ottenuta tramite la trattografia probabilistica.

Sebbene il numero di pazienti disponibili per le analisi di correlazione realizzate sia ridotto, bisogna sottolineare che la procedura sviluppata risulta molto promettente per applicazioni in trattamenti tcMRgFUS.

Una volta che il processo di analisi verrà validato su un numero molto più elevato di pazienti ci si propone come prospettiva futura di applicarlo prospetticamente in pazienti che dovranno essere sottoposti talamotomia del nucleo VIM mediante tcMRgFUS con il fine di ottimizzazione tempi di trattamento in comparazione con i target ottenuti mediante coordinate stereotassiche.

6. LIMITAZIONI DELLO STUDIO

Il ridotto numero del campione in esame è stato un fattore limitante molto importante del nostro progetto di ricerca.

La motivazione di tale esiguità in termini numerici del campione è da attribuire sia alla mancanza di follow-up clinici completi per molti pazienti (la cui assenza è da attribuire soprattutto soprattutto al periodo dell'emergenza sanitaria mondiale che ci ha colpiti durante il periodo di follow-up per la maggior parte della popolazione campione) sia alla durata molto lunga (circa 12h per ogni dataset di immagini) delle fasi di pre- e post-processing delle immagini.

7. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE

L'obiettivo di questo progetto di ricerca è stato rivolto allo sviluppo e all'implementazione di un protocollo di analisi di MRI finalizzato all'ottimizzazione della riuscita e delle tempistiche dei trattamenti tcMRgFUS.

La tcMRgFUS fa uso di ultrasuoni focalizzati per la cura di disturbi del movimento, come il tremore essenziale, ed è in grado di trattare in maniera non invasiva, con precisione millimetrica, bersagli anche delle regioni più profonde dell'encefalo, come il talamo. Pertanto, si è cercato di identificare le varie regioni talamiche in connessione con le varie aree della corteccia cerebrale. In particolare, il nostro

interesse è stato rivolto all'individuazione del nucleo ventrale intermedio (Ventral InterMediate nucleus, VIM nucleus), che è la regione del talamo attraverso cui passano i fasci di fibre che provengono dal giro precentrale e che è riconosciuta come l'area responsabile del tremore [50], attraverso il processo di parcellizzazione talamica.

Questa parte del progetto è stato svolto in due fasi: la prima volta allo sviluppo della procedura di analisi delle immagini e l'individuazione del target da colpire tramite tcMRgFUS; la seconda volta ad un'indagine retrospettiva su dati di pazienti già trattati con tcMRgFUS finalizzata a verificare il grado di correttezza della regione individuata con la parcellizzazione talamica, correlando questi risultati anche con gli esiti clinici dei trattamenti.

Relativamente alla prima parte è stata segmentata la corteccia cerebrale e le strutture subcorticali. Questo ha permesso di individuare le zone legate al tremore (i.e. il giro precentrale nella corteccia motoria) così come le corrispettive regioni del talamo ad esse connesse, all'interno del quale dovrà essere individuato il target. Dai dati ricavati dalle immagini di risonanza magnetica pesati in diffusione acquisiti durante la fase di screening preoperatoria, sono stati ricostruiti i valori del tensore di diffusione e successivamente, tramite algoritmi di trattografia probabilistica, i fasci che connettono il talamo alle aree del cervello selezionate e cioè: lobo frontale, giro precentrale, giro post centrale, lobo parietale, lobo temporale, lobo occipitale.

Considerando questi fasci è stato individuato nel talamo la regione responsabile del tremore e, quindi, il target da ablare. Una volta individuato il target con questa analisi computazionale basata sui dati anatomici dei pazienti, è stata studiata la sovrapposizione tra questo target e la regione in cui è presente la lesione (indotta

durante il trattamento) e che è stata ricavata a posteriori dalle immagini del primo follow-up a 48h dal trattamento tcMRgFUS. Dallo studio della sovrapposizione tra le due regioni (quella della lesione e quella del target ricavato dalla trattografia probabilistica) è evidente la presenza di una sovrapposizione significativa con l'area connessa al giro precentrale, soprattutto nelle regioni del trattogramma ad alta intensità, ovvero in quelle in cui è più probabile la presenza di fasci.

Al fine di ottenere una valutazione a priori del target da colpire, utilizzando le mappe di parcellizzazione ottenute con la pipeline sviluppata, sono state condotte delle analisi di correlazione tra i risultati clinici e i dati estratti dal confronto della lesione e della regione ottenuta dalla trattografia probabilistica. Tali analisi sono state svolte utilizzando lo script in Python in grado di fornire i volumi delle aree di interesse e di calcolare il grado di sovrapposizione tra le aree e lesione talamiche.

I risultati clinici (anche detti outcome clinici) vengono quantificati da una misura del grado di miglioramento del tremore in seguito al trattamento tcMRgFUS utilizzando una scala numerica di valori interi da 1 a 6 che quantificano lo stato del tremore dopo almeno tre mesi dal trattamento, dove il valore 1 indica che nessun miglioramento del tremore è stato osservato, mentre il valore 6 indica la totale (o quasi) scomparsa del tremore.

L'analisi quantitativa della relazione tra outcome clinici e confronto tra le lesioni e target ricostruito è stata realizzata calcolando il coefficiente di correlazione di Pearson con relativo p-value

Delle 54 analisi di parcellizzazione talamica ottenuta tramite la trattografia e il relativo confronto con le segmentazioni delle lesioni, solamente 16 sono utilizzabili per ottenere un confronto con l'outcome clinico.

Alla luce dei risultati dell'analisi svolta sulle dimensioni delle lesioni indotte durante i trattamenti, si è deciso di suddividere i 16 pazienti analizzati in due categorie: i pazienti trattati prima del 2018 e quelli trattati dopo. Le analisi di correlazione tra i risultati clinici e i dati estratti dal confronto della lesione e della regione ottenuta dalla trattografia probabilistica sono state condotte solo sui dati relativi ai pazienti trattati dopo il 2018.

Per quanto riguarda gli otto pazienti trattati dopo il 2018 si è trovata una discreta correlazione (~ 0.58) tra l'outcome clinico e la sovrapposizione tra lesione e area talamica precentrale.

Questo è un risultato molto promettente perché conferma che è possibile individuare a priori il target da ablare, riducendo così il tempo di ricerca del target e ottimizzando la capacità di danneggiare i tessuti coinvolti nel tremore. Questo tipo di analisi potrebbe essere esteso anche ai trattamenti tcMRgFUS di altri disturbi psichiatrici così come a tumori cerebrali.

Il limite delle analisi di correlazione effettuate è il ridotto numero di casi clinici analizzati dovuto sicuramente ai tempi molto lunghi di pre- e post-processing da dedicare ad ogni dataset di immagini, pari a circa 12 ore per ciascun esame, limite che si sta cercando di superare grazie alla collaborazione con il Dipartimento di Fisica e Chimica dell'Università degli Studi di Palermo coordinato dal Prof Maurizio Marrale, che ha brevettato un nuovo algoritmo di deep learning dedicato a ridurre notevolmente i tempi di pre- e post-processing e che ci permetterà pertanto, nel breve futuro di implementare notevolmente il campione di studio.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Napoli A, Anzidei M, Ciolina F, et al. MR-guided high- intensity focused ultrasound: current status of an emerg- ing technology. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2013; 36: 1190-203.
2. Geraci L, A Napoli, C Catalano et al. Magnetic Resonance Imaging-Guided Focused Ultrasound Surgery for the Treatment of Symptomatic Uterine Fibroids Case Reports in Radiology Volume 2017
3. Lynn J.G., Putnam T.J. Histology of cerebral lesions produced by focused ultrasound. *Am. J. Pathol.* 1944; 20:637–649.
4. Meyers, R. et al. Early experiences with ultrasonic irradiation of the pallidofugal and nigral complexes in hyperkinetic and hypertonic disorders. *J. Neurosurg.* 16, 32–54 (1959)
5. Nelson, E., Lindstrom, P. A. & Haymaker, W. Pathological effects of ultrasound on the human brain: a study of 25 cases in which ultrasonic

- irradiation was used as a lobotomy procedure. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 18, 489–508 (1959).
6. Fry F.J. Precision high intensity focusing ultrasonic machines for surgery. *Am. J. Phys. Med.* 1958;37:152–156.
 7. Iacopino D.G., Gagliardo C., Giugno A., Giammalva G.R., Napoli A., Maugeri R., Graziano F., Valentino F., Cosentino G., D’Amelio M., et al. Preliminary experience with a transcranial magnetic resonance–guided focused ultrasound surgery system integrated with a 1.5-T MRI unit in a series of patients with essential tremor and Parkinson’s disease. *Neurosurg. Focus.* 2018;44:E7.
 8. Quadri S.A., Waqas M., Khan I., Khan M.A., Suriya S.S., Farooqui M., Fiani B. High-intensity focused ultrasound: Past, present, and future in neurosurgery. *Neurosurg. Focus.* 2018;44 doi: 10.3171/2017.11.FOCUS17610.
 9. Gandaglia, G. et al. Effect of minimally invasive surgery on the risk for surgical site infections: results from the National Surgical Quality Improvement Program (NSQIP) Database. *JAMA Surg.* 149, 1039–1044 (2014).
 10. Rieke V, Butts Pauly K. MR thermometry. *J Magn Reson Imaging* 2008; 27: 376-90.

11. Wesley L Nyborg. Biological effects of ultrasound: development of safety guidelines. part ii: general review. *Ultrasound in medicine & biology*, 27(3):301–333, 2001.
12. Gagliardo C., Midiri M., Cannella R., Napoli A., Wragg P., Collura G., Marrale M., Vincenzo Bartolotta T., Catalano C., Lagalla R. Transcranial magnetic resonance-guided focused ultrasound surgery at 1.5T: A technical note. *Neuroradiol. J.* 2019;32:132–138.
13. Gagliardo C., Cannella R., Quarrella C., D’Amelio M., Napoli A., Bartolotta T.V., Catalano C., Midiri M., Lagalla R. Intraoperative imaging findings in transcranial MR imaging-guided focused ultrasound treatment at 1.5T may accurately detect typical lesional findings correlated with sonication parameters. *Eur. Radiol.* 2020.
14. Napoli A, Anzidei M, Marincola BC, et al. MR imaging- guided focused ultrasound for treatment of bone metastasis. *Radiographics* 2013; 33: 1555-68.
15. Geiger D, Napoli A, Conchiglia A, et al. MR-guided focused ultrasound (MRgFUS) ablation for the treatment of nonspinal osteoid osteoma: a prospective multicenter evaluation. *J Bone Joint Surg Am* 2014; 96: 743-51.
16. Hesley GK, Gorny KR, Woodrum DA. MR-guided fo- cused ultrasound for the treatment of uterine fibroids. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2013; 36: 5-13.

17. Vernuccio F, Geraci L, Genova C, et al. Magnetic Resonance guided Focused Ultrasound Surgery (MRgFUS) for uterine fibroids: our experience on patients' eligibility. European Society of Radiology EPOS ECR2014/C-2015.
18. Basser Peter J., Mattiello James, LeBihan Denis. Stima del tensore di autodiffusione efficace dall'eco di spin NMR. (Serie B). Journal of Magnetic Resonance. 1994;103:247–254.
19. Basser Peter J., Mattiello James, LeBihan Denis. Spettroscopia del tensore di diffusione MR e imaging. Biophysical Journal. 1994;66:259–267.
20. Beaulieu Christian, Allen Peter S. Diffusione dell'acqua nell'assone gigante del calamaro: implicazioni per la risonanza magnetica ponderata in diffusione del sistema nervoso. Risonanza magnetica in medicina. 1994;32:579–583.
21. Pierpaoli C, Jezzard P, Basser PJ, Barnett A, Di Chiro G. Imaging MR del tensore di diffusione del cervello umano. Radiology. 1996;201:637.
22. Basser PJ and Ozarslan E. Diffusion MRI: From quantitative measurement to in vivo neuroanatomy. Editors: Johansen-Berg H, Behrens TEJ, ISBN: 978-0-12-374709-9, 3-9.136, 2009.

23. Pierpaoli C, Jezzard P, Basser PJ, Barnett A, and Di Chiro G. Diffusion tensor MR imaging of the human brain. *Radiology*, (201):637– 648, 1996.
24. N. J. Beauchamp, A. M. Ulug, T. J. Passe, and P. C. Van Zijl. MR diffusion imaging in stroke: review and controversies. *Radiographics*, 5(18):1269, 1998.
25. S. L. Keir and J. M. Wardlaw. Systematic review of diffusion and perfusion imaging in acute ischemic stroke. *Stroke*, 11(31):2723–2731, 2000.
26. C. H. Sotak. The role of diffusion tensor imaging in the evaluation of ischemic brain injury-a review. *NMR in Biomedicine*, 7-8(15):561–569, 2002.
27. I. Kane, P. Sandercock, and J. Wardlaw. Magnetic resonance perfusion diffusion mismatch and thrombolysis in acute ischaemic stroke: a systematic review of the evidence to date. *Journal of Neurology Neurosurgery, Psychiatry*, 5(78):485, 2007.
28. M. A. Horsfield and D. K. Jones. Applications of diffusion-weighted and diffusion tensor MRI to white matter diseases-a review. *NMR in Biomedicine*, 7-8(15):570–577, 2002.
29. M. Kubicki, R. McCarley, C. F. Westin, H. J. Park, S. Maier, R. Kikinis, F. A. Jolesz, and M. E. Shenton. A review of diffusion tensor imaging studies in schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research*, 1-2(41):15–30, 2007.

30. J. Neil, J. Miller, P. Mukherjee, and P. S. Hüppi. Diffusion tensor imaging of normal and injured developing human brain-a technical review. *NMR in Biomedicine*, 7-8(15):543–552, 2002.
31. M. E. Moseley. Diffusion tensor imaging and aging-a review. *NMR in Biomedicine*, 7-8(15):553–560, 2002.
32. Pfefferbaum A, Adalsteinsson E, and Sullivan EV. Frontal circuitry degradation marks healthy adult aging: Evidence from diffusion tensor imaging. *Neuroimage*, 3(26):891–9, 2005.
33. J. Dou, T. G. Reese, W. Y. I. Tseng, and V. J. Wedeen. Cardiac diffusion MRI without motion effects. *Magnetic Resonance in Medicine*, 1(48):105–114, 2002.
34. A. M. Heemskerk, T. K. Sinha, K. J. Wilson, Z. Ding, and B. M. Damon. Quantitative assessment of DTI-based muscle fiber tracking and optimal tracking parameters. *Magnetic Resonance in Medicine*, 2(61):467–472, 2009.
35. T. Q. Li, M. Häggkvist, and L. Ödberg. Porous structure of cellulose fibers studied by q-space NMR imaging. *Langmuir*, 13(13):3570–3574, 1997.

36. Kei Yamada, Koji Sakai, Kentaro Akazawa, Sachiko Yuen, and Tsune-hiko Nishimura. Mr tractography: a review of its clinical applications. *Magnetic resonance in medical sciences*, 8(4):165–174, 2009.
37. Jun Zhang, Hao Ji, Ning Kang, and Ning Cao. Fiber tractography in diffusion tensor magnetic resonance imaging: A survey and beyond. In *Proceedings of the 2005 International Symposium on Medical Imaging and Computing*, pages 39–56, 2005.
38. Derek K Jones. Studying connections in the living human brain with diffusion MRI, *Cortex* 2008 Sep;44(8):936-52.
39. Derek K Jones. Studying connections in the living human brain with diffusion MRI, *Cortex* 2008 Sep;44(8):936-52.
40. Timothy EJ Behrens, H Johansen Berg, Saad Jbabdi, Matthew FS Rushworth, and Mark W Woolrich. Probabilistic diffusion tractography with multiple fibre orientations: What can we gain? *Neuroimage*, 34(1):144–155, 2007.
41. Leonardo Cerliani, Rajat M Thomas, Saad Jbabdi, Jeroen CW Siero, Luca Nanetti, Alessandro Crippa, Valeria Gazzola, Helen D’Arceuil, and Christian Keyzers. Probabilistic tractography recovers a rostrocaudal trajectory of

connectivity variability in the human insular cortex. *Human brain mapping*, 33(9):2005–2034, 2012.

42. FSL. Fsl lecture about probtrackx. 2007.

43. Cesare gagliardo, Massimo Midiri, Roberto Cannella, Alessandro Napoli, Paul Wragg, Giorgio Collura, Maurizio Marrale, Tommaso Vincenzo Bar- tolotta, Carlo Catalano, and Roberto Lagalla. Transcranial magnetic resonance-guided focused ultrasound surgery at 1.5 t: a technical note. *The neuroradiology journal*, 32(2):132–138, 2019.

44. Peter J Basser, Sinisa Pajevic, Carlo Pierpaoli, Jeffrey Duda, and Akram Aldroubi. In vivo fiber tractography using dt-mri data. *Magnetic resonance in medicine*, 44(4):625–632, 2000.

45. Jau-Shin Lou and Joseph Jankovic. Essential tremor: clinical correlates in 350 patients. *Neurology*, 41(2 Part 1):234–234, 1991.

46. A Athinoula. Martinos center for biomedical imaging: Freesurfer. <http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>.

47. M Jenkinson, CF Beckmann, TEJ Behrens, MW Woolrich, and SM Smith. Fsl *neuroimage* 62, 782–790. 2012.

48. G.K. Rohde, A.S. Barnett, P.J. Basser, S. Marengo, and C. Pierpaoli. Comprehensive Approach for Correction of Motion and Distortion in Diffusion-Weighted MRI. *Magnetic Resonance in Medicine*, (51):103– 114, 2004.

49. Rahul S Desikan, Florent Ségonne, Bruce Fischl, Brian T Quinn, Bradford C Dickerson, Deborah Blacker, Randy L Buckner, Anders M Dale, R Paul Maguire, Bradley T Hyman, et al. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on mri scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage*, 31(3):968–980, 2006.

50. Jau-Shin Lou and Joseph Jankovic. Essential tremor: clinical correlates in 350 patients. *Neurology*, 41(2 Part 1):234–234, 1991.